

УДК 581.14, 576.32

КУЛЬТИВИРОВАНИЕ IN VITRO ЛУКОВИЧНЫХ РАСТЕНИЙ

Алимбай А.Б., Амирова А.К., Лесова Ж.Т.

Алматинский технологический университет, Алматы,

e-mail: zhaniha_lesova@mail.ru

В данной статье представлены результаты использования методов биотехнологии для размножения луковичных растений Зефирантеса (*Zephyranthes rosea*) и исчезающего вида Рябчика бледноцветкового (*Fritillaria pallidiflora*), занесенного в Красную Книгу Республики Казахстан. В качестве эксплантов использовали отрезки пазушных почек, донца луковицы (видоизмененный стебель) и луковичных чешуй данных растений. Высокий процент стерильности эксплантов (70–80%) был достигнут при использовании дезинфицирующих растворов 0,5% гипохлорита натрия (7 мин) и 70% этанола (5 мин). Показана возможность получения клеточных культур, в том числе каллусов и растений-регенерантов в условиях *in vitro*. Обнаружено, что питательная среда Мурасиге и Скуга с добавлением 10,0 мг/л БАП и 1,0 мг/л НУК является оптимальной для регенерации растений, где частота прямой регенерации растений из отрезков луковой чешуи и из донца луковицы достигала до 3,3% и 100%, соответственно. Установлено, что в культуре *in vitro* луковичных растений удобными эксплантатами для регенерации растений являются отрезки донца луковицы.

Ключевые слова: каллусогенез, регенерация растений, размножение, *in vitro*, декоративные и лекарственные растения

IN VITRO CULTIVATION OF ONION PLANTS

Alymbay A.B., Amirova A.K., Lessova Z.T.

Almaty Technological University, Almaty, e-mail: zhaniha_lesova@mail.ru

This article presents the results of using biotechnology methods for reproduction of onion plants *Zephyranthes rosea* and endangered species *Fritillaria pallidiflora*, listed in the Red Book of the Republic of Kazakhstan. As explants have been used the pieces of axillary buds, bulbs bottom (modified stems) and onion scales of these plants. A high percentage of explants sterility (70–80%) have been achieved using disinfectant solutions of 0.5% sodium hypochlorite (7 min) and 70% ethanol (5 min). The possibility of obtaining *in vitro* cell cultures, including calluses and regenerated plants, has been shown. It was found that the Murashige and Skoog nutrient medium supplemented with 10.0 mg/l BAP and 1.0 mg/l NAA is optimal for plant regeneration, where the frequency of direct plant regeneration from pieces of onion scales and from bulbs bottom achieved up to 3.3% and 100%, subsequently. It was established that convenient explants for plant regeneration *in vitro* culture of onion plants are pieces of bulbs bottom.

Keywords: callusogenesis, plant regeneration, reproduction, *in vitro*, ornamental and medicinal plants

Луковичные растения – красивоцветущие декоративные растения, которые издавна использовались для озеленения. К наиболее популярным декоративным растениям формирующим луковицы относятся тюльпаны, нарциссы, лилии, рябчик и др. В данной статье мы рассматриваем введение в культуру *in vitro* двух видов луковичных растений – Рябчик бледноцветковый и Зефирантес.

Рябчик бледноцветковый (*Fritillaria pallidiflora*) относится к семейству *Liliaceae*, достаточно высокорослый азиатский вид, достигающий в высоту до 40–50 см. Листья относительно крупные, до 2 см в ширину, матово-зеленые, собраны в мутовки. Стебель с большим числом листьев, из верхней пазухи которых в мае появляются 3–9 желтоватых цветков с зеленым рисунком внутри, похожих по форме на крупные колокольчики. В зависимости от разновидности, их цвет может быть также сметанно-белым или зеленовато-желтым [1]. Луковицы рябчика широко используют в китайской, тибетской и корейской традиционной ме-

дицине. Содержащиеся в луковицах растений алкалоиды, в малых дозах, оказывают лечебное действие, а в больших дозах – опасны для здоровья. В китайской медицине на основе содержащихся в луковицах алкалоидов изготавливают отхаркивающие и успокаивающие средства. Для любителей альпинариев рябчики являются красивыми декоративными растениями, а для аборигенов Камчатки их луковицы служили источником пищи. Чешуи луковиц сушили, нанизывали на веревки и продавали индейцам, которые называли их северо-западным рисом. В Казахстане из луковиц рябчика бледноцветкового делают средство, которое применяется при лечении гипертонии [2].

Зефирантес (*Zephyranthes rosea*) – род цветковых растений семейства Амариллисовые (*Amaryllidaceae*), некоторые виды используются как комнатные растения. Родиной растений рода Зефирантес являются тропические и субтропические регионы Северной, Центральной и Южной Америки. Название рода означает в переводе с греческого «цветок Зефира» (*Zephyr*– имя бога

западного теплого ветерка и *anthes* – цветков). Этому экзотическому растению на родине дали название «дождевой лилий», так как она начинает цвести с началом сезона дождей. В народе это растение называют «высочкой» из-за того что как луковица выпускает стрелку, так на ней сразу же распускается бутон [3, 4]. В народной медицине луковицу зефирантеса используют при абсцессах (в горячих компрессах), заболеваниях печени. Все растение зефирантеса белого применяется при конвульсиях и гепатите. В разных странах препараты зефирантеса используют для лечения рака, диабета, туберкулеза, при простуде [5].

В естественных условиях произрастания, а также в интродукции скорость вегетативного размножения данных растений невысока, и от одной луковицы можно получить только две за год. Такой низкий потенциал не позволяет размножать виды луковичных растений традиционным делением луковицы. Семенное воспроизводство очень длительное и составляет в среднем 3 – 5 лет. Размножение в условиях *in vitro* является эффективным и альтернативным способом воспроизведения данных растений и позволяет получить большое количество растений в короткие сроки [6]. В связи с этим нами начаты исследования по размножению луковичных растений Зефирантесиз сем. *Amaryllidaceae* и исчезающего вида – Рябчик сем. *Liliaceae* и в условиях *in vitro*.

Материалы и методы исследования

Объектами исследования служили Рябчик бледноцветковый *Fritillaria pallidiflora* из семейства *Liliaceae* и Зефирантес розовый *Zephyranthes rosea* из семейства *Amaryllidaceae*. Оба вида относятся к луковичным растениям. В качестве исходного материала (экспланта) использовали отрезки пазушных почек, донца луковицы (видоизмененный стебель) и луковичных чешуй данных растений.

Для введения в культуру *invitro* исходные экспланты стерилизовали в следующих дезинфицирующих растворах: 70% этанол и 0,5% гипохлорит натрия. Этапы стерилизации растительного материала для получения стерильных эксплантов:

- 1) почистить растение от грязи;
- 2) помыть мыльной водой;
- 3) прополоскать проточной водой; 4) простерилизовать этанолом 70%-м – 5 мин;
- 5) простерилизовать раствором гипохлорита натрия 0,5%-м – 7–10 мин;
- 6) промыть дистиллированной водой 3–5 раз.

После стерилизации экспланты: чешуи, пазушные почки, донце луковицы разрезали на мелкие отрезки, которые помещали на питательную среду Мурасиге и Скуга (МС) [7] с разным соотношением фитогормонов. Использовали среды МС, содержащие 6–бензиламинопурин (БАП) и нафтилуксусную кислоту (НУК) в следующих соотношениях: 10,0 мг/л БАП и 1,0 мг/л НУК; 2,5 мг/л БАП и 0,5 мг/л НУК. Полученные растения-регенеранты поместили в закрытую чашку с небольшим количеством воды на неделю, при этом воду меняли каждый день. Затем растения переместили в заранее подготовленный грунт.

Результаты исследования и их обсуждение

Стерилизация эксплантов 0,5%-м раствором гипохлорита натрия (7 мин.), 70% раствором этанола (5 мин.) и трехкратным промыванием в дистиллированной воде с последующим высушиванием на стерильной фильтровальной бумаге показала высокий процент стерильности высаженных эксплантов (70–80%).

Каллусогенез луковичных растений в культуре ткани *in vitro*. На всех использованных нами эксплантах через 3 недели было обнаружено образование каллусных тканей. Характеристика каллусных тканей: гетерогенные каллусы беловато-прозрачного цвета с иголчатыми выступами на поверхности ткани (рис. 1).

В культуре пазушных почек, использованных в качестве экспланта, частота каллусогенеза составила – 84,6% на питательной среде МС с фитогормонами в соотношении 10,0 мг/л БАП и 1,0 мг/л НУК. Из чешуек луковицы частота каллусогенеза составила – 46,6% на аналогичной среде. На среде МС, содержащего фитогормоны в соотношении 2,5 мг/л БАП и 0,5 мг/л НУК, индукция каллусных тканей из отрезков зеленых пазушных почек составила – 100% (таблица).

Таким образом, нами установлено, что для индукции каллусогенеза наиболее подходящими эксплантами являются зеленые пазушные почки растений и оптимальной питательной средой для каллусогенеза из пазушных почек являются среды МС содержащие фитогормоны в соотношении 10,0 мг/л БАП и 1,0 мг/л НУК и МС 2,5 мг/л БАП и 0,5 мг/л НУК, где частота каллусообразования составила 100% и 84,6%, соответственно. Для эксплантов из чешуек наиболее оптимальной оказалась среда МС с добавлением 10,0 мг/л БАП и 1,0 мг/л НУК, где частота каллусогенеза составила – 46,6%.

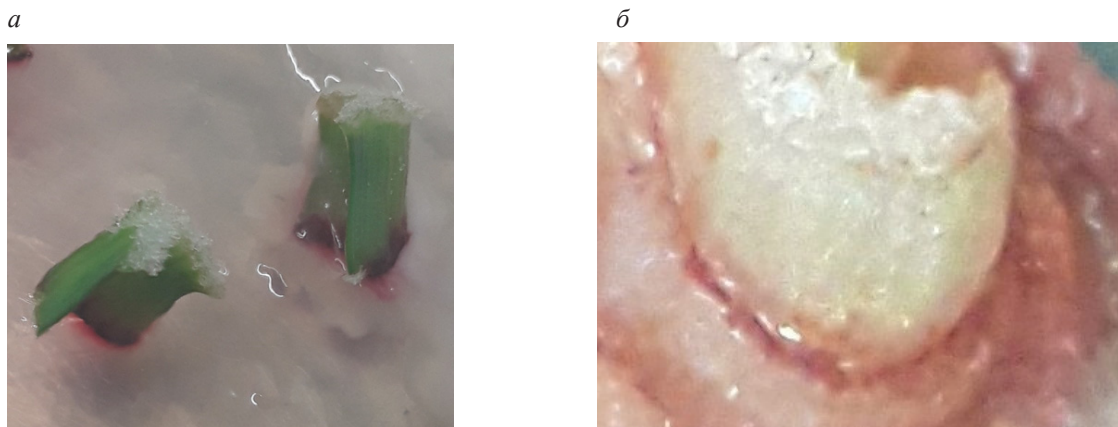


Рис. 1. Каллусогенез луковичных растений:
а – из зеленых пазушных почек луковичных растений; б – из луковичных чешуй

Влияние компонентов питательной среды
на каллусогенез и морфогенез

Варианты сред	Количество посаженных экз-плантов, шт				Каллусогенез				Прямая регенера-ция			
	Общее количество экз-плантов	Зеле-ные пазуш-ные почки	Чешуи	Донце	Зеленые пазушные почки		Чешуя		Чешуя		Донце	
					шт	%	шт	%	шт	%	шт	%
МС с 10,0 мг/л БАП и 1,0 мг/л НУК	31	13	15	3	11	84,6	7	46,6	2	13,3	3	100
МС с 2,5 мг/л БАП и 0,5 мг/л НУК	20	8	12	–	8	100	–	–	–	–	–	–

Регенерация растений в культуре *in vitro*. Через 4 недели на тканевых культурах при культивировании на свету при освещенности 1,5 тыс лк наблюдали образование побегов и выход растений-регенерантов. Из двух использованных вариантов питательных сред для регенерации растений среда МС с 10,0 мг/л БАП и 1,0 мг/л НУК оказалась оптимальной. На этой среде прямая регенерация растений из отрезков чешуек составила 3,3 %, из отрезков донца луковицы – 100 %. Наиболее удачной оказалась среда МС с 10,0 мг/л БАП

и 1,0 мг/л НУК, на которой через 4 недели наблюдалась прямая регенерация растений изэксплантов (отрезков чешуи и донца) (рис. 2).

Таким образом, наиболее оптимальной для регенерации растений из луковичных растений оказалась среда МС с добавлением фитогормонов 10,0 мг/л БАП и 1,0 мг/л НУК. Для получения растений-регенерантов удобными эксплантами являются отрезки донца луковицы, так как из кусочков донца в условиях *in vitro* достигнута 100% регенерация растений.

а



б



Рис. 2. Регенерация растений у луковичных:

а – прямая регенерация растений из отрезков донца луковицы; б – регенерация из отрезков чешуи

Полученные результаты экспериментов показывают, что способ размножения луковичных растений в условиях *in vitro* с использованием в качестве эксплантов отрезков донца луковиц, является наиболее приемлемым способом размножения луковичных растений, который дает эффективный результат.

Научные руководители: Амирова Айгуль Кузембаевна, Лесова Жаниха Туреевна.

Список литературы

1. Каталог растений для альпинария – Рябчик (*fritillaria*). [Электронный ресурс]. – URL: <http://gardenweb.ru/ryabchik-fritillaria> (14.02.2019).
2. Энциклопедия лекарственных растений. [Электронный ресурс]. – URL: <http://lektrava.ru/encyclopedia/ryabchik/#pharm> (14.02.2019).
3. Википедия. Свободная энциклопедия. [Электронный ресурс]. – URL: <https://ru.wikipedia.org/wiki/Зефирантес> (14.02.19).
4. Про цветы. Уход за зефирантесом или выскочкой в домашних условиях [Электронный ресурс]. – URL: <http://proklumbu.com/otkrutui-grunt/mnogoletniki/vyskochka.html> (15.02.19)
5. FloralWorld.ru. Мир растений. Энциклопедия ухода за растениями [Электронный ресурс]. URL: <https://www.floralworld.ru/encyclopedia/plants/Zephyranthes.html> (14.02.19)
6. Эрст А.А., Эрст А.С., Шауло Д.Н., Кульханова Д.С. Охранение и размножение *in vitro* редких видов *Fritillaria* (Liliaceae) // Растительный мир Азиатской России. – 2014. – № 1(13). [Электронный ресурс]. – URL: <https://docplayer.ru/42850827-Sohranenie-i-razmnozhenie-in-vitro-redkih-vidov-roda-fritillaria-liliaceae-a-a-erst-a-s-erst-d-n-shaulo-d-s-kulhanova.html> (10.02.19).
7. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // *Physiologia plantarum*. – 1962. – Vol. 15(3). [Электронный ресурс]. – URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x> (15.02.19).