

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА *IN VITRO* ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ОЗДОРОВЛЕННОГО ПОСАДОЧНОГО МАТЕРИАЛА ЧЕСНОКА ОЗИМОГО

APPLICATION OF *IN VITRO* METHOD TO OBTAIN CLEAN PLANTING MATERIAL OF WINTER GARLIC

Ключевые слова: чеснок озимый, зубки, луковички, размножение, оздоровление, посадочный материал, *in vitro*.

Чеснок – исключительно вегетативно размножаемое растение, которое подвержено заражению многочисленными вирусными, бактериальными, грибными фитопатогенами. При размножении пораженных растений фитопатогены передаются потомству, что приводит к снижению урожайности, потере качества, лежкоспособности и часто вырождению сортов. Селекционный процесс вегетативно размножаемых культур осложняется отсутствием генетического разнообразия из-за невозможности образования семян. Селекция чеснока традиционно основывается на клональном отборе образцов по заданным признакам. В связи с этим целью исследований было оздоровление посадочного материала чеснока озимого с применением метода *in vitro*. Изучение воздушных луковичек для получения оздоровленного посадочного материала с помощью метода *in vitro* проведено в 2020-2021 гг. Лабораторные опыты заложены в условиях ламинарного бокса, далее стерильные соцветия высаживали на питательную среду MS. Полученные растения *in vitro* адаптировали к условиям *ex vitro* в пластиковых стаканчиках, дальнейшее выращивание растений проводили в условиях открытого грунта. В статье представлена экспериментально обоснованная технология получения оздоровленного посадочного материала чеснока озимого, основанная на культивировании *in vitro* воздушных луковичек на среде MS, содержащей кинетин в концентрации 1 мг/л с последующим образованием проростков, а затем растений, в основании которых формируются луковички. Культивирование воздушных луковичек из нижнего яруса соцветия сопровождалось их 100%-ным ростом с образованием листьев и микролуковичек. Адаптация таких растений к условиям *ex vitro* сопровождается по-

лучением однозубковых лукович, из которых в условиях открытого грунта образуются однозубковые и многозубковые луковички.

Keywords: winter garlic, cloves, bulbs, reproduction, health improvement, planting material, *in vitro*.

Garlic is an exclusively vegetatively propagated plant that is susceptible to infection by numerous viral, bacterial, and fungal phytopathogens. The reproduction of affected plants cause the transmission of phytopathogens to the offspring and that leads to decreased yields, loss of quality and storability, and often degeneration of varieties. The breeding of vegetatively propagated crops is complicated by the lack of genetic diversity due to the impossibility of seed formation. Garlic breeding has traditionally been based on clonal selection for specified characters. In this regard, the research goal was to obtain clean planting material of winter garlic using *in vitro* method. The study of aerial bulbils to obtain pathogen-free planting material by using *in vitro* method was carried out in 2020 and 2021. Laboratory experiments were carried out in a laminar-flow box then sterile inflorescences were planted on MS nutrient medium. The obtained plants *in vitro* were adapted to *ex vitro* conditions in plastic pots; further the plants were grown in open ground. This paper discusses an experimentally substantiated technology for obtaining clean planting material of winter garlic based on *in vitro* cultivation of aerial bulbils on MS medium containing kinetin at a concentration of 1 mg L followed by the formation of seedlings and then plants at which base bulbs are formed. The cultivation of aerial bulbils from the lower tier of the inflorescence was accompanied by their 100% growth with the formation of leaves and micro-bulbils. The adaptation of such plants to *ex vitro* conditions is accompanied by the production of single-clove bulbs from which single-clove and multi-clove bulbs are formed under open ground conditions.

Азопкова Марина Александровна, к.с.-х.н., науч. сотр., ФГБНУ «Федеральный научный центр овощеводства», Московская обл., Российская Федерация, e-mail: bioteh438@mail.ru.

Середин Тимофей Михайлович, к.с.-х.н., ст. науч. сотр., ФГБНУ «Федеральный научный центр овощеводства», Московская обл., Российская Федерация, e-mail: timofey-seredin@rambler.ru.

Муравьева Ирина Владимировна, агроном, ООО «Тонэкс», г. Щелково, Московская обл., Российская Федерация, e-mail: xenoton@yandex.ru.

Azopkova Marina Aleksandrovna, Cand. Agr. Sci., Researcher, Federal Scientific Center of Vegetable Crop Production, Moscow Region, Russian Federation, e-mail: bioteh438@mail.ru.

Seredin Timofey Mikhaylovich, Cand. Agr. Sci., Senior Researcher, Federal Scientific Center of Vegetable Crop Production, Moscow Region, Russian Federation, e-mail: timofey-seredin@rambler.ru.

Muraveva Irina Vladimirovna, Agronomist, ООО "Ton-eks", Shchelkovo, Moscow Region, Russian Federation, e-mail: xenoton@yandex.ru.

Жаркова Сталина Владимировна, д.с.-х.н., доцент, ФГБОУ ВО Алтайский ГАУ, г. Барнаул, Российская Федерация, e-mail: stalina_zharkova@mail.ru.

Zharkova Stalina Vladimirovna, Dr. Agr. Sci., Assoc. Prof., Altai State Agricultural University, Barnaul, Russian Federation, e-mail: stalina_zharkova@mail.ru.

Введение

Чеснок (*Allium sativum* L.) является востребованной овощной культурой, второй по использованию и объемам выращивания после лука репчатого из всего рода *Allium* L. Чеснок известен человеку с давних времён. Упомянут в трудах древних учёных, строители пирамиды Хеопса употребляли чеснок в пищу. Использовали чеснок как средство для лечения многих заболеваний. Считали, что чеснок укрепляет мужскую силу и боевой дух воинов. В древней Руси чеснок также был хорошо известен и распространён. В настоящее время потребность в продукции культуры в России высока и покрывается в основном импортом [1-3].

Ценность чеснока не только в его востребованности в пищевой промышленности, где его используют для консервации, копчения мясных и продуктов, изготовления колбас и полуфабрикатов. Приготовление многих блюд в общественном питании без чеснока просто невозможно [4, 5].

Ценен чеснок и своим химическим составом. Запах и специфический вкус придаёт чесноку органическое соединение – аллицин, обладающее бактерицидными и фунгицидными свойствами [6, 7]. В состав жирных и эфирных масел чеснока входят многие сероорганические соединения, в том числе аллицин, аджонин и др. Сухое вещество чеснока содержит витамины С, РР, В₁ [6]. Чеснок достаточно калорийный продукт питания, в его составе определены белки (до 8%), углеводы (до 27%), аминокислоты, в том числе все незаменимые аминокислоты. В биохимический состав чеснока входят германий, селен и другие макро- и микроэлементы [8]. Благодаря своим бактерицидным и антиоксидантным свойствам чеснок используется для лечения и профилактики многих заболеваний человека.

Недостаточное производство продукции чеснока в нашей стране связано с несколькими причинами. Одна из них – неотработанная технология производства чеснока с заменой ручного труда на механизацию процессов возделывания. Вторая не менее важная проблема – недостаток посадочного материала [1, 2]. Чеснок является исключительно вегетативно размножаемой культурой. Его размножают зубками, получаемыми из луковиц, или мелкими луковичками, формирующимися в соцветии чеснока. При мно-

жескратном использовании зубков для получения товарной продукции в посадочном материале происходит накопление патогенной микрофлоры, что приводит к снижению урожайности и качества продукции. Кроме того, коэффициент размножения при использовании зубков не высокий и составляет 1:7-1:12 [1, 3].

Использование луковичек из соцветия или воздушных луковичек позволяет получить больший объём более здорового посадочного материала. Однако цикл выращивания товарной продукции из воздушной луковички более продолжительный, чем из зубков, и составляет при традиционной технологии до 3 лет [9]. В первый год выращивания (после посева под зиму бульбочек) получают однозубковые луковицы, различные по массе и размеру. На второй год можно получить как крупные однозубки, так и многозубковые луковицы, из которых в дальнейшем получают товарную продукцию [9, 10].

Высокая стоимость трехлетнего посадочного материала является негативной составляющей частью в выращивании чеснока. Для удешевления и ускорения получения оздоровленного посадочного материала чеснока из воздушных луковичек были разработаны методы с использованием биотехнологических разработок [9]. Использование современных способов биотехнологии ускоряет получение оздоровленного посадочного материала [9, 11].

Цель исследования – разработать наиболее эффективный метод получения оздоровленного посадочного материала чеснока озимого с применением метода *in vitro*.

Условия, объекты и методы исследований

Работа была проведена в лаборатории биотехнологических исследований ФГБНУ «Федеральный научный центр овощеводства» в 2020-2021 гг.

Основные исследования проведены на воздушных луковичках (бульбочках) четырех сортов чеснока озимого отечественной селекции, внесённых в Госреестр селекционных достижений, допущенных к использованию: Гладиатор, Демидов, Одинцовский Юбилейный и Поднебесный [12].

Материалом для исследования *in vitro* служили соцветия чеснока, изолированные из нераскрывшихся соцветий диаметром до 25 мм.

Для введения в культуру соцветия чеснока промывали в проточной воде в течение 30 мин., затем выдерживали в растворе марганцовокислого калия 15 мин. В условиях ламинарного бокса стерилизовали последовательно 70%-ным раствором этанола в экспозиции 30 с, в 1,0%-ном растворе гипохлорита натрия – в течение 20 мин. Промывали стерильной дисциллированной водой трехкратно в течение 20 мин. [13].

Стерильные соцветия высаживали на питательную среду MS, содержащую кинетин в концентрации 1 мг/л и ИУК – 0,05 мг/л, сахарозу – 30 г/л, агар – 6 г/л [14].

Полученные растения *in vitro* адаптировали к условиям *ex vitro* в пластиковых стаканчиках объемом 100 мл. Субстратом служили органические грунты торговой марки «БИУД» [10]. Дальнейшее выращивание растений проводили в условиях открытого грунта.

Результаты

Соцветие чеснока представлено простым зонтиком, в котором формируются воздушные луковички. Наиболее крупные и хорошо сформированные луковички находятся в нижней трети зонтика, в верхних частях зонтика образуются более мелкие и недоразвитые воздушные луковички. Для посева и получения полноценного урожая однозубковых луковиц отбираются воздушные луковички не менее 5 мм в диаметре, более мелкие нуждаются в дополнительном подращивании. В наших исследованиях при культивировании воздушных луковичек в условиях *in vitro* удалось использовать 91-98% образовавшихся в соцветии луковичек (табл. 1, рис.). Известно, что количество воздушных луковичек

чеснока является сортовым признаком. Этот показатель является достаточно вариabельным и колеблется от 50 до 450 шт. в одном соцветии [9, 13]. Чем меньше воздушных луковичек в соцветии, тем они крупнее. Сортовые различия подтвердись и в наших исследованиях. У сорта Гладиатор, в соцветиях которого насчитывалось в среднем 80 воздушных луковичек, удалось получить 51% готовых к адаптации растений через 4 недели культивирования. У сорта Демидов (180 воздушных луковичек в соцветии) – 38%, у сорта Одинцовский Юбилейный (250 воздушных луковичек) – 32%. Еще через 4 недели выращивания были готовы еще 30-33% растений, относящихся к среднему ярусу в соцветии. В результате культивирования в течение 12-16 недель доля растений от среднего количества воздушных луковичек в соцветии чеснока составила 98% у сорта Гладиатор, 95% – у сорта Демидов, 91% – у сорта Одинцовский Юбилейный.

Растения чеснока, адаптированные к условиям *ex vitro*, полученные с нижнего яруса соцветия, высаживали в открытый грунт в августе – первой декаде сентября. Перезимовавшие растения образовали однозубковые и многозубковые луковицы (табл. 2). Растения, полученные со 2-го и 3-го ярусов соцветия, после образования побега с 2-3 листьями до середины января находились в состоянии вынужденного покоя в условиях *in vitro* при температуре 10°C. После чего были адаптированы и высажены в открытый грунт в первой декаде мая. К уборке они образовали однозубковые луковицы.

Растения, полученные в культуре *in vitro*, сформировали однозубковые и многозубковые луковицы, сопоставимые по массе с луковицами растений, выращенных традиционным способом.

Таблица 1

Получение растений *in vitro* из различных ярусов соцветия, 2020-2021 гг.

Сорт	Среднее количество воздушных луковичек в соцветии, шт.	Получено растений <i>in vitro</i>							
		верхний ярус		средний ярус		нижний ярус		всего	
		шт.	%*	шт.	%*	шт.	%*	шт.	%*
Гладиатор	80	41	51,0	24	30	14	17	78	98
Демидов	180	68	38,0	54	30	49	27	171	95
Одинцовский Юбилейный	250	13	32,0	88	35	60	24	160	91

Примечание. *Доля растений от среднего количества воздушных луковичек в соцветии чеснока.

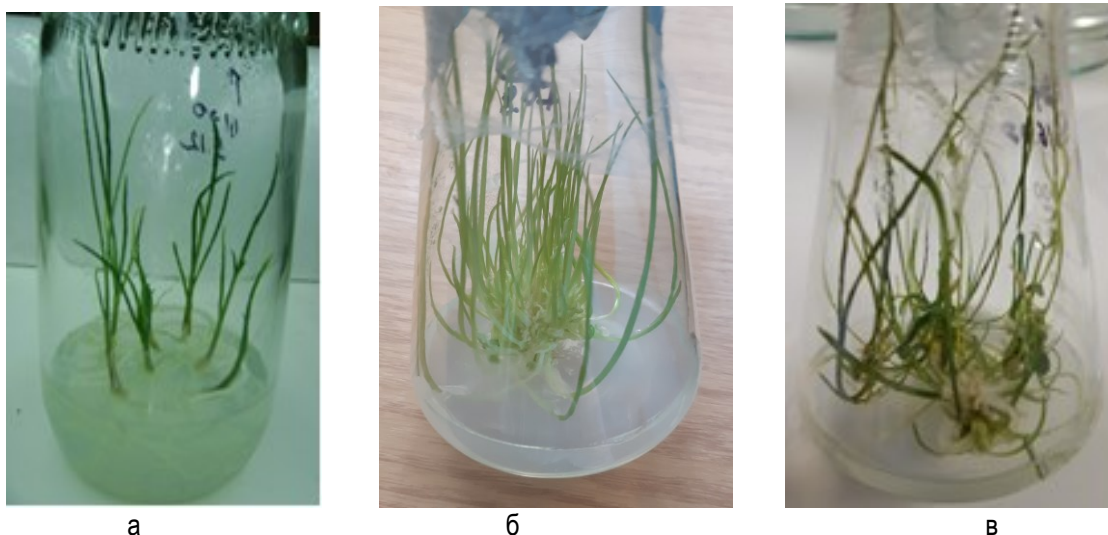


Рис. Растения чеснока озимого в соцветии *in vitro*:
а – укорененные растения сорта Гладиатор из нижнего яруса;
б – побеги из луковичек; в – побеги из луковичек верхнего яруса

Таблица 2

Образование луковиц у растений, полученных из разных зон соцветия чеснока озимого на примере сорта Гладиатор, 2020-2021 гг.

Ярус соцветия	Высажено растений <i>in vitro</i> на адаптацию, шт.	Адаптировано/ высажено в грунт, шт.	Образовалось			
			однозубковых луковиц		многозубковых луковиц	
			шт.	средняя масса, г	шт.	средняя масса, г
Нижний	41	38	25	4,5	13	17,1
Средний	24	21	17	3,2	4	13,5
Верхний	14	12	1	2,0	11	7,5

Заключение

Выращивание воздушных луковичек в условиях *in vitro* позволяет максимально эффективно использовать биологический потенциал всего соцветия. Культивирование материала в условиях лаборатории и защищенного грунта может значительно сократить сроки выращивания однозубковой и многозубковой луковички.

Библиографический список.

1. Казакова, А. А. Лук / А. А. Казакова. – Текст: непосредственный // Культурная флора СССР. – Ленинград, 1978. – Т. 10. – 262 с.
2. Капустина, Л. Особенности выращивания чеснока в мире / Л. Капустина. – Текст: непосредственный // Овощеводство. – 2016. – № 9. – С. 33-35.
3. Селекция чеснока озимого на качество продукции: монография / Т. М. Середин, А. Ф. Агафонов, Л. И. Герасимова [и др.]. – Омск: Изд-во КАН, 2020. – 116 с. – Текст: непосредственный.
4. Томаты консервированные чесночные (технические условия) / Л. В. Павлов, И. Ю. Кон-

дратьева, Т. А. Санникова, В. А. Мачулкина. – Текст: непосредственный // Овощи России. – Москва, 2014. – № 2. – С. 74-75.

5. Алабина, Н. М. Разработка промышленной технологии комплексной переработки чеснока для производства продукции функционального назначения: автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата технических наук: 05.18.01 / Алабина Нина Михайловна. – Москва, 2002. – 28 с. – Текст: непосредственный.

6. Биохимия: учебник / под редакцией Е. С. Северина. – 2-е изд. испр. – Москва: ГЭОТАР-МЕД, 2004. – С. 125-130.

7. Егоров, Н. С. Основы учения об антибиотиках: учебник / Н. С. Егоров. – Изд. 6-е перераб. – Москва: Изд-во МГУ, Наука, 2004. – С. 390-391. – Текст: непосредственный.

8. Середин, Т. М. Межсортовые различия накопления германия (Ge) в продукции чеснока озимого / Т. М. Середин, Л. И. Герасимова. – Текст: непосредственный // Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использова-

ния: материалы XI Международного симпозиума. – Пущино, 2015. – С. 356-359.

9. Поляков, А. В. Получение посадочного материала чеснока озимого из воздушных луковичек в Нечерноземной зоне Российской Федерации: методические рекомендации / А. В. Поляков, Т. В. Алексеева. – Москва, 2018. – 16 с. – Текст: непосредственный.

10. Титов, О. Н. Выращивание посадочного материала чеснока с использованием органических удобрений торговой марки «БИУД» и малообъемной технологии / О. Н. Титов, И. В. Муравьева, М. А. Азопкова. – Текст: электронный // Картофель и овощи. – 2021. – № 2. – С. 19-21. – URL: <https://doi.org/10.25630/PAV.2021.36.53.004>

11. Поляков, А. В. Регенерация растений чеснока озимого (*Allium sativum* L.) in vitro из воздушных луковичек / А. В. Поляков, М. А. Азопкова, Н. Н. Лебедева, И. В. Муравьева. – DOI 10.18619/2072-9146-2018-4-20-25. – Текст: непосредственный // Овощи России. – 2018. – № 4. – С. 20-25.

12. Государственный реестр селекционных достижений. Т. 1. Сорта растений. – Москва: ФГБУ «Госсорткомиссия», 2020 – С. 255-256.

13. Поляков А. В. Получение in vitro посадочного материала чеснока (*Allium sativum* L.): методическое руководство / А. В. Поляков, М. А. Азопкова, И. В. Муравьева. – Москва, 2018. – 12 с. – Текст: непосредственный.

14. Murashige, T., Skoog, F. (1962). A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures. *Physiologia Plantarum*, 15: 473-497. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>.

References

1. Kazakova, A.A. Luk / A.A. Kazakova/ Kultur-naia flora SSSR. – Leningrad; 1978. – Т. 10. – 262 s.

2. Kapustina, L. Osobennosti vyrashchivaniia chesnoka v mire / L. Kapustina // Ovoshchevodstvo. – 2016. – No. 9. – S. 33-35.

3. Seredin, T.M. Seleksiia chesnoka ozimogo na kachestvo produktsii: monografiia / T.M. Seredin, A.F. Agafonov, L.I. Gerasimova, A.V. Soldatenko, L.V. Krivenkov. – Omsk: Izd-vo KAN, 2020. – S. 116.

4. Pavlov, L.V. Tomaty konservirovannye chesnochnye (tekhnicheskie usloviia) / L.V. Pavlov,

I.Iu. Kondrateva, T.A. Sannikova, V.A. Machulkina // Ovoshchi Rossii. – 2014. – No. 2. – S. 74-75.

5. Alabina, N.M. Razrabotka promyshlennoi tekhnologii kompleksnoi pererabotki chesnoka dlia proizvodstva produktsii funktsionalnogo naznacheniia: avtoref. dis. ... kand. tekhn. nauk: 05.18.01 / Alabina N.M. – Moskva, 2002. – 28 s.

6. Biokhimiia: uchebnik / pod red. E.S. Severina. – 2-e izd. ispr. – Moskva: GEOTAR-MED, 2004. – S. 125-130.

7. Egorov, N.S. Osnovy ucheniia ob antibiotikakh: uchebnik / N.S. Egorov. – izd. 6-e pererab. – Moskva: Izd-vo MGU: Nauka, 2004 – S. 390-391.

8. Seredin, T.M. Mezhsortovye razlichii nakopleniia germaniia (Ge) v produktsii chesnoka ozimogo / T.M. Seredin, L.I. Gerasimova // Materialy XI Mezhdunarodnogo simpoziuma "Novye i netraditsionnye rasteniia i perspektivy ikh ispolzovaniia. – Pushchino, 2015. – S. 356-359.

9. Poliakov, A.V. Poluchenie posadochnogo materiala chesnoka ozimogo iz vozdushnykh lukovichek v Nечernozemnoi zone Rossiiskoi Federatsii / A.V. Poliakov, T.V. Alekseeva // Metodicheskie rekomendatsii. – Moskva, 2018. – S. 16.

10. Titov, O.N. Vyrashchivanie posadochnogo materiala chesnoka s ispolzovaniem organicheskikh udobrenii torgovoi marki «BIUD» i maloobieemnoi tekhnologii / O.N. Titov, I.V. Muraveva, M.A. Azopkova // Kartofel i ovoshchi. – 2021. – No. 2. – S. 19-21. <https://doi.org/10.25630/PAV.2021.36.53.004>.

11. Poliakov, A.V. Regeneratsiia rastenii chesnoka ozimogo (*Allium sativum* L.) in vitro iz vozdushnykh lukovichek / A.V. Poliakov, M.A. Azopkova, N.N. Lebedeva, I.V. Muraveva // Ovoshchi Rossii. – 2018. (4): 20-25. DOI:10.18619/2072-9146-2018-4-20-25.

12. Gosudarstvennyi reestr selektsionnykh dostizhenii. Т. 1. Sорта растений. – Москва: ФГБУ «Госсорткомиссия», 2020. – С. 255-256.

13. Poliakov A.V. Poluchenie in vitro posadochnogo materiala chesnoka (*Allium sativum* L.) / A.V. Poliakov, M.A. Azopkova, I.V. Muraveva // Metodicheskoe rukovodstvo. – Moskva, 2018. – S. 12.

14. Murashige, T., Skoog, F. (1962). A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures. *Physiologia Plantarum*, 15: 473-497. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>.

