



УДК 57.0852

## ДЕЙСТВИЕ РЕГУЛЯТОРОВ РОСТА НА РАЗМНОЖЕНИЕ ДЕКОРАТИВНЫХ ЛУКОВ ПОДРОДА *MELANOCROMMYUM* В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO*

**Т.В. Полубоярова,  
Т.И. Новикова**

Центральный Сибирский  
Ботанический Сад Сибирское  
Отделение Российской  
Академии Наук, 630090  
г. Новосибирск,  
ул. Золотодолинская 101

E-mail: tanita11@mail.ru

Исследовали действие регуляторов роста (БАП, КН, ТП) на индукцию регенерации побегов 6 декоративных эндемичных видов луков из подрода *Melanocrommyum*. В качестве эксплантов использовали четвертинки луковиц, содержащих часть донца и почки возобновления. Наилучшие результаты получены для *A. aflatunense* и *A. karataviense* на индукционной среде BDS, содержащей 4.8 мг/л ТП. Установлено, что скорость размножения зависит от генотипа растений и используемых регуляторов роста.

Ключевые слова: подрод *Melanocrommyum*, декоративные эндемичные луки, культура *in vitro*, регуляторы роста.

### Введение

Декоративные луки рода *Allium* L. подрода *Melanocrommyum* являются высоко востребованными культурами в ландшафтном озеленении и флористике. Неприхотливость в уходе, засухо- и морозоустойчивость, раннее цветение, разнообразие окрасок, форм и размеров соцветий способствуют их использованию в альпинариях, рокариях, каменистых садах, групповых посадках и бордюрах. Многие представители подрода являются эндемиками Средней Азии и нуждаются в сохранении *ex situ* [1,2]. Как большинство геофитов, эфемероидные виды подрода *Melanocrommyum* отличаются низкой природной способностью к воспроизведению и являются объектами технологий размножения *in vitro* [10]. Чаще всего биотехнологические подходы применяются для размножения экономически важных пищевых видов луков. В качестве эксплантов для введения в культуру *in vitro* используют различные части луковиц, незрелые соцветия и бутоны, семена. Разработки технологий микроразмножения дикорастущих декоративных видов луков немногочисленны [1,2,12].

Целью настоящей работы является исследование морфогенной реакции эксплантов, изолированных из луковиц шести видов декоративных луков подрода *Melanocrommyum* в культуре *in vitro* под воздействием регуляторов роста.

### Материалы и методы

В качестве объектов исследования использовали виды *Allium aflatunense* B.Fedtsch, *A. altissimum* Regel, *A. decipiens* Fisch. ex Schult, *A. karataviense* Regel, *A. schubertii* Zucc., *A. sewerzowii* Regel, произрастающие на коллекционных участках лабораторий Гербарий и лекарственных растений ЦСБС СО РАН. Отобранные луковицы растений, находящихся в генеративном состоянии, хранили в течение трех месяцев при температуре +5°C. Затем их тщательно отмывали в проточной воде с использованием щетки и Domestos, освобождали от наружной чешуи. Так как степень контаминации луковиц очень высока, было разработано несколько способов стерилизации (табл. 1). После стерилизации луковицы 4-5 раз промывали в стерильной дистиллированной воде по 15 мин и освобождали от наружных запасующих чешуй. Луковички делили на четыре части, каждая из которых содержала почку возобновления, кусочек донца и запасующую чешую. Экспланты помещали на питательные среды Данстена и Шорта (BDS) [4], дополненные регуляторами роста: триапентином (ТП), 6-бензиламинопурином (БАП), кинетином (КН) в различных концентрациях. Для дифференциации использовали среду BDS, дополненную 1мг/л ТП, для



укоренения – BDS, содержащую 50 г/л сахарозы, 2 г/л активированного угля и 1 мг/л индолилмасляной кислоты (ИМК). Условия культивирования: 25±1°С при 16/8 фото-периоде и освещении холодно-белыми флуоресцентными лампами 4000 лк. Опыты проводили в пятикратной повторности.

Таблица 1

**Влияние способа стерилизации на жизнеспособность эксплантов  
*A. altissimum*, n=10**

Стерилизующий раствор	Концентрация	Экспозиция	Доля эксплантов, %	
			инфицированных	жизнеспособных
Этиловый спирт Сулема	70% 0,2%	40-50 сек 20-25 мин	47%	53%
Перекись водорода Сулема	30% 0,2%	7-10 мин 10-15 мин	93%	7%
Перманганат калия Этиловый спирт Сулема	2% 70% 0,2%	30 мин 40-50 сек 20-25 мин	3%	97%

**Результаты и обсуждение**

Хранение лукович в течение трех месяцев при пониженной температуре позволило преодолеть летний покой, который характерен для луков после цветения [3].

Разработанные нами схемы ступенчатой стерилизации на модельном виде *A. altissimum* показали различный выход стерильных эксплантов (табл. 1). Наиболее эффективным оказался способ с использованием растворов перманганата калия, спирта и сулемы (97% стерильных эксплантов). Эту схему использовали для стерилизации лукович всех изучаемых видов.

При культивировании в течение двух недель на поверхности срезов у некоторых эксплантов наблюдали интенсивное деление клеток и образование неморфогенной рыхлой каллусной ткани. Каллус формировался у эксплантов *A. altissimum*, *A. decipiens*, *A. schubertii*, *A. sewerzowii* на среде BDS, дополненной 4,8 мг/л ТП. В то время как у *A. karataviense* и *A. aflatunense* под воздействием этого же регулятора роста наблюдалась максимальная регенерация побегов (3,6 шт. и 2,8 шт. соответственно), минуя стадию каллусообразования (табл. 2). КН в концентрации 1 мг/л вызывал каллусообразование у *A. sewerzowii* и *A. karataviense*, увеличение концентрации этого цитокинина до 2 мг/л стимулировало прямой органогенез побегов (геммогенез) у всех исследуемых видов. При использовании БАП в концентрации 3 мг/л слабый морфогенный ответ наблюдали только у *A. decipiens* (рис.1,б). У всех исследуемых видов лука отмечено образование почек на среде BDS, дополненной 2 мг/л КН (табл. 2, рис. 1, а, г).

Полученные данные показывают видоспецифичность морфогенетической реакции эксплантов на действие регуляторов роста (табл.2, рис.1). Успешность использования цитокининов без добавления ауксинов для стимуляции побегообразования, показана в ряде работ по клональному микроразмножению представителей рода *Allium* [5]. Из двух используемых нами цитокининов, наиболее эффективным оказался КН в концентрации 2 мг/л, что согласуется с данными, полученными при размножении *in vitro* *A. cepa*, *A. tuberosum*, *A. ampeloprasum* [6,8,9,11]. Интересные результаты получены при изучении действия 4.8 мг/л ТП на индукцию побегов: у ряда видов (*A. schubertii*, *A. sewerzowii*, *A. decipiens*, *A. altissimum*) наблюдали образование каллуса, в то время как у *A. aflatunense* и *A. karataviense* показана стимуляция способности к прямой регенерации путем геммогенеза. ТП, являющийся ретардантом, используют в технологиях микроразмножения для лучшей адаптации микроклонов *ex vitro* [7]. Эффективность этого соединения для стимуляции регенерации побегов из частей лукович, содержащих кусочки донца и почек возобновления, нами выявлена впервые. Важно заметить, что на запасающих чешуях изучаемых видов, как органов с дифференцированными тканями, образовывался только неморфогенный кал-



лус. Способность к регенерации почек и лукович проявили интенсивно растущие ткани донца и почек возобновления при воздействии определенных регуляторов роста в оптимальной концентрации (табл. 2, рис.1).

Таблица 2

**Влияние регуляторов роста на регенерацию побегов у декоративных видов луков в культуре *in vitro* на среде BDS**

Вид	Регулятор роста	Процент эксплантов формирующих побеги	Количество побегов на эксплант
<i>A. aflatumense</i>	1 мг/л КН	80	1±0.32
	2 мг/л КН	60	1±0.45
	3 мг/л БАП	0	-
	4.8 мг/л ТП	100	2.8±0.37
<i>A. altissimum</i>	1 мг/л КН	60	1±0.45
	2 мг/л КН	100	2.6±0.51
	3 мг/л БАП	0	-
	4.8 мг/л ТП	0	*
<i>A. decipiens</i>	1 мг/л КН	80	1.2±0.37
	2 мг/л КН	80	2±0.71
	3 мг/л БАП	80	0.8±0.39
	4.8 мг/л ТП	0	*
<i>A. karata-viense</i>	1 мг/л КН	0	*
	2 мг/л КН	100	3±0.32
	3 мг/л БАП	0	-
	4.8 мг/л ТП	100	3.6±2.44
<i>A. schubertii</i>	1 мг/л КН	80	1±0.32
	2 мг/л КН	80	1±0.32
	3 мг/л БАП	0	-
	4.8 мг/л ТП	0	*
<i>A sewerzowii</i>	1 мг/л КН	0	*
	2 мг/л КН	60	1±0.45
	3 мг/л БАП	0	-
	4.8 мг/л ТП	0	*

- отсутствие морфогенной реакции;

\* образование каллуса.

Для дифференциации побегов концентрацию ТП в среде BDS снижали до 1 мг/л. Через 4-5 недель культивирования, побеги пересаживали на среду для укоренения, дополненную 50 г/л сахарозы, 2 г/л активированного угля и 1 мг/л ИМК. Повышенное содержание сахарозы способствовало формированию крупных луковичек, которые отделяли через 4-5 недель (рис. 1, д, е). Попытки использования части луковичек как источников эксплантов для следующего цикла микроразмножения не оказались успешными, поскольку, как и в природных условиях, так и в культуре *in vitro*, после формирования луковички впадают в покой. Хранение лукович в стерильных условиях при пониженных температурах (5°C) в течение 2 мес. позволяет преодолеть покой и использовать их в следующем цикле микроразмножения.

Часть луковичек переносили в условия *ex vitro*, используя в качестве субстрата смесь вермикулита и торфа (1:1). После прохождения покоя в течение двух месяцев при 5°C отмечали отрастание первого листа.

Таким образом, разработанная методика микроразмножения *in vitro* декоративных эндемичных видов луков подрода *Melanocrommyum*, позволяет получить из одной луковички от 3 до 14 луковичек в зависимости от вида за 14-16 недель культивирования, в то время как в природных условиях одна материнская луковичка в среднем за год дает 1-3 луковички-детки.

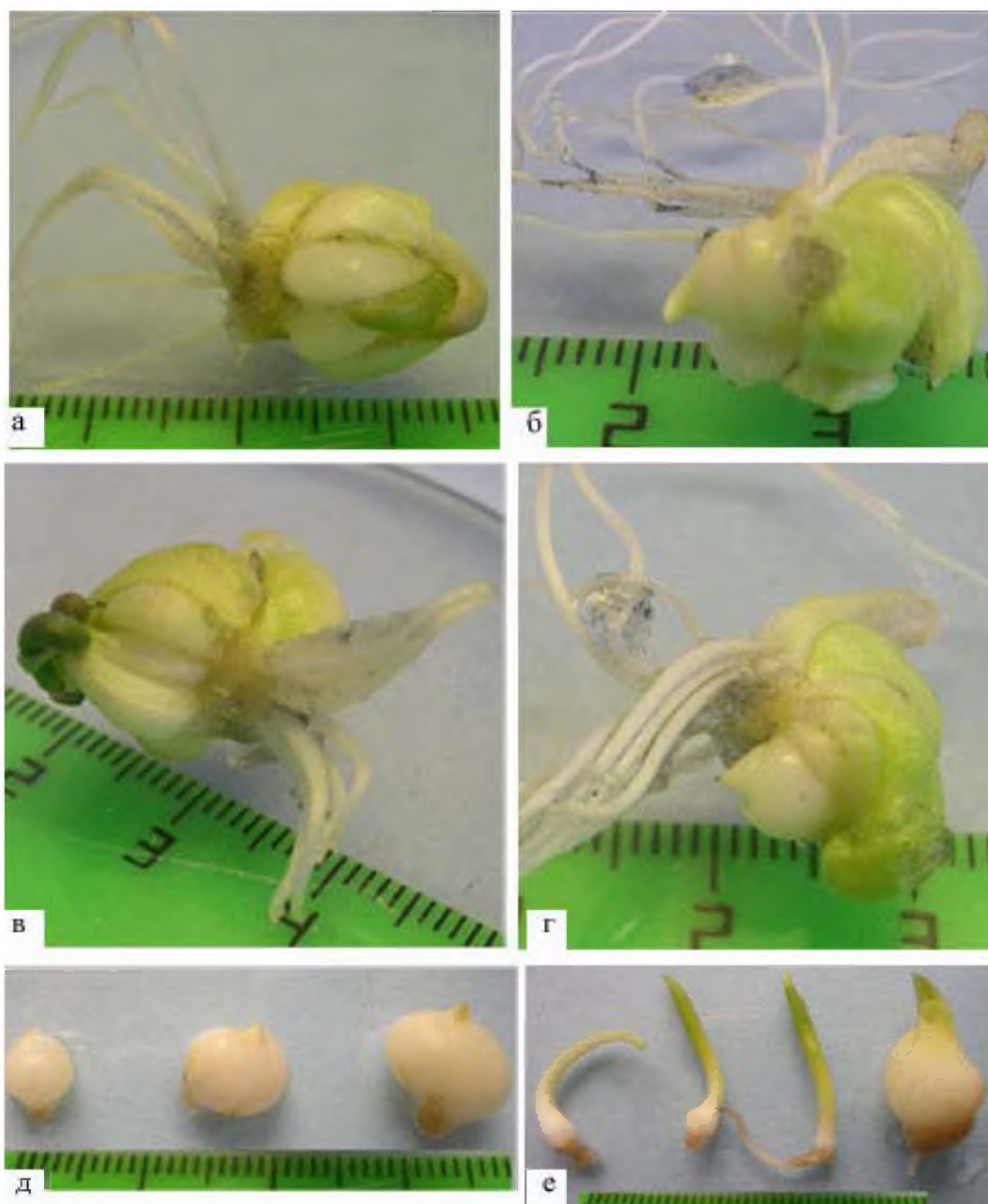


Рис. 1. Микроразмножение декоративных луков *in vitro*: индукция почек а) *A. karataviense*, BDS+ 2 мг/л КН; б) *A. decipiens*, BDS+ 3 мг/л БАП; в) *A. karataviense* BDS+ 4,8 мг/л ТП; г) *A. decipiens*, BDS+ 2 мг/л КН; луковички перед посадкой *ex vitro* д) *A. karataviense*; е) *A. decipiens*

### Заключение

Проведенные исследования выявили видоспецифичность морфогенетического ответа луковичных эксплантов изучаемых объектов на действие регуляторов роста. Из используемых соединений только КН в концентрации 2 мг/л вызывал геммогенез у эксплантов всех изучаемых видов. Наиболее эффективным для стимуляции образования почек у *A. aflatumense* и *A. karataviense* оказался ретардант ТП в концентра-



ции 4.8 мг/л, хотя у других видов ТП способствовал каллусообразованию. Полученные микроклоны пополнили коллекцию *in vitro* редких и эндемичных видов Центрального сибирского ботанического сада СО РАН.

### Список литературы

1. Байтулин И.О., Рахимбаев И.Р., Каменецкая И.И. Интродукция и морфогенез дикорастущих луков Казахстана. – Алма-Ата: Наука Казахской ССР, 1986. – 156 с.
2. Каменецкая И.И., Рахимбаев И.Р. Вегетативное размножение лука каратавского в культуре изолированных тканей// Бюллетень ГБС. – 1984. – Вып. 131. – С. 63-65.
3. Филимонова З.Н. Период летнего покоя у диких луков// Сборник работ аспирантов. Ташкент: Академия наук Узбекской ССР, 1958. – Вып.2. – С. 63-76
4. Dunstan D.I., Short K.C. Shoot production from onion callus tissue culture// *Sci Hortic.* - 1978.- Vol. 9. – P. 99-110.
5. Gantait S., Mandal N., Das P.K. An Overview on *in vitro* Culture of Genus *Allium*// *American Journal of Plant Physiology.* – 2010. – Vol. 5 (6). – P. 325-337
6. Haque M.S., Wada T., Hattori K. Novel method of rapid micropropagation using cyclic bulblet formation from root tip explants in garlic// *Breeding Sci.* – 1998. – Vol. 48. – P. 293-299
7. Hazarika B.N. Acclimatization of tissue-cultured plants// *Curr. Sci.* 2003. Vol. 85. P. 1704-1712.
8. Kahane R., Rancillac M., de la Serve B.T. Long-term multiplication of onion (*Allium cepa* L.) by cyclic shoot regeneration *in vitro*// *Plant Cell Tissue Org. Cult.* – 1992. –Vol. 28. – P. 281-288.
9. Kamstaityte D., Stanys S. Micropropagation of onion (*Allium cepa* L.) // *Acta Univ. Latviensis Biol.* – 2004. – Vo l. 676. P 173-176
10. Kim K.W., De Hertogh A.A. Tissue culture of ornamental flowering geophytes//*Hortic Rev.* – 1997. – Vol. 18. – P. 87-169.
11. Pandey R., Chandel K.P.S., Rao R.S. In vitro propagation of *Allium tuberosum* Rottl. Ex Spreng. by shoot proliferation// *Plant Cell Rep.* – 1992. – Vol. 11. – P. 211-214.
12. Šušek A., Javornik B., Bohanec B. Factors affecting direct organogenesis from flower explants of *Allium giganteum* // *Plant Cell, Tissue and Organ Culture.* – 2002. – Vol. 68. – P. 27-33.

## EFFECT OF PLANT GROWTH REGULATORS ON THE PROPAGATION OF ORNAMENTAL ONIONS FROM SUBGENUS *MELANOCROMMYUM* *IN VITRO* CULTURE

**T.V. Poluboyarova**  
**T.I. Novikova**

*Central Siberian Botanical  
Garden Siberian Branch  
Russian Academy of Sciences,  
Zolotodolinskaya st. 101,  
Novosibirsk, 630090, Russia*

*e-mail: tanita11@mail.ru*

The effect of plant growth regulators 6-benzylaminopurine (BAP), kinetin (KN), triapenthenol (TP) on the induction of shoot regeneration of 6 ornamental endemic species from subgenus *Melanocrommyum* was evaluated. The quarters of bulbs contained the parts of head-rounding and renewal buds were used as explants. The best results were obtained for *A. aflatunense* and *A. karataviense* on BDS induction medium supplemented with 4.8 mg l<sup>-1</sup>TP. The rate of multiplication was found to depend on the plant genotype and plant growth regulators.

Key words: subgenus *Melanocrommyum*, ornamental endemic onions, *in vitro* cultures, plant growth regulators.