

ISSN 1029-8940 (Print)
ISSN 2524-230X (Online)

УДК 581.143:581.14.6

<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-2-176-185>

Поступила в редакцию 11.01.2021

Received 11.01.2021

Е. А. Седун¹, С. Ш. Абдирахимова², А. В. Зубарев¹, Е. В. Спиридович¹,
В. Н. Решетников¹, С. Г. Шеримбетов³, Э. Р. Назирова³

¹Центральный ботанический сад НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

²Национальный университет Узбекистана имени Мирзо Улугбека, Ташкент, Республика Узбекистан

³Институт биоорганической химии им. академика А. С. Садыкова АН РУз, Ташкент, Республика Узбекистан

ОСОБЕННОСТИ ПРОРАСТАНИЯ СЕМЯН И РАЗВИТИЯ ПРОРОСТКОВ ДЕРЕЗЫ РУССКОЙ (*LYCIUM RUTHENICUM* MURR.) В ЛАБОРАТОРНЫХ УСЛОВИЯХ И В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO*

Аннотация. Дереза русская (*Lycium ruthenicum* Murr.) – кустарниковое растение, распространившееся на территории Аральского моря, высохшего вследствие высокой засоленности почвы и сухого и резко-континентального климата.

Собраны плоды и изучены особенности прорастания семян галофита дерезы русской (*Lycium ruthenicum* Murr.) в стерильных и нестерильных условиях. Для проращивания годичных семян данного вида оптимальными являются 16-часовой фотопериод и температура 25 °С. Всхожесть семян в нестерильных условиях составила: у четырехгодичных – 46 %; у двухгодичных – 83; у одногодичных – 96 %. Показано, что растения *L. ruthenicum* сохраняют всхожесть до 4 лет и более, на основании чего семена данного вида были отнесены нами к истинно-ортодоксальным.

При введении в культуру *in vitro* установлено, что многоступенчатая стерилизация значительно снижает жизнеспособность семян и проростков *Lycium ruthenicum*, а следовательно, и их всхожесть (почти на 40 %). Оптимальной средой для стабильного развития микропобегов (без аномалий, без каллусообразования и инициации корнеобразования) оказалась питательная среда Мурасиге–Скуга (МС) с добавлением 1,0 мг/л 6-бензиламинопурина, без сахарозы. Для поддержания образцов коллекции *in vitro* использовали половинную среду МС без гормонов, без сахарозы, пониженную положительную температуру (4 °С), освещенность ~500 лк и фотопериод 8 ч.

Установлено, что образцы *Lycium ruthenicum* могут быть использованы для разработки методов клонального микроразмножения; генотипирования образцов и выявления молекулярных биомаркеров устойчивости растений к засоленности почвы; морфо-биологического изучения *ex vitro* растений, устойчивых к соляному стрессу.

Ключевые слова: территория высохшего Аральского моря, дереза русская (*Lycium ruthenicum* Murr.), плоды, семена, всхожесть семян, культура *in vitro*

Для цитирования: Особенности прорастания семян и развития проростков дерезы русской (*Lycium ruthenicum* Murr.) в лабораторных условиях и в культуре *in vitro* / Е. А. Седун [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биол. наук. – 2021. – Т. 66, № 2. – С. 176–185. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-2-176-185>

Ekaterina A. Sedun¹, Sayyora Sh. Abdirakhimova², Andrey V. Zubarev¹, Elena V. Spiridovich¹,
Vladimir N. Reshetnikov¹, Sanjar G. Sherimbetov³, Elmira R. Nazirova³

¹Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

²National University of Uzbekistan named after Mirzo Ulubek, Tashkent, Republic of Uzbekistan

³Institute of Bioorganic Chemistry named after Acad. A. S. Sadykov of the Academy of Sciences of Uzbekistan, Tashkent, Republic of Uzbekistan

FEATURES OF SEED GROWTH AND DEVELOPMENT OF SPROUTINGS OF THE RUSSIAN DEREZA (*LYCIUM RUTHENICUM* MURR.) UNDER LABORATORY CONDITIONS AND IN CULTURE *IN VITRO*

Abstract. Russian dereza (*Lycium ruthenicum* Murr.) is a shrub plant that spreads on the territory of the dried Aral Sea in conditions of high soil salinity, dry and sharply continental climate.

The fruits were collected and the features of germination of seeds of the russian dereza halophyte (*Lycium ruthenicum* Murr.) Under sterile and non-sterile conditions were studied. The optimal temperature and illumination regime for the germination of annual seeds of this species is a 16-hour photoperiod and a temperature of 25 °С, the germination of seeds in non-sterile conditions was: 4-year-old – 46 %; 2-year – 83; one-year – 96 %. It has been shown that *L. ruthenicum* plants remain viable for up to 4 years or more, on this basis, we attributed the seeds of this species to truly orthodox.

When introduced into culture *in vitro*, it has been shown that multi-stage sterilization significantly reduces the viability of seeds and seedlings of *Lycium ruthenicum* Murr., which leads to a decrease in seed germination by up to 40 %. The optimal

nutrient medium for the stable development of microshoots without anomalies, callus formation and initiation of root formation was MS with the addition of 1.0 mg/l 6-BAP to the nutrient medium, without sucrose. Maintaining the samples in the *in vitro* collection is carried out on a half-MS medium without hormones, without sucrose at a low positive temperature of 4 °C, illumination of ~500 lx and a photoperiod of 8 hours.

The samples of *L. ruthenicum in vitro* can be used to develop methods of clonal micropropagation; for genotyping of samples and identification of molecular biomarkers of plant resistance to soil salinity; in the *ex vitro* morpho-biological study of plants resistant to salt stress.

Keywords: territory of the dried up Aral Sea, russian dereza (*Lycium ruthenicum* Murr.), Fruits, seeds, seed germination, *in vitro* culture

For citation: Sedun E. A., Abdirakhimova S. Sh., Zubarev A. V., Spiridovich E. V., Reshetnikov V. N., Sherimbetov S. G., Nazirova E. R. Features of seed growth and development of sproutings of the russian dereza (*Lycium ruthenicum* Murr.) under laboratory conditions and in culture *in vitro*. *Vesti Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2021, vol. 66, no. 2, pp. 176–185 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-2-176-185>

Введение. Распространение растений на территории высохшего Аральского моря происходит различными способами. Несмотря на высокую засоленность почвы на данной территории, на сухой и резко-континентальный климат, многие виды растений постепенно осваивают территории, освобожденные от воды. Особый интерес вызывают виды галофитов, быстро занимающих ареал с высоким засолением почвы. Среди них – дереза русская, или Годжи.

Дереза русская (*Lycium ruthenicum* Murr.) – кустарниковое растение высотой до 2 м, с ветвистым стеблем с пепельно-серой корой и сильно растопыренными веточками (рис. 1) с изогнутыми верхними кончиками. Листья зеленые, мясистые, в форме колючек, 0,5–2,5 см длиной, 1–3 мм шириной, на верхушке тупые, постепенно сужающиеся к основанию. На старых ветвях они развиваются из шишковидных укороченных побегов, а на молодых – из почек по обе стороны колючек или на облиственных колюче-заостренных побегах.

Цветки расположены на цветоножках длиной 5–8 мм вместе с листьями, по одному или пучками (по два-три) по обе стороны колючек. Чашечка 3–5 мм длиной, узкоколокольчатая, разрезанная на 2–3 неправильные доли, которые по краю иногда короткореснитчатые, реже неясно пятизубчатые. Венчик 13–15 мм в длину, бело-чернильного цвета. Плоды – ягоды черного цвета, 5–8 мм в диаметре, многосеменные. Семена черного цвета, длиной 2 мм. В местных условиях цветет в мае–июне, плоды созревают с июня по ноябрь [5, 6].

Экологическая анатомия семян растения *L. ruthenicum* изучена А. А. Бутник с соавт. [7]. Прорастание эпигеальное, всходы в виде двух мясистых линейно-ланцетных, на верхушке закругленных семядолей длиной 4–5 мм, шириной 2 мм (рис. 2, а) появляются в конце марта – начале апреля при прямом солнечном освещении.



Рис. 1. *L. ruthenicum* на территории Южного Арала: а – популяция растения; б – цветение, с – плоды

Fig. 1. *L. ruthenicum* on the territory of the Southern Aral: a – population of plant; b – flowering; c – fruits

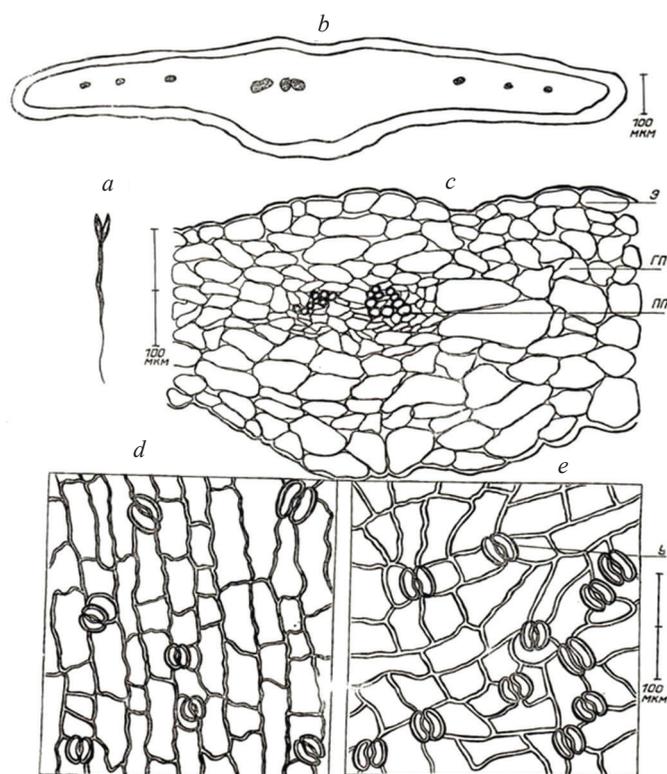


Рис. 2. Внешний вид (а) и строение всходов (b–e) *L. ruthenicum* (b – схема поперечного среза семядоли, c – семядоля проростка при большом увеличении, поперечный срез, d – адаксиальная эпидерма, e – адаксиальная эпидерма на парадермальном срезе) [7]

Fig. 2. Appearance (a) and structure of seedlings (b–e) *L. ruthenicum* (b – diagram of the cross section of the cotyledon, c – seedling cotyledon at high magnification, transverse cut, d – adaxial epidermis, e – adaxial epidermis on the paradermal cut) [7]

Семядоли всходов зеленые, голые. Эпидерма однорядная, клетки ее на парадермальных срезах 4-угольные, удлинённые, с тонкими слабоизвилистыми стенками (рис. 2, d, e). Замыкающие клетки устьица абаксиальной эпидермы крупнее, чем адаксиальной. Устьица аномоцитные и гемипарацитные. На 1 мм² приходится 95 устьиц адаксальной эпидермы и 63 адаксиальной. Мезофилл изогубчатый, состоит из 7–8 рядов клеток (рис. 2, b, c). Проводящие пучки – главный и по три боковых – расположены в средней центральной плоскости семядоли. Медианный пучок сдвоенный, в каждой группе по 9–10 спутниковых сосудов диаметром 10–12 мкм. Семядольные следы однопучковые, однолакунные [7].

Всхожесть семян составляет более одного года [7, 8]. В составе семян растения *L. ruthenicum*, распространенного на территории Аральского моря, выявлено 38 химических элементов [9]. На основе анализа изменений на уровне антиоксидантных ферментов было изучено влияние GeO₂ на солеустойчивость растения *L. ruthenicum*. Так, было установлено, что в период всхода семян и роста саженцев экзогенный Ge защищает растения *L. ruthenicum* от окислительного повреждающего действия соли [10].

На биологию произрастания семян влияют многофакторные процессы, в том числе экзогенные (температура, влажность, солнечный свет, условия хранения) и эндогенные (строение кожуры семени, физиологическое состояние в период всхода и др.) факторы [1, 4].

Цель нашего исследования – определение влияния сроков хранения и температуры на лабораторную всхожесть и энергию прорастания семян растения *Lucium ruthenicum* Murr., широко распространенного на территории Южного Арала и Приаралья, а также изучение их роста и развития в условиях *in vitro* с целью сохранения в Банке семян и успешной интродукции для флоры Беларуси.

Рис. 3. Сухие плоды *L. ruthenicum*Fig. 3. Dry fruits of *L. ruthenicum*

Материалы и методы исследования. Объектами исследования являлись семена и плоды растения *L. ruthenicum*, собранные в 2015, 2018 и 2019 гг. на территории Южного Арала. Высушенные плоды сбора 2019 г. были привезены из Узбекистана и переданы для исследования в лабораторию прикладной биохимии Центрального ботанического сада НАН Беларуси для биотехнологических работ (рис. 3).

Для определения лабораторной всхожести семян использовали методы М. К. Фирсовой [2] и О. Н. Гранитовой [3]. Семена растения (100 шт.) выращивали в чашках Петри с фильтровальной бумагой, увлажненной дистиллированной водой. Опыты проводили на базе Национального университета Узбекистана имени Мирзо Улугбека при температуре воздуха 25 ± 1 °C с 16-часовым фотопериодом.

Процесс введения растительного объекта в культуру *in vitro* включал два этапа:

а) стерилизацию (деконтаминацию) растительного материала жесткими стерилизующими агентами с целью получения чистого от бактериальной и грибной инфекции материала;

б) культивирование экспериментального материала *in vitro* с применением стандартных методик, общепринятых в биотехнологии растений, с использованием агаризованных питательных сред, дополненных регуляторами роста [11, 12].

Результаты и их обсуждение. Качество и жизнеспособность сформировавшихся плодов и семян являются важными критериями, которые необходимо учитывать как перед закладкой их на краткосрочное и/или длительное хранение, так и перед выращиванием из них новых растений. Основными показателями жизнеспособности семян являются процент их прорастания (всхожесть) и параметр «силы семян» (энергия прорастания).

В зависимости от погодных условий семена *L. ruthenicum* созревают в период с первой половины июня до середины сентября. Плоды многосеменные, семена почковидные, черного или коричневого цвета, длиной 2 мм, шириной 1,5–1,8 мм.

Анализ ряда морфологических показателей собранных в разное время плодов *L. Ruthenicum* показал, что вес плодов и семян зависит от годовых погодных условий (табл. 1).

Т а б л и ц а 1. Размер и масса плодов и семян *L. ruthenicum* ($M \pm m$)T a b l e 1. Size and weight of fruits and seeds of *L. ruthenicum* ($M \pm m$)

| Год | Плод | | Масса 1000 плодов, г ($n = 5$) | Семя | | Масса 1000 семян, мг ($n = 5$) |
|------|-----------|------------|-------------------------------------|-----------|------------|-------------------------------------|
| | Длина, мм | Ширина, мм | | Длина, мм | Ширина, мм | |
| 2015 | 2–7 | 2–5 | 0,078 | 0,7–1,2 | 0,8–1 | 0,89 |
| 2018 | 3–8 | 2–8 | 0,089 | 1–2 | 0,8–1,2 | 0,95 |
| 2019 | 3–9 | 2–8 | 0,097 | 1–2 | 1–1,5 | 1,2 |

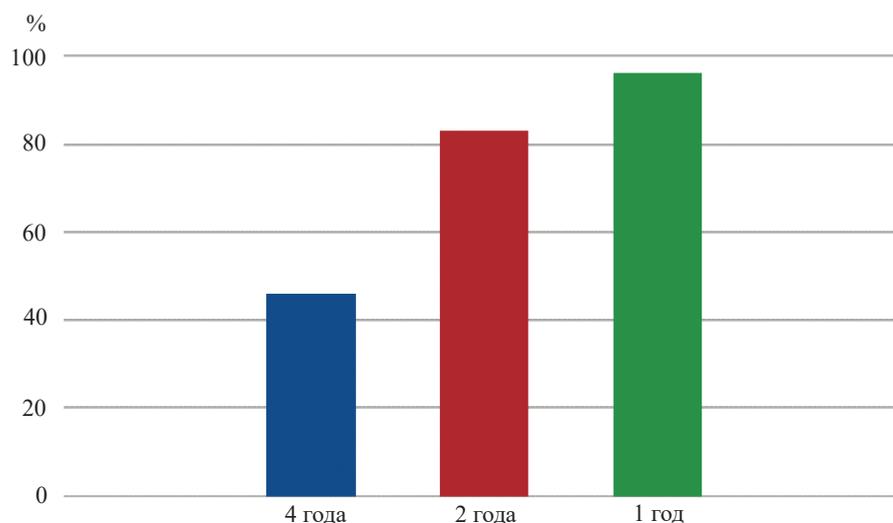


Рис. 4. Лабораторная всхожесть семян *L. ruthenicum* при температуре 25 ± 2 °C в зависимости от сроков хранения

Fig. 4. Laboratory germination of *L. ruthenicum* seeds at a temperature of 25 ± 2 °C, depending on the storage period

У семян *L. ruthenicum*, которые хранились в течение 4 лет, прорастание началось на 7-е сутки и составило 46 %, а семена, которые хранились 1 и 2 года, проросли на 5-е сутки (всхожесть семян с двухлетним хранением – 83 %, с годичным хранением – 96 %). Полное прорастание семян было зафиксировано на 5–7-е сутки с начала прорастания.

Показано, что плоды и семена (репродуктивные диаспоры) растения *L. ruthenicum* сохраняют всхожесть до 4 лет и более, на основании чего семена данного вида были отнесены нами к истинно-ортодоксальным [13] – к группе мезобиотиков (к ней относятся виды, семена которых сохраняются от 3 до 15 лет). К этой группе относится подавляющее большинство культурных и возделываемых видов растений [14].

Стерилизация растительного материала. Семена растения *L. ruthenicum* вводили в культуру *in vitro*. Высушенные плоды *L. ruthenicum* замачивали на 12 ч в дистиллированной воде и растирали на мелком сите, чтобы очистить от плодовой мякоти семена, которые в дальнейшем подвергали стерилизации. Семена помещали в 2 %-ный раствор 72 %-ного хозяйственного мыла на 5–10 мин. На следующем этапе семена дважды отмывали по 3 мин в дистиллированной воде и переносили в стерильные условия в ламинар-бокс. В ламинаре растительный материал помещали на 5 мин в 0,1 %-ный раствор фунгицида «Прозаро», после чего дважды отмывали по 3 мин в воде. Семена после отмывки в течение 1,5–3 мин экспонировали в 0,1 %-ном растворе AgNO_3 . После обработки растительный материал дважды отмывали в дистиллированной воде и переносили непосредственно на питательную среду. Далее семена переносили в чашки Петри на безгормональную питательную среду Мурасиге–Скуга (МС) с половинным содержанием солей [13], без сахарозы, но с добавлением 7,5 г/л агара (Sigma) в качестве уплотняющего вещества. Перед автоклавированием значение pH среды доводили до 5,6–5,8.

Первичное культивирование. Полученный материал *L. ruthenicum* (стерильные семена) переносили на модифицированные питательные среды, базисом для которых являлась среда МС. Индукцию развития наблюдали на питательной среде МС без добавления регуляторов роста.

Из посаженных на питательную среду 25 семян проросли лишь 10, из которых 2 были загрязнены бактериальной инфекцией и не годились для дальнейшего выращивания в культуре *in vitro*. Всхожесть семян в асептических условиях – 40 %, степень контаминации – 16 %.

При проращивании в условиях *in vitro* доля нормально проросших семян была достоверно ниже по сравнению с аналогичным показателем в нестерильных условиях. При использовании любого из указанных сочетаний стерилизующих агентов возникают аномалии в развитии проростков. Снижение всхожести может быть связано с высокой степенью токсичности использованных стерилизующих веществ и с их негативным влиянием на зародыш семени.



Рис. 5. Проростки *L. ruthenicum* через 14 сут после посева
 Fig. 5. Seedlings of *L. ruthenicum* 14 days after sowing



Рис. 6. Растение *L. ruthenicum* в культуре *in vitro*, возраст – 4,5 мес.
 Fig. 6. Plant *L. ruthenicum* *in vitro* culture, age – 4.5 months

Первые ростки *L. ruthenicum* длиной около 1 см появились спустя 14 сут после посева. Проростки пассировали в культуральные сосуды (180 мл) на питательную среду, отличающуюся от среды введения наличием 1,0 мг/л 6-бензиламинопурина (6-БАП). Спустя 4 мес. отмечались активный рост и развитие пассированных проростков в условиях *in vitro* и формирование у них развитой корневой системы. Это свидетельствует о пригодности для культивирования предложенной питательной среды и об успешном введении *L. ruthenicum* в стерильную культуру (рис. 6).

Индукция развития и получение микропобегов. После культивирования микрклональных растений дерезы русской на питательной среде МС с добавлением 6-БАП в концентрации 1,0 мг/л для успешной индукции развития и получения микропобегов необходим подбор питательных сред иного минерального и гормонального состава, поскольку на этом этапе у растений активизируются другие морфофизиологические механизмы. Для выполнения этого этапа исследования роста и развития *L. ruthenicum* в культуре *in vitro* использовали восемь питательных сред, отличающихся содержанием гормональных веществ и сахарозы (табл. 2).

На указанные питательные среды пассировали черенки *L. ruthenicum* длиной 10–15 мм с удаленными листовыми пластинками. После 2 мес. культивирования при 25 ± 2 °С, освещенности 3000 лк, фотопериоде 16 ч были получены результаты, представленные в табл. 2 и на рис. 7.

Т а б л и ц а 2. Влияние состава питательной среды на развитие и рост побегов-регенерантов на стадии микроразмножения после 2 мес. культивирования

T a b l e 2. Influence of the composition of the nutrient medium on the development and growth of regenerated shoots at the stage of micropropagation after 2 months of cultivation

| Вариант среды | К-во эксплантов | Каллусогенез | Морфология листа | Ризогенез, % | |
|---------------|---|--------------|---|--|-----|
| T01 | МС, 1 мг/л 6-БАП, 10 г/л сахарозы | 20 | Есть в основании черенков, при соприкосновении листьев со средой. Размер 4–5 мм у основания, до 5–10 мм у листьев. Зеленый. Частота 100 % | Листья плоские, зеленые, длиной 4–15 мм, шириной 1–6 мм. Нижние листья более широкие, верхние – узкие и короткие | 20 |
| T02 | МС, 1 мг/л 6-БАП, 30 г/л сахарозы | 20 | Есть в основании черенков, размер 5–17 мм. Частота 100 % | Листья чешуевидные, фиолетовые, длиной 1–3 мм | 0 |
| T03 | 1/2 МС, 1 мг/л 6-БАП, 10 г/л сахарозы | 20 | В основании черенков нет, при соприкосновении нижних листьев со средой – зеленый каллус размером 5–8 мм. Частота 50 % | Листья чешуевидные, фиолетовые, длиной 1–3 мм. Листья, которые развились из узлов, соприкасавшихся с питательной средой, длиной до 12 мм | 0 |
| T04 | 1/2 МС, 1 мг/л 6-БАП, 30 г/л сахарозы | 20 | В основании черенков нет, при соприкосновении нижних листьев со средой – зеленый каллус размером 5–8 мм. Частота 75 % | Листья чешуевидные, фиолетовые, длиной 1–3 мм | 0 |
| R01 | 1/2 МС, 0,2 мг/л индолилмасляной кислоты, 15 г/л сахарозы | 20 | В основании черенка – 4–5 мм, зеленый; при соприкосновении со средой – нет. Частота 100 % | Листья плоские, темно-зеленые, с нижней стороны с буроватым оттенком, длиной 7–12 мм, шириной 1–2 мм | 100 |
| R02 | 1/2 МС, 0,5 мг/л индолилмасляной кислоты, 15 г/л сахарозы | 20 | В основании черенка – 4–5 мм, зеленый; при соприкосновении со средой размер нижних листьев 5–7 мм. Частота 100 % | Листья фиолетовые, длиной 3–7 мм, шириной 1–2 мм | 0 |
| № 10м | 1/2 МС, 0,5 мг/л зеатина, 10 г/л сахарозы | 20 | Трудно определить, серовато-белого цвета, размер 5–9 мм. Частота 100 % | Листья зеленые, с нижней стороны фиолетовые, длиной 6–8 мм, шириной 1–2 мм | 0 |
| б/б | МС без гормонов, без сахарозы | 20 | Отсутствует | Листья плоские, зеленые, длиной 8–20 мм, шириной 1–2 мм | 100 |

При подборе сред для эффективного культивирования и регенерации дерезы русской была выявлена чувствительность культуры к фитогормональному составу среды и содержанию сахарозы.

Экспланты развивались неравномерно и неодинаково. Высота побегов, культивированных на изученных средах, варьировалась незначительно – от 1,0 до 2,5 см, зато размеры листьев существенно изменялись и наблюдались различия по цвету (от зеленых до фиолетовых), что говорит о различиях в накоплении хлорофиллов и антоцианов при определенных условиях. Наблюдались следующие изменения в морфологии листа: при культивировании на среде T01 – листья плоские, зеленые; при культивировании на средах T02, T03, T04 – чешуевидные, фиолетовые.

Культивирование эксплантов на всех питательных средах, кроме безгормональной, в течение 60 сут привело к повышенному каллусогенезу на некоторых вариантах питательных сред.

По литературным данным, добавление 0,75 мг/л индолилмасляной кислоты (ИМК) используется для стимулирования этапа укоренения [16]. В случае R01 (1/2 МС, 0,2 мг/л ИМК, 15 г/л сахарозы) отмечалось 100 %-ное корнеобразование, но листья были плоскими, темно-зелеными, с нижней стороны – с буроватым оттенком. В случае R02 (1/2 МС, 0,5 мг/л ИМК, 15 г/л сахарозы), несмотря на присутствие ИМК, корнеобразования не происходило, листья были плоскими, имели насыщенный фиолетовый окрас, размер их составлял 3–7 мм в длину, 1–2 мм в ширину, во всех случаях в основании черенка образовывался зеленый каллус. Отсутствие ризогенеза, наличие каллуса серовато-белого цвета размером 5–9 мм наблюдали на среде № 10м (1/2 МС, 0,5 мг/л зеатина, 10 г/л сахарозы). Присутствие сахарозы в концентрации 30 г/л стимулировало каллусогенез, подавляло пролиферацию побегов и способствовало формированию чешуевидных листьев фиолетовой окраски.

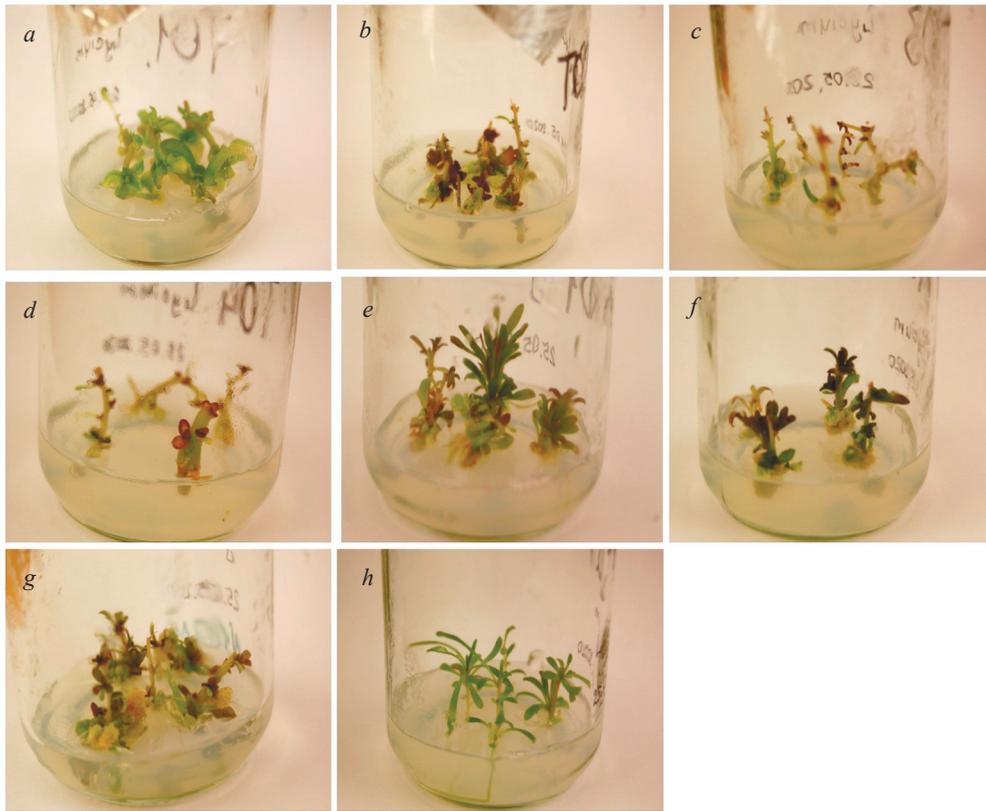


Рис. 7. Растения *L. ruthenicum* в культуральных сосудах
(варианты среды: *a* – T01, *b* – T02, *c* – T03, *d* – T04, *e* – R01, *f* – R02, *g* – № 10м, *h* – б/б)

Fig. 7. Plants of *L. ruthenicum* in culture vessels
(variants: *a* – T01, *b* – T02, *c* – T03, *d* – T04, *e* – R01, *f* – R02, *g* – no. 10м, *h* – b/b)

Оптимальной питательной средой для стабильного развития (без аномалий, без каллусообразования и инициации корнеобразования) является среда МС без содержания гормонов и сахарозы.

Дальнейшее поддержание образцов в коллекции *in vitro* осуществлялось на питательной среде МС с половинным количеством макросолей, без фитогормонов, при пониженной положительной температуре (4 °С), освещенности ~500 лк, фотопериоде 8 ч и периодическом клонировании микрорастений [17].

Заключение. В результате проведенных экспериментов выявлены особенности прорастания семян галофита дерезы русской (*Lucium ruthenicum* Murr.) в стерильных и нестерильных условиях. Оптимальным режимом температуры и освещенности для проращивания годичных семян данного вида является 16-часовой фотопериод и температура 25 °С, всхожесть семян в нестерильных условиях составила: у четырехгодичных – 46 %; у двухгодичных – 83; у одногодичных – 96 %. При использовании стерилизующих агентов для ввода семян как первичных эксплантов в культуру *in vitro* следует учитывать влияние стерилизующих агентов на зародыш семени.

Многоступенчатая стерилизация значительно снижает жизнеспособность семян и проростков *Lucium ruthenicum*, что ведет к снижению всхожести семян, но одновременно способствует устранению патогенов с семенной поверхности. Наиболее эффективным было сочетание таких агентов для стерилизации семян *Lucium ruthenicum*, как хозяйственное мыло, раствор фунгицида «Прозаро» и нитрат серебра (всхожесть составила 40 %).

Оптимальной питательной средой для стабильного развития микропобегов (без аномалий, без каллусообразования и инициации корнеобразования) оказалась МС без добавления гормонов и сахарозы. Поддержание образцов в коллекции *in vitro* осуществлялось на половинной МС

среде без гормонов и сахарозы, при пониженной положительной температуре (4 °C), освещенности ~500 лк и фотопериоде 8 ч.

Показано, что *in vitro* образцы коллекции *L. ruthenicum* могут быть использованы для разработки методов оздоровления микрорастений от вирусных инфекций; генотипирования образцов; морфо-биологического изучения *ex vitro* растений, устойчивых к соляному стрессу.

Список использованных источников

1. Николаева, М. Г. Справочник по проращиванию покоящихся семян / М. Г. Николаева, М. В. Разумова, В. Н. Гладкова. – Л. : Наука. Ленингр. отд-ние, 1985. – 348 с.
2. Фирсова, М. К. Методы определения качества семян / М. К. Фирсова. – изд. 2-е, переработ. и доп. – М. : Сельхозгиз, 1959. – 351 с.
3. Гранитова, О. Н. Влияние температуры и влажности на проращивание семян некоторых среднеазиатских растений / О. Н. Гранитова // Тр. Ин-та ботаники Акад. наук Узбек. ССР. – 1955. – № 3. – С. 63–101.
4. Сарабиева, Ш. У. Биоэкологические особенности и ценопопуляционная характеристика *Astragalus centralis* E. Sheld. в условиях Юго-Западного Кызылкума : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 03.00.05 / Ш. У. Сарабиева ; Акад. наук Респ. Узбекистан, Науч.-производ. центр «Ботаника». – Ташкент, 2009. – 21 с.
5. Флора СССР : в 30 т. / гл. ред. В. Л. Комаров. – Л. : Изд-во Акад. наук СССР, 1955. – Т. 22. – 861 с.
6. Флора Узбекистана : в 6 т. / гл. ред. Р. Р. Шредер. – Ташкент : Изд-во Узб. филиала Акад. наук СССР, 1961. – Т. 5. – 668 с.
7. Экологическая анатомия пустынных растений Средней Азии : в 3 т. / А. А. Бутник [и др.]. – Ташкент : Фан, 1991. – Т. 1 : Деревья, кустарники, кустарнички. – 145 с.
8. Деревья и кустарники СССР. – М.–Л. : изд-во Акад. наук СССР, 1962. – Т. VI. – С. 380.
9. Abdirahimova, S. Sh. *Lycium ruthenicum* Murr. dated in the Southern Aral and Aral Sea regions. The amount of chemical elements contained in the vegetative and generative organs of the plant / S. Sh. Abdirahimova, S. G. Sherimbetov // J. Crit. Rev. – 2020. – Vol. 7, N 9. – P. 153–156. <https://doi.org/10.31838/jcr.07.09.29>
10. The effects of exogenous antioxidant germanium (Ge) on seed germination and growth of *Lycium ruthenicum* Murr subjected to NaCl stress (in Chinese) / Y. Liu [et al.] // Environ. Technol. – 2016. – Vol. 37, N 8. – P. 909–919. <https://doi.org/10.1080/09593330.2015.1091512>
11. Бутенко, Р. Г. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнологии на их основе / Р. Г. Бутенко. – М. : ФБК-ПРЕСС, 1999. – 158 с.
12. Способ выращивания посадочного материала: пат. 2485755 РФ, МПК А 01 G 01/00 / А. И. Сиволапов, Т. Е. Галдина, Т. М. Табацкая, О. С. Машкина ; заявитель Общество с ограниченной ответственностью «ИНВИТРО» ; заявил : 28.10.2011 ; опубл. 21.09.2011.
13. Bonner, F. T. Storage of seeds: potential and limitations for germplasm conservation / F. T. Bonner // Forest Ecol. Management. – Vol. 35, N 1–2. – P. 35–43. [https://doi.org/10.1016/0378-1127\(90\)90230-9](https://doi.org/10.1016/0378-1127(90)90230-9)
14. Тихонова, В. Л. Долговременное хранение семян дикорастущих растений в Главном Ботаническом саду РАН / В. Л. Тихонова, И. А. Смирнов // Репродуктивная биология редких и исчезающих видов растений : тез. докл. Всерос. науч. конф. (21–24 июня 1999 г., Сыктывкар) / редкол. : Ю. М. Фролов (отв. ред.) [и др.]. – Сыктывкар, 1999. – С. 56–57.
15. Murashige, T. A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures / T. Murashige, F. Skoog // Physiol. Plant. – 1962. – Vol. 15, N 3. – P. 473–497. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>
16. Орлова, С. Ю. Биологические особенности и селекционная ценность сортов вишни в условиях Северо-Запада России : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 06.01.05 / С. Ю. Орлова ; Всерос. науч.-исслед. ин-т растениеводства им. Н. И. Вавилова РАСХН. – СПб., 2002. – 20 с.
17. Сохранение вегетативно размножаемых культур в *in vitro* и криоколлекциях : метод. указания / сост. : С. Е. Дунаева [и др.] ; под ред. Т. А. Гавриленко. – СПб. : Гос. науч. учреждение Всерос. НИИ растениеводства им. Н. И. Вавилова Рос. акад. с.-х. наук, 2017. – 64 с.

References

1. Nikolaeva M. G., Razumova M. V., Gladkova V. N. *Reference book on dormant seed germination*. Leningrad, Nauka. Leningradskoe otdelenie Publ., 1985. 348 p. (in Russian).
2. Firsova M. K. *Methods for determining the quality of seeds*. 2nd ed. Moscow, Sel'khozgiz Publ., 1959. 351 p. (in Russian).
3. Granitova O. N. Influence of temperature and humidity on seed germination of some Central Asian plants. *Trudy Instituta botaniki Akademii nauk Uzbekskoi SSR* [Proceedings of the Institute of Botany of the Academy of Sciences of the Uzbek SSR], 1955, no. 3, pp. 63–101 (in Russian).
4. Sarabieva Sh. U. *Bioecological features and cenopopulation characteristics of Astragalus centralis E. Sheld. in the conditions of Southwest Kyzyl Kum*. Abstract of Ph. D. diss. Tashkent, 2009. 21 p. (in Russian).
5. *Flora URSS (Flora Unions Rerumpublicarum Sovieticarum Socialisticarum)*. Vol. 22. Leningrad, USSR Academy of Sciences Publishing House, 1955. 861 p. (in Russian).

6. *Flora of Uzbekistan. Vol. 5.* Tashkent, Publishing house of the Uzbek branch of the USSR Academy of Sciences, 1961. 668 p. (in Russian).
7. Butnik A. A., Nigmanova R. N., Paizieva S. A., Saidov D. K. *Ecological anatomy of the desert plants of Central Asia. Vol. 1. Trees, shrubs, shrubs.* Tashkent, Fan Publ., 1991. 145 p. (in Russian).
8. *Trees and bushes of the USSR.* Moscow – Leningrad, 1962, vol. VI, p. 380. (in Russian).
9. Abdirahimova S. Sh., Sherimbetov S. G. *Lycium ruthenicum* Murr. dated in the Southern Aral and Aral Sea regions. The amount of chemical elements contained in the vegetative and generative organs of the plant. *Journal of Critical Reviews*, 2020, vol. 7, no. 9, pp. 153–156. <https://doi.org/10.31838/jcr.07.09.29>
10. Liu Y., Hou L. Y., Li Q. M., Jiang Z. P., Liu D., Zhu Y. The effects of exogenous antioxidant germanium (Ge) on seed germination and growth of *Lycium ruthenicum* Murr subjected to NaCl stress (in Chinese). *Environmental Technology*, 2016, vol. 37, no. 8, pp. 909–919. <https://doi.org/10.1080/09593330.2015.1091512>
11. Butenko R. G. *Biology of cells of higher plants in vitro and biotechnology on their basis.* Moscow, FBK-PRESS Publ., 1999. 158 p. (in Russian).
12. Sivolapov A. I., Galdina T. E., Tabatskaya T. M., Mashkina O. S. *Method of growing planting material.* Patent USSR No. 2485755, 2011. (in Russian).
13. Bonner F. T. Storage of seeds: potential and limitations for germplasm conservation. *Forest Ecology and Management*, 1990, vol. 35, no. 1–2, pp. 35–43. [https://doi.org/10.1016/0378-1127\(90\)90230-9](https://doi.org/10.1016/0378-1127(90)90230-9)
14. Tikhonova V. L., Smirnov I. A. Long-term storage of seeds of wild plants in the Main Botanical Garden of the Russian Academy of Sciences. *Reproduktivnaya biologiya redkikh ischezayushchikh vidov rastenii: tezisy dokladov Vserossiiskoi nauchnoi konferentsii (21–24 iyunya 1999 goda, Syktyvkar)* [Reproductive biology of rare endangered plant species: abstracts of the All-Russian scientific conference (June 21–24, 1999, Syktyvkar)]. Syktyvkar, 1999, pp. 56–57 (in Russian).
15. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 1962, vol. 15, no. 3, pp. 473–497. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>
16. Orlova S. Yu. *Biological characteristics and breeding value of cherry varieties in the North-West of Russia:* Abstract of Ph. D. diss. St. Petersburg, 2002. 20 p. (in Russian).
17. Dunaeva S. E., Pendenin G. I., Antonova O. Yu., Shvachko N. A., Volkova N. N., Gavrilenko T. A. *Preservation of vegetatively propagated cultures in in vitro and cryo collections.* St. Petersburg, State Scientific Institution All-Russian Research Institute of Plant Industry named after N. I. Vavilov of the Russian Academy of Agricultural Sciences, 2017. 64 p. (in Russian).

Информация об авторах

Седун Екатерина Анатольевна – мл. науч. сотрудник. Центральный ботанический сад НАН Беларуси (ул. Сурганова, 2в, 220012, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: krvvj.mhr@rambler.ru

Абдирахимова Сайёра Шодиёровна – базовый докторант. Национальный университет Узбекистана им. Мирзо Улугбека (ул. Университетская, 4, 100174, г. Ташкент, Республика Узбекистан). E-mail: s.abdiraximova@mail.ru

Зубарев Андрей Васильевич – науч. сотрудник. Центральный ботанический сад НАН Беларуси (ул. Сурганова, 2в, 220012, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: av.zubarev01@gmail.com

Спиридович Елена Владимировна – канд. биол. наук, доцент, заведующий лабораторией. Центральный ботанический сад НАН Беларуси (ул. Сурганова, 2в, 220012, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: a.spirydovich@gmail.com

Решетников Владимир Николаевич – академик, д-р биол. наук, профессор, заведующий отделом. Центральный ботанический сад НАН Беларуси (ул. Сурганова, 2в, 220012, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: V.Reshetnikov@cbg.org.by

Шеримбетов Санжар Гулмирзоевич – д-р биол. наук, профессор, заведующий лабораторией. Институт биоорганической химии им. акад. А. С. Садыкова АН РУз (ул. М. Улугбека, 83, 100125, г. Ташкент, Республика Узбекистан). E-mail: sanjarbeksherimbetov@gmail.com

Назирова Эльмира Рахимбердиевна – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник. Институт биоорганической химии им. акад. А. С. Садыкова АН РУз (ул. М. Улугбека, 83, 100125, г. Ташкент, Республика Узбекистан). E-mail: info@biochem.uz

Information about the authors

Ekaterina A. Sedun – Junior Researcher. Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus (2v, Sarganov Str., 220012, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: krvvj.mhr@rambler.ru

Sayyora Sh. Abdirahimova – Basic Doctoral Student. National University of Uzbekistan named after Mirzo Ulugbek (4, Universitetskaya Str., 100174, Tashkent, Republic of Uzbekistan). E-mail: s.abdiraximova@mail.ru

Andrey V. Zubarev – Researcher. Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus (2v, Sarganov Str., 220012, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: av.zubarev01@gmail.com

Elena V. Spiridovich – Ph. D. (Biol.), Associate Professor, Head of the Laboratory. Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus (2v, Sarganov Str., 220012, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: a.spirydovich@gmail.com

Vladimir N. Reshetnikov – Academician, D. Sc. (Biol.), Professor, Head of the Department. Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus (2v, Sarganov Str., 220012, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: V.Reshetnikov@cbg.org.by

Sanjar G. Sherimbetov – D. Sc. (Biol.), Professor, Head of the Laboratory. Institute of Bioorganic Chemistry named after Acad. A. S. Sadykov of the Academy of Sciences of Uzbekistan (83, Mirzo Ulugbek Str., 100125, Tashkent, Uzbekistan). E-mail: sanjarbeksherimbetov@gmail.com

Elmira R. Nazirova – Ph. D. (Biol.), Senior Researcher. Institute of Bioorganic Chemistry named after Acad. A. S. Sadykov of the Academy of Sciences of Uzbekistan (83, Mirzo Ulugbek Str., 100125, Tashkent, Uzbekistan). E-mail: info@biochem.uz