

УДК 631.533:582.572.226

**ВВЕДЕНИЕ В КУЛЬТУРУ *IN VITRO* *LILIUM PILOSIUSCULUM* (FREYN) MISCZ.
И *LILIUM PUMILUM* DELILE****Лю Си¹, Татьяна Николаевна Беляева²**¹ Национальный исследовательский Томский государственный университет
634050, Россия, г. Томск, пр. Ленина, 36² Сибирский ботанический сад Томского государственного университета
634050, Россия, г. Томск, пр. Ленина, 34/1
E-mail: naos39429@gmail.com, tnbel17@yandex.ru

Показана возможность применения методов биотехнологии для сохранения и воспроизводства *Lilium pilosiusculum* (Freyn) Mischz. (лилии саранка) и *Lilium pumilum* Delile, (лилии карликовой). Целью данного исследования является оптимизация технологии выращивания *in vitro* 2 видов лилий для ускорения онтогенеза и получения массового посадочного материала для интродукции и реинтродукции растений. В качестве первичных эксплантов при введении видов в культуру *in vitro* использовались семена, полученные с экземпляров, выращиваемых на экспозиции декоративных растений Сибирского ботанического сада Томского государственного университета. Наиболее высокие показатели морфометрических параметров растений *Lilium pilosiusculum* (линейные размеры и число листьев, корней, число микролуковичек) получены при использовании модифицированной питательной среды Мурасиге-Скуга, дополненной: 6-бензиламинопурином (6-БАП) в концентрации 0,4 мг/л; кинетином (КИН) – 1 мг/л и индол-3-уксусной кислотой (ИУК) – 0,1 мг/л. Низкую вариабельность имели линейные параметры микролуковичек. У *Lilium pumilum* наибольшее число корней и листьев образовывалось при использовании регуляторов роста, однако наиболее крупные микролуковички и листья формировались при применении безгормональной питательной среды. Растения высаживали в стерильные субстраты, а затем в стаканчики, заполненные питательной смесью, для последующего доращивания и посадки в открытый грунт.

Ключевые слова: *Lilium*; сохранение биоразнообразия; семена; культура *in vitro*; доращивание *ex vitro*

Введение

В современных условиях особую роль приобретают подходы и методы, направленные на сохранение биологического разнообразия. Для сохранения редких и исчезающих видов растений применяются как традиционные способы охраны (содержание видов в заказниках и заповедниках, семенных банках, условиях интродукции *ex situ*), так и биотехнологические методы. Для введения различных видов растений в культуру *in vitro* в качестве эксплантов используют надземные и подземные органы, а также семена. Использование семян растений в качестве первичных эксплантов позволяет сохранить естественные популяции растений без причинения ущерба материнским растениям-донорам, особенно находящимся на северной границе ареала. Успешное использование методов культуры ткани описано для размножения некоторых сибирских видов лилий [8, 9, 11]. Индукцию образования лукович, по литературным данным, у лилий вызывают введением в питательную среду ауксинов и цитокининов, причем содержание цитокинов должно превышать содержание ауксинов [8].

Lilium pilosiusculum (Freyn) Mischz., лилия саранка – сибирско-центральноазиатский вид с дизъюнктивным ареалом [2]. Растет в хвойных и смешанных лесах, березовых рощах, горных лесах, на лесных полянах, разнотравных и субальпийских лугах [1]. В Томской области находится на северной границе ареала [7]. Мезофит, сциогелиофит [12].

Lilium pumilum Delile, лилия карликовая – восточноазиатский вид. На территории России встречается в Средней и Восточной Сибири, на Дальнем Востоке, где произрастает в составе остепненных лугов, луговых степей, на сухих каменистых и щебнистых склонах, осыпях, в зарослях кустарников [1]. Ксерофит, гелиофит [12].

L. pilosiusculum и *L. pumilum* являются ценными декоративными растениями для озеленения и селекции; имеют большой потенциал как источники для создания новых лекарственных препаратов [13, 14].

На территории Сибири численность популяций видов заметно сокращается в результате воздействия антропогенных факторов и нарушения местообитаний [3], а также сбора на букеты. Виды занесены в ряд региональных сибирских Красных книг и культивируются в 6 ботанических садах на территории Сибири [5].

В условиях культуры *L. pilosiusculum* вступает в генеративный период на пятом – седьмом годах жизни, в природных условиях продолжительность прегенеративного периода удлиняется на неопределенное время, исчисляемое десятками лет [3, 8].

Целью данного исследования является оптимизация технологии выращивания *in vitro* *L. pilosiusculum* и *L. pumilum* из семян для ускорения онтогенеза и получения массового посадочного материала для интродукции и реинтродукции видов.

Объекты и методы исследований

Исследование проводилось в 2024-2025 гг. в Сибирском ботаническом саду Томского государственного университета (СибБС ТГУ) в лаборатории биотехнологии.

Объектом исследования были растения *L. pilosiusculum* и *L. pumilum*, привлеченные в культуру из окрестностей г. Томска (нп. Аникино) и Республики Хакасия (окрестности оз. Белё). В настоящее время растения выращиваются на экспозициях редких и декоративных растений СибБС ТГУ.

L. pilosiusculum (рис. 1А) представляет собой многолетнее поликарпическое луковичное растение 50-120 см высотой. Стебель шероховатый от коротких волосков. Листья линейно-ланцетные, ланцетные, в средней части стебля ложномутовчатые, 6-10 см длиной, 0,7-2 см шириной, заостренные, к основанию суженные, по краям с хрящеватыми зубчиками. Цветки крупные, сиреневые, крапчатые (рис. 1В), чалмовидные, собраны в кистевидные соцветия, с ланцетными паутиноистопушенными прицветниками. Плод – шестигранная коробочка.

L. pumilum (рис. 1С) – многолетнее травянистое луковичное растение с одиночными, густо облиственными в средней части побегами до 15-60 см высотой. Луковица плотная, белая, удлинённо-яйцевидная. Листья линейные, многочисленные, очередные, 4-10 см длиной, 0,2-0,7 мм шириной. Цветки ярко-красные, без пятен (рис. 1D), до 3-4 см в диаметре, одиночные либо собраны в верхушечное кистевидное соцветие (до 7 цветков), чалмовидные. Плоды – продолговато-овальные коробочки.

Семена собирали в августе 2023 г. Их посев на питательные среды проводили в апреле 2024 г.

Стерилизацию семян осуществляли ступенчато: с применением 70% этанола (1 и 2 минутные экспозиции) и 3% раствора перекиси водорода (15 и 10 минут) с последующей промывкой дистиллированной водой 2–3 раза (5 минут).

Семена *L. pilosiusculum* помещали на фильтровальную бумагу для удаления излишка воды и затем высевали на модифицированную питательную среду Мурасиге – Скуга (МС): 1) без добавления регуляторов роста, контроль; 2) дополненную 6-бензиламинопурином (6-БАП) в концентрации 0,4 мг/л; 3) 6-БАП в концентрации 1 мг/л; 4) 1 мг/л кинетина (КИН) и 0,1 мг/л индол-3-уксусной кислотой (ИУК). Семена *L. pumilum* высевали на безгормональную питательную среду, а также 2-й и 4-й варианты эксперимента. Культивирование семян и проростков осуществляли при

температуре 20-23°C и интенсивности освещения 3000 лк и 16-часовом фотопериоде.

Растения высаживали в вермикулит, а затем в стаканчики, заполненные питательной смесью, состоящей из торфа, песка, дерновой земли и биогумуса (1:1:1:1) для последующего доращивания в теплице и посадки в открытый грунт, которую осуществляли на участке в полутени. Приживаемость растений составила 100%.

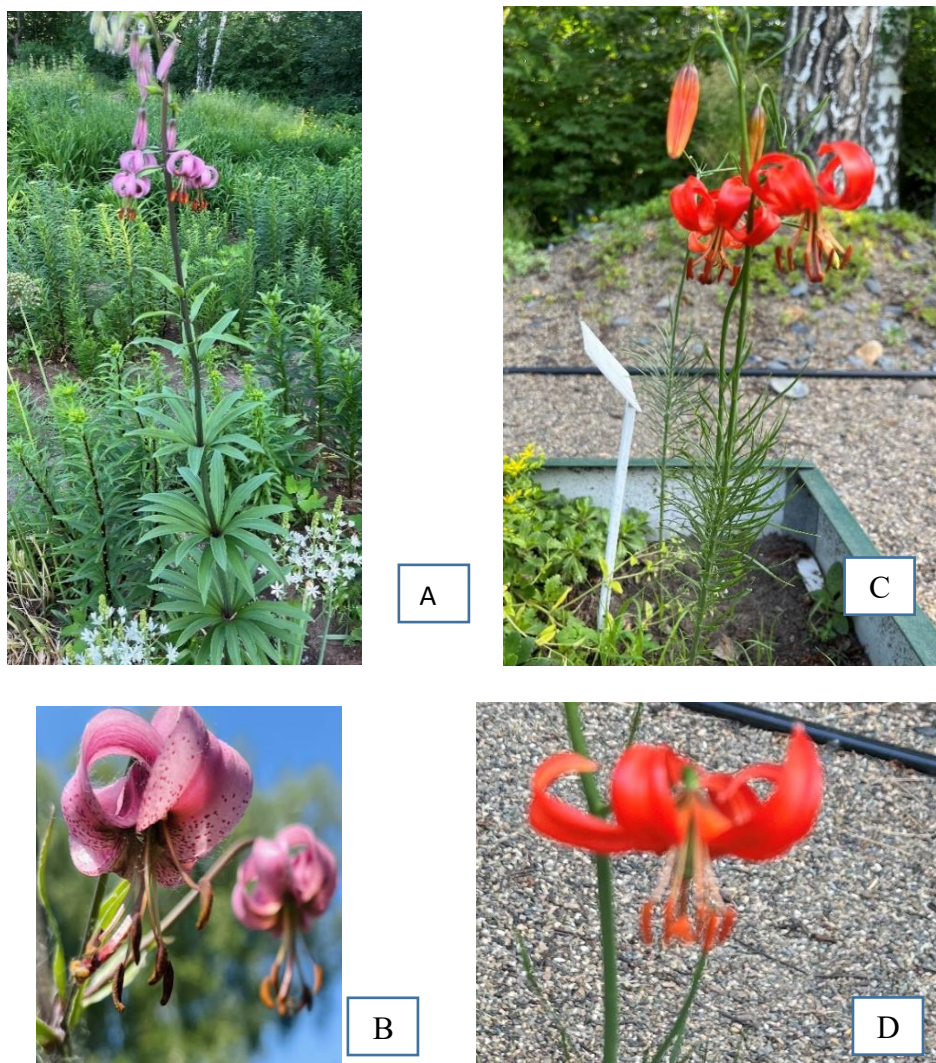


Рис. 1 *Lilium pilosiusculum* (Freyn) Misch. u *Lilium pumilum* Delile на экспозиции декоративных растений СибБС ТГУ
(А – общий вид *Lilium pilosiusculum* (Freyn) Misch. в фенофазу цветения, В – цветки *Lilium pilosiusculum* (Freyn) Misch., С – *Lilium pumilum* Delile, D – цветки *Lilium pumilum* Delile)

Результаты измерений линейных размеров и числа корней, листьев и луковиц обрабатывали с использованием программы Statistica 8.0. Определяли следующие показатели: М (Mean) – среднюю арифметическую; m (SE) – ошибку средней арифметической, σ – стандартное отклонение, CV – коэффициент вариации, Min–Max – минимальное и максимальное значение. Уровни варьирования приняты по Г. Н. Зайцеву [6]: CV > 20% – высокий, CV = 11-20% – средний, CV < 10% – низкий. Для определения статистической значимости различий применяли t-критерий Стьюдента для независимых выборок при уровне значимости $p < 0,05$ [4].

Результаты и обсуждение

В условиях интродукции в СибБС ТГУ *L. pilosiusculum* и *L. pumilum* регулярно цветут и плодоносят.

Семена *L. pilosiusculum* неправильной округло-треугольной формы с округлыми краями и пленчатым крылом, в среднем 7,4 мм длиной и 5,4 мм шириной, с эндоспермом, буровато-коричневые (табл. 1, рис. 2А). Семена *L. pumilum* – в среднем 5,1 мм длиной и 4,1 мм шириной. Исследованные биометрические параметры семян характеризуются низким уровнем изменчивости (4,4-7,0%).



Рис. 2 Семена *Lilium pilosiusculum* (Freyn) Misch. (A) и *Lilium pumilum* Delile (B)

Лабораторная всхожесть семян *L. pilosiusculum* при проращивании на свету через 7 месяцев после сбора в лабораторных условиях при температуре 22°C составляла в среднем 90%. Семена вида характеризуются подземным типом прорастания [10]. Лабораторная всхожесть семян *L. pumilum* составляет 98%, прорастание быстрое, дружное. Для вида характерен надземный тип прорастания семян [10], что отличает его от *L. pilosiusculum*.

Таблица 1

Морфометрические характеристики семян *Lilium pilosiusculum* (Freyn) Misch. и *Lilium pumilum* Delile

Название вида	Длина семени, мм			Ширина семени, мм		
	Min – Max	$X \pm m$	CV, %	Min – Max	$X \pm m$	CV, %
<i>Lilium pilosiusculum</i> (Freyn) Misch.	6,6-8,0	7,4±0,1	6,2	4,7-5,8	5,4±0,09	5,2
<i>Lilium pumilum</i> Delile	4,9-5,5	5,1±0,1	7,0	3,6-4,5	4,1±0,05	4,4

Примечание: Min – минимальное значение, Max – максимальное значение, X – среднее арифметическое значение, m – ошибка средней арифметической, CV, % – коэффициент вариации.

Наличие у видов регулярного семенного возобновления позволило использовать в качестве исходных эксплантов семена растений, т.к. данный подход позволяет минимизировать воздействие на природные популяции и посадки растений в коллекционных питомниках. При посеве на питательных средах МС всхожесть семян *L. pilosiusculum* составила 26,5-39,9%. Наиболее высокая всхожесть отмечена при использовании среды МС с добавлением 6-БАП в концентрации 0,4 мг/л. Всхожесть семян *L. pumilum* – в среднем 62,6%.

При размножении *in vitro* *L. pilosiusculum* через 10,5 месяцев после посева семян на питательную среду МС наиболее высокие показатели морфометрических параметров растений (линейные размеры и число листьев, корней, число

микролуковичек) получены при использовании 2-го и 4-го вариантов культивирования (таблица). Данные составы обеспечивают прямой органогенез (без каллусной фазы) с высокой частотой пролиферации (до $14,3 \pm 2,5$ луковиц на эксплант). При этом, низкую и среднюю вариабельность имели линейные параметры микролуковичек (CV составлял 9,1-14,9%). Остальные признаки характеризовались высокой изменчивостью (CV составлял 25,3-54,3%).

Таблица 2
Морфометрические параметры надземной и подземной части *Lilium pilosiusculum* (Freyn) Miscz. на различных вариантах питательных сред при размножении *in vitro* в Сибирском ботаническом саду

Параметры	Варианты опыта		
	1 мг/л КИН + 0,1 мг/л ИУК	6-БАП 0,4 мг/л	6-БАП 1 мг/л
Длина корня, см	$1,4^a \pm 0,3$	$3,0^b \pm 0,4$	$1,9^a \pm 0,1$
Число корней, шт.	$23,3^a \pm 3,0$	$19,7^a \pm 2,4$	$10,5^b \pm 1,9$
Диаметр микролуковички, см	$1,8^a \pm 0,1$	$2,0^a \pm 0,1$	$1,5^b \pm 0,09$
Число микролуковичек, шт.	$14,3^a \pm 2,4$	$13,8^a \pm 4,0$	$9,8^b \pm 1,0$
Длина листа, см	$4,5^a \pm 0,4$	$6,2^b \pm 0,6$	$4,0^b \pm 0,2$
Ширина листа, см	$0,5^a \pm 0,1$	$0,6^b \pm 0,1$	$0,4^a \pm 0,1$

Примечание: В таблице приведены средние значения \pm ошибка средней арифметической. Буквы ^a и ^b обозначают статистически значимые различия при уровне значимости $p < 0,05$

Максимальная длина листьев ($6,2 \pm 0,6$ мм) и корней ($3,0 \pm 0,4$ мм) отмечены при использовании 6-БАП в концентрации 0,4 мг/л. Г.В. Филлипова и др. [11], изучавшие размножение *in vitro* *L. pensylvanicum*, также определили, что для развития растений эффективно использование среды, содержащей 6-БАП в концентрации 0,4 мг/л.



Рис. 3 Этапы размножения *in vitro* *Lilium pilosiusculum* (Freyn) Miscz.:
А – посев семян на питательную среду; В – развитие эксплантов на питательной среде MS;
С – посадка растений в питательные субстраты для последующего доращивания

Длительный цикл культивирования (10,5 месяцев) эксплантов требует создания асептических условий для предотвращения микробиологической контаминации в дальнейшем, вероятно, путем внесения антимикробных добавок (например, активированного угля). Однако наиболее высокие показатели числа корней (23,3) установлены в варианте с применением среды, содержащей 1 мг/л КИН + 0,1 мг/л ИУК, что подтверждает литературные данные о синергетическом (аддитивном) эффекте

указанных регуляторов роста при их совместном применении, стимулирующим ризогенез, полученные для других видов лилий с компактной корневой системой [15].

Таблица 3

Морфометрические параметры надземной и подземной части *Lilium pumilum* Delile на различных вариантах питательных сред при размножении *in vitro* в Сибирском ботаническом саду

Параметры	Варианты опыта		
	контроль	6-БАП 0,4 мг/л	1 мг/л КИН + 0,1 мг/л ИУК
Длина корня, см	2,8 ^a ±0,1	0,5 ^b ±0,09	2,5 ^a ±0,1
Число корней, шт.	4,5 ^a ±0,2	10,0 ^b ±1,5	8,0 ^b ±0,6
Диаметр микролуковички, см	0,7 ^a ±0,02	0,4 ^b ±0,01	0,5 ^b ±0,01
Число микролуковичек, шт.	1	1	1
Длина листа, см	11,0 ^a ±0,3	4,9 ^b ±0,3	7,8 ^c ±0,7
Ширина листа, см	0,2 ^a ±0,01	0,15 ^a ±0,01	0,15 ^a ±0,01

Примечание: В таблице приведены средние значения ± ошибка средней арифметической. Буквы ^a, ^b, ^c обозначают статистически значимые различия при уровне значимости $p < 0,05$

В отличие от *L. pilosiusculum*, *L. pumilum* демонстрировала ускоренное развитие растений. Семена начинали прорастать через 16 дней после посева на питательные среды.

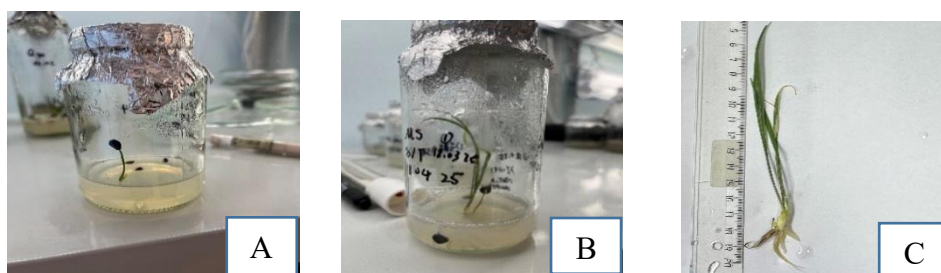


Рис. 4 Этапы размножения *in vitro* *Lilium pumilum* Delile.

А – посев семян на питательную среду; В, С – развитие эксплантов на питательной среде.

Через 3 месяца растения (рис. 4) высаживались в питательные субстраты для последующего доращивания (рис. 5).



Рис. 5 Посадка растений *Lilium pumilum* Delile в питательные субстраты для последующего доращивания

Среди изученных вариантов наибольшее число корней образовывалось при использовании среды МС, содержащей регуляторы роста, наибольшее число листьев – в варианте с применением среды МС, дополненной 1 мг/л КИН + 0,1 мг/л ИУК. На безгормональной питательной среде семена прорастали быстрее, также отмечены наиболее крупные листья и микролуковички (0,7 см диаметром против 0,4-0,5 см в других вариантах). Во всех вариантах образовывались растения с одной луковичкой.

Выводы

На основе проведенных исследований установлено, что использование 70% раствора этанола и 3% раствора перекиси водорода оказалось эффективным методом стерилизации семян *L. pilosiusculum* и *L. pumilum*. Наилучшими для образования микролуковичек *L. pilosiusculum* являются варианты питательной среды МС с добавлением 6-БАП в концентрации 0,4 мг/л, а также содержащие КИН (1 мг/л) и ИУК (0,1 мг/л). У *L. pumilum* наибольшее число корней и листьев образовывалось при использовании среды МС с регуляторами роста, при этом наиболее крупные микролуковички и листья формировались на безгормональной питательной среде.

Разработанная методика применима для массового размножения *L. pilosiusculum* и *L. pumilum in vitro*, что имеет важное значение для сохранения биоразнообразия видов, их интродукции и реинтродукции. Методика, вероятно, может быть адаптирована для других видов рода *Lilium* L.

Благодарность

Исследование выполнено в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (проект № FSWM-2024-0006).

Список литературы

1. Власова Н. В. *Lilium* L. – Лилия // Флора Сибири, 1987. – Том 4. – С. 96-99.
2. Галанин А.В., Беликович А.В., Храпко О.В. Флора Даурии. – Владивосток: Дальнаука, 2008. – Том 1. – 184 с.
3. Данилова Н.С. Луковичные геофиты в культуре. – Якутск, 1999. – 118 с.
4. Жукова А.А., Минец М.Л. Биометрия: пособие: в 3 ч. Ч. 2: Основные техники анализа данных. – Минск: БГУ, 2020. – 151 с.
5. Интродукция растений природной флоры Сибири. – Новосибирск: Академическое изд-во «Гео», 2017. – 495 с.
6. Зайцев Г.М. Математическая статистика в экспериментальной ботанике. – М.: Наука, 1984. – 424 с.
7. Зверев А.А. *Lilium* L. – Лилия. Определитель Томской области. – Томск: Изд-во Томского госуниверситета, 2014. – С. 338.
8. Набиева А. Ю., Дорогина О.В. Введение в культуру *in vitro Lilium martagon* L. subsp. *pilosiusculum* (Freyn) Pjŋin ex B. Fedtsch. с помощью спелых и неспелых семян // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2008. – № 8. – С. 12-15.
9. Набиева А.Ю. Размножение в культуре *in vitro Lilium cernuum* Kom., *Lilium distichum* Nakai и *Lilium pumilum* Delile при использовании эксплантов тканей и органов цветка // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 6. – [Электронный ресурс] – URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=23357> (дата обращения: 14.06.2025).
10. Сорокопудова О.А. Лилии в культуре. – М.: Изд-во ФГБНУ ВСТИСП. – Саратов: Амирит, 2019. – 186 с.

11. Филиппова Г.В., Дарханова В.Г., Строева Н.С., Николаева О.А., Андросова Д.Н. Размножение *in vitro*, рост и развитие *ex situ* редкого вида *Lilium pensylvanicum* Ker.-Gawl. (Liliaceae) // Вестн. Моск. ун-та. Сер. Биология. – 2020. – Т. 75, № 2. – С. 87-92.
12. Belaeva T.N., Si L., Butenkova A.N., Prokopyev A.S. Anatomy of leaves of Siberian species of the genus *Lilium* in conditions of Western Siberia forest zone // Acta Biologica Sibirica. – 2024. – Vol. 10. – P. 1573-1588. DOI: 10.5281/10.5281/zenodo.14329047
13. Bokov D.O., Luferov A.N., Krasnyuk I.I., Bessonov V.V. Ethno-pharmacological review on the wild edible medicinal plant, *Lilium martagon* L. // Journal of Pharmaceutical Research. – 2019. – Vol. 18, No 7. – P. 1559-1564. DOI: 10.4314/tjpr.v18i7.29
14. Mahmood K. Compositions comprising *Lilium martagon* extracts and uses thereof. United States Patent. 2016; 9492492 Patent and Trademark Office. US-9492492-B2.
15. Tribulato A., Remotti P.C., Löffler H.J.M., van Tuyl J.M. Somatic embryogenesis and plant regeneration in *Lilium longiflorum* Thunb. // Plant Cell Reports. – 1997. – Vol. 17, No 2. – P. 113-118. DOI: 10.1007/s002990050362.

Статья поступила в редакцию 12.11.2025 г.

Liu Xi, Belyaeva T.N. Introduction to *in vitro* culture of *Lilium pilosiusculum* (Freyn) Misch. and *L. pumilum* Delile // Bull. of the State Nikita Botan. Gard. – 2026. – № 158. – P. 29-36

The possibility of using biotechnology methods for the conservation and reproduction of *Lilium pilosiusculum* (Freyn) Misch. (lily saranka) and *L. pumilum* Delile (dwarf lily) is shown. The aim of this study was the optimization of *in vitro* cultivation technology of two lily species to accelerate ontogenesis and obtain mass planting material for the introduction and reintroduction of plants. Seeds of plants obtained from specimens grown at the exposition of ornamental plants of the Siberian Botanical Garden of Tomsk State University were used as primary explants when introducing species into *in vitro* culture. The highest values of morphometric parameters of *L. pilosiusculum* plants (linear dimensions and number of leaves, roots, number of microbulbs) were obtained in the modified MS medium supplemented with 6-benzylaminopurine (6-BAP) at a concentration of 0.4 mg/l: and 1 mg/l kinetin (KIN) + 0.1 mg/l indole-3-acetic acid (IAA). Linear parameters of microbulbs had low variability. In *L. pumilum*, the greatest number of roots and leaves was formed with growth regulators, but the largest microbulbs and leaves were formed on the hormone-free medium. The plants were planted in sterile substrates, and then in cups filled with a nutrient mixture for subsequent growing and planting in open ground.

Key words: *Lilium*; conservation of biodiversity; seeds; *in vitro* culture; *ex vitro* growing