

УДК 581.1

**Башилов Антон Вячеславович,**  
кандидат биологических наук, доцент,  
ведущий научный сотрудник

**Шутова Анна Геннадьевна,**  
кандидат биологических наук, доцент,  
заведующая лабораторией  
оранжерейных растений,

**Седун Екатерина Анатольевна,**  
младший научный сотрудник

**Войцеховская Елена Анатольевна**  
научный сотрудник

*ГНУ «Центральный ботанический сад НАН Беларуси»*

**Попова Ирина Викторовна,**  
ведущий научный сотрудник  
*НИИ Ботанический сад им. Э. Гареева НАН КР*

**Bashylau Anton,**  
*PhD, Associate Professor, Leading Researcher,*

**Shutava Hanna,**  
*PhD, Associate Professor, Head of Laboratory,*

**Siadun Katsiaryna,**  
*Junior Researcher,*

**Voytsekhovskaya Yelena**  
*Researcher,*

*Central Botanical Garden of the NAS of Belarus*

**Popova Irina**  
*Leading Researcher,*  
*Gareev Botanical Garden of NAS KR*

## ОЦЕНКА СПОСОБНОСТИ К ПРОРАСТАНИЮ СЕМЯН И КУЛЬТИВИРОВАНИЕ *EX SITU* И *IN VITRO* ПЕРСПЕКТИВНОГО ПРЕДСТАВИТЕЛЯ РОДА *ALLIUM L.* – *ALLIUM PSKEMENSE V. FEDTSCH*

**Аннотация.** Анализ процесса набухания выявил некоторые различия в кинетике у *A. pskemense* V.Fedtsch. от 2-х других представителей рода *Allium L.* – *A. aflatunense* V.Fedtsch. и *A. altissimum Regel*. Произведено введение в культуру *in vitro* растений *A. pskemense* V.Fedtsch. на среде Мурасиге и Скуга + 0,5 6-бензиламинопурина. Получена каллусная культура из корней на среде Мурасиге и Скуга с добавлением 1,0 мг/л 2,4-дихлорфеноксисукусной кислоты, 0,2 мг/л 6-бензиламинопурина и 30 г/л сахарозы. Срок образования каллуса – около 3 месяцев.

**Ключевые слова:** *Allium L.*, *A. pskemense* V.Fedtsch., *ex situ*, *in vitro*.

***ALLIUM L.* – *ALLIUM PSKEMENSE* B. FEDTSCH ТУКУМУНУН *EX SITU*  
ЖАНА *IN VITRO* ПЕРСПЕКТИВДҮҮ ТҮРҮН КУЛЬТИВАЦИЯЛОО  
ЖАНА УРУКТАРДЫН ӨСҮҮ ЖӨНДӨМДҮҮЛҮГҮН БААЛОО**

**Аннотация.** Көбүү процессинин анализи негизинде *A. pskemense* B. Fedtsch *Allium L.* тукумунун башка 2 өкүлүнөн *A. aflatunense* B. Fedtsch. жана *A. altissimum* Regel кинетикасынын кээ бир айырмачылыктары аныкталды. *A. pskemense* B. Fedtsch өсүмдүгү *in vitro* культуурасына Мурасиге и Скуга + 0,5 6-бензиламинопурина чөйрөсүнүн негизинде киргизилди. Мурасиге и Скуга чөйрөлөрүндө 1,0 мг/л 2,4-дихлорфеноксиуксустук кислотасын, 0,2 мг/л 6-бензиламинопурин жана 30 г/л сахароза кошуу менен тамырларынан каллустук культура алынды. Каллустун пайда болуу мөөнөтү – 3 айга жакын.

**Негизги сөздөр:** *Allium L.*, *A. pskemense* B. Fedtsch., *ex situ*, *in vitro*.

**EVALUATION OF SEED GERMINATION ABILITY AND *EX SITU* AND  
*IN VITRO* CULTIVATION OF A PROMISING REPRESENTATIVE OF THE GENUS  
*ALLIUM L.* – *ALLIUM PSKEMENSE* B. FEDTSCH.**

**Abstract.** Analysis of the swelling process revealed some differences in the kinetics in *A. pskemense* B. Fedtsch. from 2 other representatives of the genus *Allium L.* – *A. aflatunense* B. Fedtsch. and *A. altissimum* Regel. *A. pskemense* B. Fedtsch plants were introduced into *in vitro* culture on Murashige and Skoog + 0.5 6-benzylaminopurine medium. Callus culture obtained from the roots on Murashige and Skoog medium with the addition of 1.0 mg/l of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid, 0.2 mg/l of 6-benzylaminopurine and 30 g/l of sucrose. The period of callus formation is about 3 months.

**Keywords:** *Allium L.*, *A. pskemense* B. Fedtsch., *ex situ*, *in vitro*.

Ботанические сады являются центрами сохранения мировой флоры сохраняя ее *ex situ* и *in vitro*. *Allium L.* относится к числу крупнейших родов растений. По современным данным, он объединяет до 800-та видов распространенных в Северном полушарии. В роде *Allium L.* довольно много редких видов – эндемиков и реликтов [1, 2].

*Allium pskemense* B. Fedtsch. (лук пскемский) – многолетнее корневищно-луковичное растение. *A. pskemense* B. Fedtsch. – ксерофит с периодом летнего относительного покоя. В природе он приурочен к недостаточно увлажненным областям степных и луговых ценозов низко- и среднегорий. Впервые обнаружен в бассейне реки

Пскем. Произрастает только в Западном Тянь-Шане по рекам Аксу, Угем, Пскем и их протокам, встречается в трещинах скал, на каменистых осыпях и обнажениях. Встречается в разнотравных сообществах, очень редко образует на небольших участках раз-

нотравно-луковую, луково-феруловую и луково-шиповниковую ассоциации. Длинные толстые корни позволяют растению надежно закрепиться в расщелинах скал, предохраняя розетку листьев от смыва ливнями и сноса сильными ветрами. Шнуровидные корни обладают большой сосущей силой. Само растение очень холодостойкое, луковицы способны промерзнуть и сохраняться жизнеспособными в замороженном состоянии благодаря высокому содержанию сухих веществ [1, 3].

*A. pskemense* B. Fedtsch. – узкий эндемик Западного Тянь-Шаня, занесен в Красную книгу Казахстана, Узбекистана, Кыргызстана к числу находящихся на грани исчезновения.

Численность вида по всему ареалу быстро сокращается, сохранился лишь в самых труднодоступных местах.

Луковицы *A. pskemense* B. Fedtsch. удлиненно-яйцевидные, толщиной 4–6 см, с

красно-бурыми, тонкокожистыми цельными оболочками. Стебель мощный, 40–80 см высоты, полый, с плавным вздутием в средней части. Листья в числе 3–4 цилиндрические, сужающиеся к вершине, дудчатые, прямые, 2–3 см толщины, в 2 раза короче стебля. Чехол приблизительно равен зонти-

ку, зонтик шаровидный, густой, многоцветковый. Листочки звездчатого околоцветника белые с мало заметной жилкой, около 6 мм длины, равные, продолговатые, тупые. Нити тычинок немного длиннее листочков околоцветника. Коробочка шаровидно-трехгранная (рисунок 1) [1].



Рисунок 1. Габитус *A. pskemense* В. Fedtsch. [4].

Ежегодно *A. pskemense* В. Fedtsch. наращивает хорошую вегетативную массу. В течение вегетационного сезона можно делать 3–4 срезки. Важным свойством является его устойчивость к поражению мучнистой росой. Цветет в июле, в течение 3 недель. Численность популяции *A. pskemense* В. Fedtsch. лимитирована орографией, абиотическими и антропогенными факторами. Его используют в качестве пряности в национальной кухне народов Средней Азии, относя к группе острых луков [3, 5].

Пищевая ценность *A. pskemense* В. Fedtsch. обусловлена: аскорбиновой кислотой (19,2–32,6 мг%), каротином (14,9–26,1 мг%), флавоноидами (251–325 мг%), гидроксикоричными кислотами (155–194 мг%) и др. [6].

Цель настоящей работы: оценить способность к прорастанию семян и культивированию *ex situ* и *in vitro*, инициировать каллусогенез перспективного представителя рода *Allium* L. – *A. pskemense* В. Fedtsch.

#### Материалы и методы исследования.

Исследования проводили на базе отдела биохимии и биотехнологии ГНУ «Центральный ботанический сад НАН Беларуси» (г. Минск, Беларусь).

В качестве объекта исследования использовали семена *A. pskemense* В. Fedtsch., *A. aflatumense* В. Fedtsch. и *A. altissimum* Regel переданные НИИ «Ботанический сад им. Э.З. Гареева» Национальной академии наук Кыргызской Республики.

Оценка способности к прорастанию: семена на влажной фильтровальной бумаге помещали на 60 дней в воздушный термостат «ХТ 3/70» при температуре 50°C в темноте. Проростки *A. pskemense* В. Fedtsch. высаживали в грунт (3:1 вермикулит – поликомпонентный субстрат (разработан Институтом экспериментальной ботаники НАН Беларуси) в контролируемых условиях. В июне растения высажены в открытый грунт участка ГНУ «Центральный ботанический сад НАН Беларуси».

Кинетика набухания: семена помещали в мерные стаканы и наливали по 50 мл дистиллированной воды. Стаканы плотно закрывали алюминиевой фольгой и выдерживали при различных временных промежутках. Регистрацию кинетики набухания проводили путем определения количества поглощенной семенами воды путем взвешивания семян через определенные промежутки времени на аналитических весах (Ohaus, E12140). При этом с семян удаляли влагу с помощью фильтровальной бумаги.

Введение в культуру *in vitro*: для набухания семена помещали в дистиллированную воду на 30 минут. Обработывали в 2%-ом растворе хозяйственного 72%-го мыла в течение 10 минут. Далее отмывали дважды по 5 минут в дистиллированной воде и переносили в стерильные условия – ламинар-бокса (ТУ ВУ 101148500.21-2008). Семена помещали на 15 минут в 0,01% раствор фунгицида «Прозаро» (действующие вещества: протиокназол и тебуконазол). После чего отмывали дважды по 5 минут в стерильной дистиллированной воде. Далее семена переносили в 0,1% раствор нитрата серебра на 10 минут. Затем отмывали в стерильной дистиллированной воде дважды по 5 минут и переносили на питательную среду. Семенной материал помещали на питательную среду, базисом для которой являлась среда Woody Plant Medium [7]. В качестве уплотняющего вещества использовали растительный агар (Duchefa) в концентрации 6,5 г/л. Величина рН до автоклавирова-

ния составляла 5,6–5,8. Условия культивирования: температура 25°C, освещенность 3000 Лк, фотопериод 16 часов.

Опыты проводили в трехкратной повторности. В работе обсуждаются различия, достоверные при 95%-ном уровне значимости.

**Результаты и их обсуждение.** Одна из наиболее значительных проблем при культивировании *A. pskemense* В. Fedtsch. – воспроизводство из семенного материала. Считается, что в природных условиях семена подвергаются естественной многоступенчатой стратификации, что облегчает процесс прорастания. Однако процесс прорастания имеет много аспектов, в том числе, семена различаются по степени и скорости набухания.

Предварительно нами были проведены исследования по характеристике процесса набухания семян. Известно, что кинетика набухания семян лимитирует процесс их пробуждения и прорастания [8]. Для сравнения кроме образцов *A. pskemense* В. Fedtsch. были использованы *A. aflatumense* В. Fedtsch. и *A. altissimum* Regel. На рисунке 2 представлены данные по увеличению массы при набухании семян луков, откуда видно, что *A. pskemense* В. Fedtsch. отличается медленным постепенным изменением массы, которое продолжалось до конца вторых суток эксперимента. Это отличало его от *A. aflatumense* В. Fedtsch., который на вторые сутки достиг максимальной величины увеличения массы семян за счет набухания.

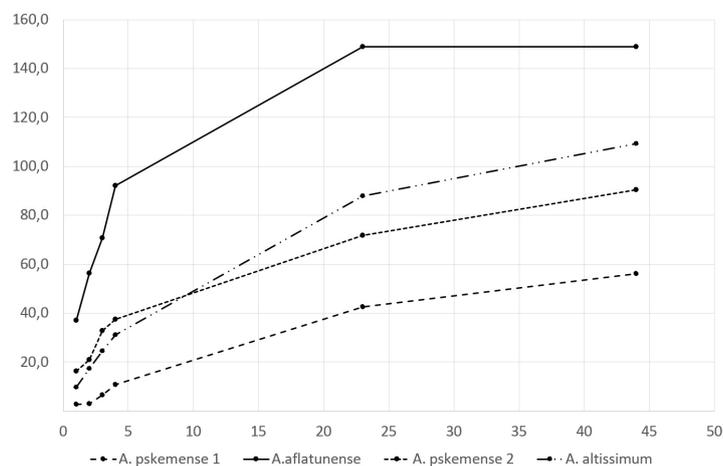


Рисунок 2. Кинетика набухания семян. Изменение массы, % от исходной при набухании семян луков (по оси абсцисс – время, ч)

Кривая зависимости увеличения массы от времени для *A. aflatumense* В. Fedtsch. имела характерный быстрый начальный участок, который обусловлен поглощением воды покровной тканью семян и веществом зародыша, которые играют роль входных каналов для последующего проникновения воды в эндосперм, составляющий основную массу вещества семян. Данный участок для *A. pskemense* В. Fedtsch. имел явные отличия: на первом этапе (до 2 часов) наблюдалось замедленное поглощение воды покровами семени, и лишь потом поглощение воды увеличивалось. В то же время, *A. aflatumense* В. Fedtsch. обладал сходной с *A. pskemense* В. Fedtsch. кинетикой набухания.

При введении в культуру *in vitro* семенной материал должен быть свободен от грибной и бактериальной инфекции. Выбранная схема обработки семян стерилизующими агентами позволила достигнуть 100%-ой стерильности эксплантов.

Спустя 28 дней культивирования на питательной среде прорастание семян не наблюдалось. С целью активации ростовых процессов была применена методика стратификации (60 дней экспозиции при 4°C) после которой чашки Петри с семенами помещали в исходные условия (16/8 фотопериод, 25°C, освещение 300 Лк). На 4-ый день после изменения условий культивирования наблюдалось прорастание семян в условиях *in vitro* (рисунок 3).



Рисунок 3. Прорастание семян *A. pskemense* В. Fedtsch. в условиях *in vitro*

Проростки субкультивировали через 15 суток на модифицированной питательной среде, содержащей минеральные соли по прописи Мурасиге и Скуга с добавлени-

ем 0,5 мг/л 6-бензиламинопурина и 15 г/л сахарозы. Таким образом была получена устойчивая культура *in vitro* *A. pskemense* В. Fedtsch. (рисунок 4).

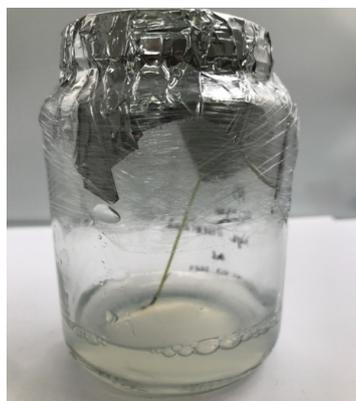


Рисунок 4. *A. pskemense* В. Fedtsch. спустя 2 недели и 3 месяца культивирования *in vitro*

Для получения каллусной культуры в качестве первичных эксплантов использовали выскочки из листовой пластины и корня, которые были перенесены на каллусогенные среды содержащие минеральные соли по прописи Мурасиге и Скуга с добавлением 1,0 мг/л 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты, 0,2 мг/л 6-бензиламинопурина и 30 г/л сахарозы. Условия культивирования: термостат, темнота, 25°C.

Спустя 3 месяца культивирования каллусогенез наблюдали лишь у 15% от общего числа эксплантов из корня. У эксплантов из листовой пластины на 3-м месяце культивирования не отмечалась инициация каллусогенеза (рисунок 5). В целом следует констатировать, что и микрочеренки, а также каллус в культуре *in vitro* у *A. pskemense* V.Fedtsch. обладают низкой скоростью роста.

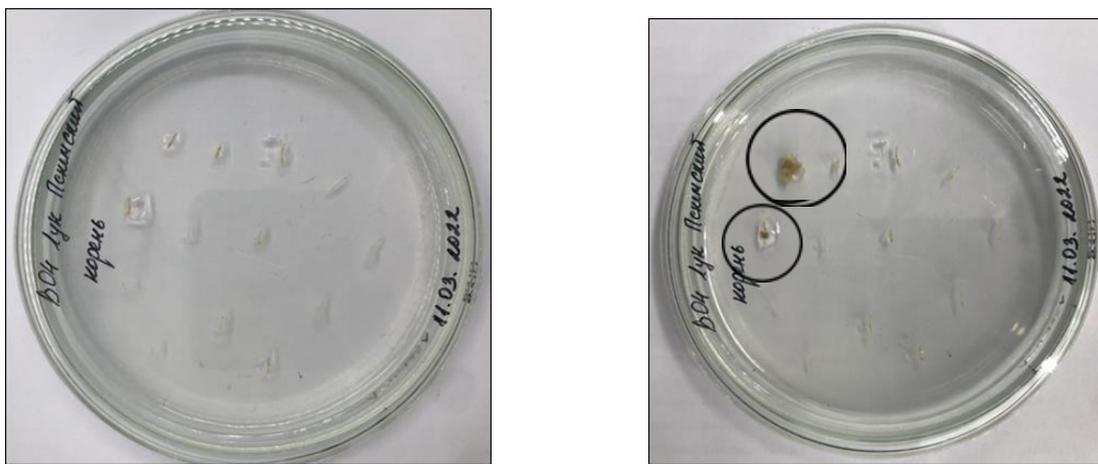


Рисунок 5. Каллусная культура *in vitro* из частей корня *A. pskemense* V. Fedtsch. на начало (слева) пассажа и спустя 3 месяца (справа) культивирования.

Параллельно введению в культуру *in vitro* проростки *A. pskemense* V.Fedtsch. были высажены сначала на искусственный субстрат при светодиодном освещении (на

3 месяца (DSL 26-01-RC-01, 1800 Лм ) и затем, после окончания заморозков в грунт (первая декада июня) (рисунок 6).



Рисунок 6. *A. pskemense* V.Fedtsch. в условиях открытого грунта (вторая декада июля)

**Выводы.** Анализ процесса набухания выявил некоторые различия в кинетике этого процесса у *A. pskemense* В. Fedtsch. от 2-х других представителей рода *Allium* L. – *A. aflatunense* В. Fedtsch. и *A. altissimum* Regel.

Произведено введение в культуру *in vitro* растений *A. pskemense* В. Fedtsch. на среду Мурасиге и Скуга + 0,5 мг/л 6-бензиламинопурина. Однако на этой среде стерильная культура *A. pskemense* В. Fedtsch., отличалась невысокой скоростью роста, по-

этому целесообразным является оптимизация среды культивирования для обеспечения массового получения микрочеренков и саженцев.

Получена каллусная культура из корней на среде Мурасиге и Скуга с добавлением 1,0 мг/л 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты, 0,2 мг/л 6-бензиламинопурина и 30 г/л сахарозы. Срок образования каллуса достаточно длительный – около 3 месяцев.

## Литература

1. Тухватуллина Л.А. Редкий вид Средней Азии лук пскемский в Южно-Уральском ботаническом саду / Л.А. Тухватуллина // Известия Уфимского научного центра РАН – 2018. – № 4. – С. 95–99.
2. Попова И.В., Малосиева Г.В., Кенжебаева Н.В. Редкие и охраняемые растения природной флоры Кыргызстана в ботаническом саду им. Э.З. Гареева НАН КР / И.В.Попова, Г.В.Малосиева, Н.В.Кенжебаева // Известия НАН КР – 2018. – № 6. – С. 93–97.
3. Пратов У.П., Юлдашев А.С. Лук пскемский-эндемичный дикий сородич культурного лука / У.П. Пратов, А.С. Юлдашев // Материалы Республиканской научно-практической конференции «Сохранение и утойчивое использование биоразнообразия сельскохозяйственных культур и их диких сородичей», Ташкент, 12 ноября 2009 г. / Институт генетики и экспериментальной биологии растений Академии Наук Республики Узбекистан; редкол.: С.К. Бабоев, [и др.] – Ташкент: Институт генетики и экспериментальной биологии растений Академии Наук Республики Узбекистан. 2009. – С. 50–53. 4. www.plantarium.ru
5. Ключиков Е.В., Терентьева Е.И., Украинская У.А. Перспективные пищевые и декоративные дикорастущие луки в культуре ботанического сада МГУ им. М.В. Ломоносова / Е.В. Ключиков, Е.И. Терентьева, У.А. Украинская // Плодоводство и ягодоводство России – 2017. – Т. L. – С. 155–160.
6. Бухаров А.Ф., Иванова М.И., Степанюк Н.В., [и др.] урожайность и качество продукции лука ошанина (*Allium oschaninii* O. Fedtsch.) и лука пскемского (*Allium pskemense* В. Fedtsch.) при выращивании в центральном регионе / А.Ф. Бухаров, М.И. Иванова, Н.В. Степанюк, [и др.] // Овощи России – 2018. – № 3 (41). – С. 32–35.
7. McCown B.H., Lloyd G. Woody Plant Medium (WPM) – A Mineral Nutrient Formulation for Microculture of Woody Plant Species / В.Н. McCown, G. Lloyd // HortScience – № 16. – P. 453.
8. Холманский А.С., Сидоренко А.С. Зависимость кинетики набухания семян от температуры / А.С. Холманский, А.С. Сидоренко // Математическая морфология. Электронный математический и медико-биологический журнал – 2008. – Т. 7. – № 1.