

5. Russell, R.M.; Paiva, S.A.R. β -Carotene and Other Carotenoids as Antioxidants. J. Am. Coll. Nutr. 1999, 18,426–433, doi:10.1080/07315724.1999.10718880.

6. Fabre G, Bayach I, Berka K, Paloncýová M, Starok M, Rossi C, Duroux JL, Otyepka M, Trouillas P. Synergism of antioxidant action of vitamins E, C and quercetin is related to formation of molecular associations in biomembranes. Chem Commun (Camb). 2015 May 4;51(36):7713-6. doi: 10.1039/c5cc00636h. PMID: 25851839.

ИНСТИТУТ САДОВОДСТВА И ЛАНДШАФТНОЙ АРХИТЕКТУРЫ

СЕКЦИЯ «АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ САДОВОДСТВА И ЛАНДШАФТНОЙ АРХИТЕКТУРЫ»

УДК 576.53

ПОЛУЧЕНИЕ ИЗОЛИРОВАННЫХ ПРОТОПЛАСТОВ КУЛЬТУР РОДА *ALLIUM* ИЗ СУСПЕНЗИОННОЙ КУЛЬТУРЫ КЛЕТОК

Вишнякова Анастасия Васильевна, доцент кафедры ботаники, селекции и семеноводства садовых растений, РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, a.vishnyakova@rgau-msha.ru

Аннотация: Работа посвящена получению суспензионной культуры *Allium cepa* и *Allium fistulosum*, подбору условий культивирования клеток каллуса в суспензионной культуре и выделению протопластов. В ходе работы изучен плазмолиз и рассчитано осмотическое давление в клетках каллуса репчатого лука и батуна.

Ключевые слова: *Allium cepa*, *Allium fistulosum*, суспензионная культура, протопласты, плазмолиз

Изолированные протопласты являются объектами для ряда технологических процессов, таких как генетическая трансформация, редактирование генома, соматическая гибридизация. Интерес к соматической гибридизации у ряда культур в настоящее время возвращается: исследователей интересует создание цибридных растений, как возможность объединять цитоплазматические гены разных видов в одном генотипе. Создание цибридов дает возможность передачи селекционно-ценных генов цитоплазмы [1], а также создание растений с новыми типами мужской стерильности, что важно для упрощения процесса семеноводства при получении гибридных семян.

Изоляцию протопластов культур рода *Allium* обычно проводят из каллуса, предварительно культивируемого в жидкой питательной среде [2, 3]. Сложности на данном этапе возникают при неподходящем осмотическом давлении

питательного раствора для культивирования каллусных клеток различных видов рода *Allium*.

Цель работы: отработка этапов получения изолированных протопластов *Allium fistulosum*, *Allium cepa*, *Allium roylei*

Задачи

1. Получение каллусной культуры из стерильных проростков *Allium fistulosum*, *Allium cepa*, *Allium roylei*
2. Получение суспензионной культуры клеток *Allium fistulosum*, *Allium cepa*, *Allium roylei*
3. Изучение плазмолиза в клетках *Allium fistulosum*, *Allium cepa*, *Allium roylei*
4. Получение изолированных протопластов.

Материалы и методы. Проростки луков получали асептическим проращиванием семян на питательной среде с половинным содержанием солей BDS с добавлением 25 г/л сахарозы. Проростки делили на части: корень, гипокотиль и лист и переносили на питательную среду BDS с добавлением 2 г/л БАП, 1 г/л 2,4 D, 40 г/л сахарозы и 7 г/л агар-агар, на которой культивировали экспланты до нарастания каллуса.

Полученный каллус пересаживали на питательную среду BDS с добавлением 2 г/л БАП, 1 г/л 2,4 D и сахарозы в концентрациях: А. 0 г/л сахарозы, В. 40 г/л сахарозы, С. 80 г/л сахарозы, D. 120 г/л сахарозы, Е. 160 г/л сахарозы, F. 200 г/л сахарозы. Проводили наблюдения за дальнейшим развитием каллуса.

В растворах сахарозы, следующих концентраций А. 0 г/л сахарозы, В. 40 г/л сахарозы, С. 80 г/л сахарозы, D. 120 г/л сахарозы, Е. 160 г/л сахарозы, F. 200 г/л сахарозы, проводили исследование плазмолиза клеток каллуса *Allium fistulosum*, *Allium cepa*, *Allium roylei*. Наличие плазмолиза оценивали, как отхождение протопласта от клеточной стенки, судорожным плазмолизом считали сильное отхождение протопласта от клеточной стенки и его неравномерное сжатие, разрушение протопласта отмечали при отсутствии внутри клеточной стенки оформленного протопласта.

Выделение протопластов проводили в питательной среде Као с добавлением 138 г/л сахарозы, 5 г/л целлюлазы и 2,5 г/л пектиназы, экспозиция 4 ч. при медленном покачивании. От ферментов протопласты отмывали питательной средой Као с добавлением 138 г/л сахарозы. Для оценки жизнеспособности протопласты окрашивали ацетокармином.

Результаты. При индукции каллуса из частей проростков отмечали развитие каллусной ткани из гипокотелей и корней всех видов лука на питательной среде BDS с добавлением 2 г/л БАП, 1 г/л 2,4 D, 40 г/л сахарозы и 7 г/л агар-агар. Зеленая часть проростков некротировала на питательной среде, развитие каллуса не наблюдали.

При изучении оптимальной концентрации сахарозы в питательной среде BDS с добавлением 2 г/л БАП, 1 г/л 2,4 D выявлено, что пересаженный каллус *Allium cepa* не развивался ни в одном из вариантов опыта. Каллус *Allium*

fistulosum начал развитие на питательной среде с добавлением 80 г/л сахарозы через 2 недели после пересадки на жидкую питательную среду.

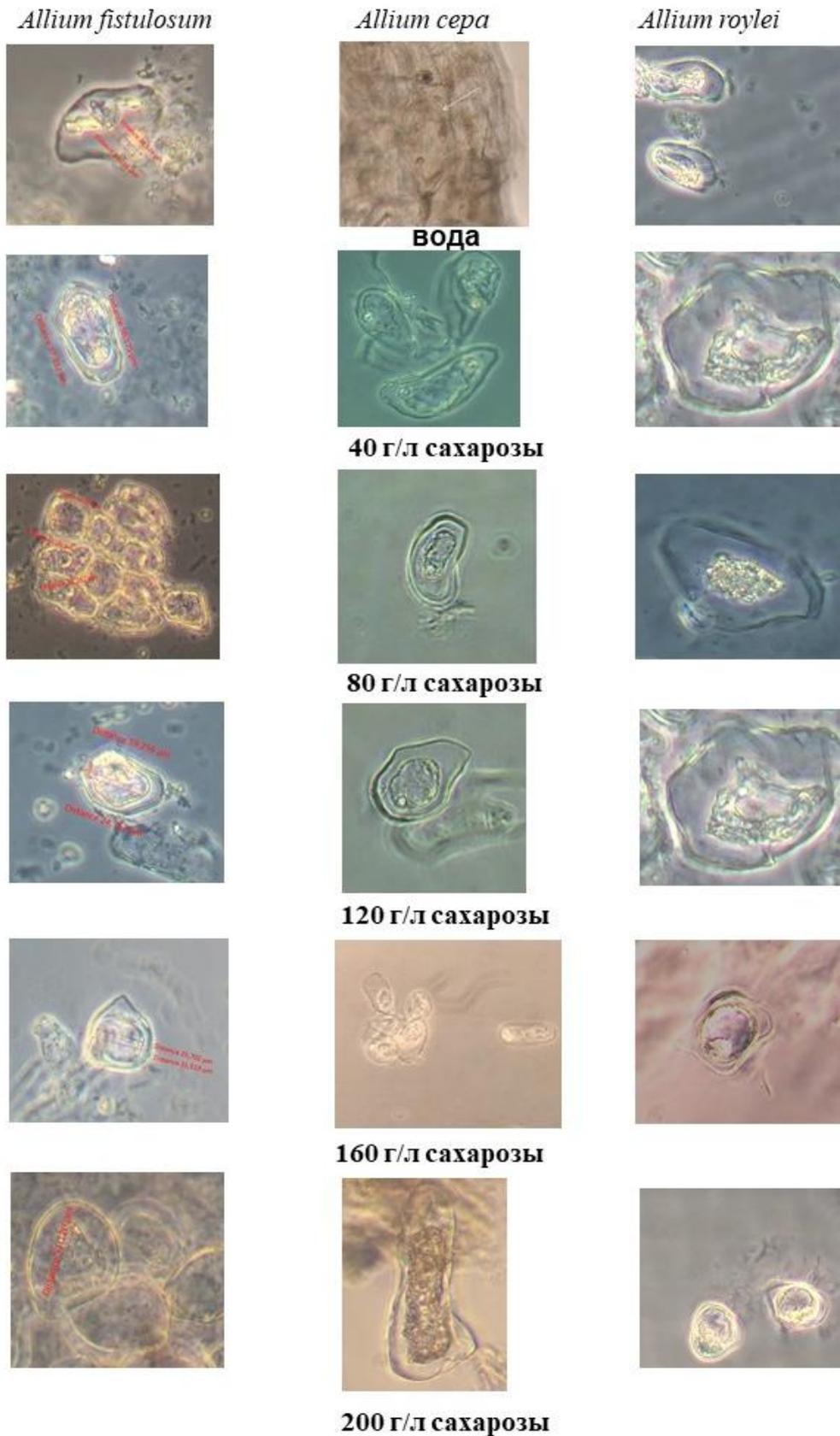


Рис. Плазмолиз в каллусных клетках *Allium fistulosum*, *Allium cepa*, *Allium roylei* при различных концентрациях сахарозы

При исследовании плазмолиза в растворах сахарозы наблюдали разрушение протопластов *Allium fistulosum* в воде, и достаточно равномерный плазмолиз в вариантах с концентрацией сахарозы 40, 80 и 120 г/л, в вариантах опыта с концентрацией сахарозы 160 и 200 г/л наблюдали судорожный плазмолиз, сопровождающийся гибелью клеток (рис.).

Плазмолиз в клетках каллуса *Allium cepa* наименее интенсивно шел в воде (рис. 1), что свидетельствует о низком осмотическом давлении в протопластах. Судорожный плазмолиз в клетках *Allium cepa* наблюдали уже в растворе сахарозы с концентрацией 40 г/л, при более высоких концентрациях он только усиливался.

Клетки каллуса *Allium roylei* имеют высокое осмотическое давление, о чем свидетельствует начало уголкового плазмолиза в растворе сахарозы 160 г/л и разрушение протопласта в следствии избыточного поступления в него воды при более низких концентрациях сахарозы 0 г/л, 40 г/л, 80 г/л, 120 г/л (рис. 1). При концентрации сахарозы 200 г/л наблюдали небольшой равномерный плазмолиз. Из суспензионной культуры *Allium fistulosum* и каллусной культуры *Allium cepa* были выделены протопласты, более 40% которых после центрифугирования была жизнеспособна.

Заключение. При индукции каллуса *Allium fistulosum*, *Allium cepa*, *Allium roylei* лучшим эксплантом из стерильных проростков является гипокотиль. Каллус *Allium fistulosum* был успешно введен в суспензионную культуру, из которой были выделены жизнеспособные протопласты. Из каллуса *Allium cepa* так же получены жизнеспособные протопласты, однако получить устойчиво растущую суспензионную культуру не удалось. У *Allium roylei* была получена суспензионная культура клеток каллуса, выделение протопластов не проводили.

Библиографический список

1. Bradley, P.M. Production of enucleated plant protoplasts of *Allium cepa* P.M. Bradley // Plant Science Letters – 1978. – Vol. 13 – P. 287 – 290
2. Karim, M.A. Cell suspension, isolation and culture of protoplasts of *Allium cepa* / M.A. Karim, T. Adachi // Plant Cell, Tissue and Organ Culture – 1997. – Vol. 51 – P. 43-47
3. Masahito, S. Production of Somatic Hybrid Plants between Japanese Bunching Onion (*Allium fistulosum* L.) and Bulb Onion (*A. cepa* L.) via Electrofusion / S. Masahito, H. Takashi, T. Motonori, Y. Yoshimasa // Journal of the Japanese Society for Horticultural Science – 2002. – Vol. 71 – P. 623-631

УДК 635.92

ПЕРСПЕКТИВНЫЕ СОРТА ХЕНОМЕЛЕСА (CHAENOMELES LINDL.) ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В ОЗЕЛЕНЕНИИ МОСКОВСКОЙ ОБЛАСТИ

Локонова Анна Алексеевна, аспирант кафедры декоративного садоводства и газоноведения, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, annalokonova@gmail.com