

genes transfer *in planta* during sunflower's pollination. **Results.** Seeds, RCR-analysis of which confirmed availability *pro1* gene exon, of T0- and T1- sunflower's plants have been obtained. **Conclusions.** It has been shown the possibility of stable integration of the transgene at the sunflower's genome under *Agrobacterium*-mediated transformation *in planta*.

**Key words:** *Helianthus annuus* L., *Agrobacterium*-mediated transformation *in planta*.

**КОСТЮКОВА Е.Е., НАМ И.Я., ЗАЯКИН В.В.**

Брянский государственный университет имени академика И.Г. Петровского

Россия, 241036, г. Брянск, ул. Бежицкая, 14, e-mail: iyanam1@yandex.ru, wild.biologist@mail.ru

### РЕГЕНЕРАЦИОННАЯ СПОСОБНОСТЬ ЛУКОВИЧНЫХ ЭКСПЛАНТОВ РЕДКОГО ОХРАНЯЕМОГО РАСТЕНИЯ *LILIUM MARTAGON* L.

В связи с ускоряющимися темпами исчезновения многих видов растений появляется необходимость разработки методов их размножения и сохранения. Особенно это касается редких декоративных и лекарственных растений, для которых реинтродукция является одним из возможных способов восстановления природных популяций.

Лилия кудреватая (*Lilium martagon* L.) во

многих областях нашей страны считается чрезвычайно редким растением и подлежит охране [1, 2, 3, 4, 5]. Это многолетнее травянистое растение относится к семейству Liliaceae [6]. Чувствительность к малейшим изменениям условий увлажнения и освещения, неконтролируемый сбор местным населением приводят к истощению природных популяций [7].

#### Материалы и методы

Целью нашей работы было получение однородного посадочного материала *L. martagon* с помощью применения метода микроклонального размножения. Для опыта по регенерации были использованы растения *L. martagon* найденные на территории Брянской области и ранее введенные в культуру *in vitro* [8].

В качестве эксплантов для размножения *in vitro* использовались луковичные чешуйки пробирочных растений. Целые луковичные чешуйки размером 0,5 см длиной помещали на питательные среды с различными регуляторами роста: 1) 0,12 мг/л 6-бензиламинопурина (БАП), 0,25 мг/л индолил-3-уксусной кислоты (ИУК);

2) 0,25 мг/л БАП, 0,5 мг/л ИУК;

3) 0,5 мг/л БАП, 1 мг/л ИУК;

4) 1 мг/л БАП, 2 мг/л ИУК.

Питательные среды готовили по прописи MS [9], с добавлением 30 г/л и 60г/л сахарозы, pH 5.8. Стерилизацию питательных сред проводили при температуре 120°C в течение 25±3 минут.

Измерение длины и количества побегов с листьями, а также подсчет количества корней на 1 эксплант велись с интервалом в 10 дней.

Первые 10 дней экспланты находились в темноте, после чего были перенесены на искусственное освещение с фотопериодом: 16/8 ч свет/темнота.

#### Результаты и обсуждение

Начало морфогенеза было отмечено на 10 день на всех вариантах питательных сред с содержанием сахарозы 30 г/л и на 15 день на средах с содержанием сахарозы 60 г/л. Лишь в одном варианте с 1 мг/л БАП и 2 мг/л ИУК и концентрацией сахарозы 60 г/л, образование регенератов началось только на 25 день опыта (рис.1, 2). Образование побегов преимущественно наблюдалось на базальной части чешуек.

В результате проведенного опыта нам удалось подобрать условия, при которых регенерация растений идет без образования каллусной ткани.

К концу опыта максимальное количество точек регенерации образовалось на среде с 0,25 мг/л БАП и 0,5 мг/л ИУК и концентрацией сахарозы 60г/л, однако первые точки регенерации появились на среде с концентрацией сахарозы 30г/л (рис.2, 3).

К 45 дню интенсивное развитие регенерантов наблюдалось на всех вариантах сред (рис.1, 2). К концу опыта максимальная высота побегов отмечена на среде с 0,25 мг/л БАП и 0,5 мг/л ИУК и концентрацией сахарозы 30г/л, незначительно отстают по этому показателю остальные варианты сред (рис. 4).

На 10 день проведения опыта на средах с 0,21 мг/л БАП и 0,25 мг/л ИУК и концентрацией сахарозы 30г/л началось формирование корневой системы в местах образования регенерантов. К 20 дню формирование корневой системы было отмечено на среде с 0,25 мг/л БАП и 0,5 мг/л ИУК и 0,5 мг/л БАП и 1 мг/л ИУК и к 28 дню на среде с 1 мг/л БАП и 2 мг/л ИУК (рис.2). На среде с концентрацией сахарозы 60г/л формирование корневой системы началось лишь к 25 дню на вариантах сред 0,21 мг/л БАП, 0,25 мг/л ИУК; 0,25 мг/л БАП, 0,5 мг/л ИУК и 1 мг/л БАП, 2 мг/л ИУК. На среде с 0,5 мг/л БАП, 1 мг/л

ИУК образование корней началось только к 35 дню проведения опыта (рис.1).

При сравнении рисунков 1 и 2 видно, что начиная с 45 дня на средах с 0,21 мг/л БАП, 0,25 мг/л ИУК и 0,25 мг/л БАП, 0,5 мг/л ИУК замечено самое интенсивное корнеобразование. По образованию корней заметно отстают варианты с 0,5 мг/л БАП, 1 мг/л ИУК и 1 мг/л БАП, 2 мг/л ИУК. На вариантах сред с концентрацией сахарозы 60г/л количество корней больше, но при этом их размеры меньше, чем в варианте с концентрацией сахарозы 30г/л (рис.1-4).

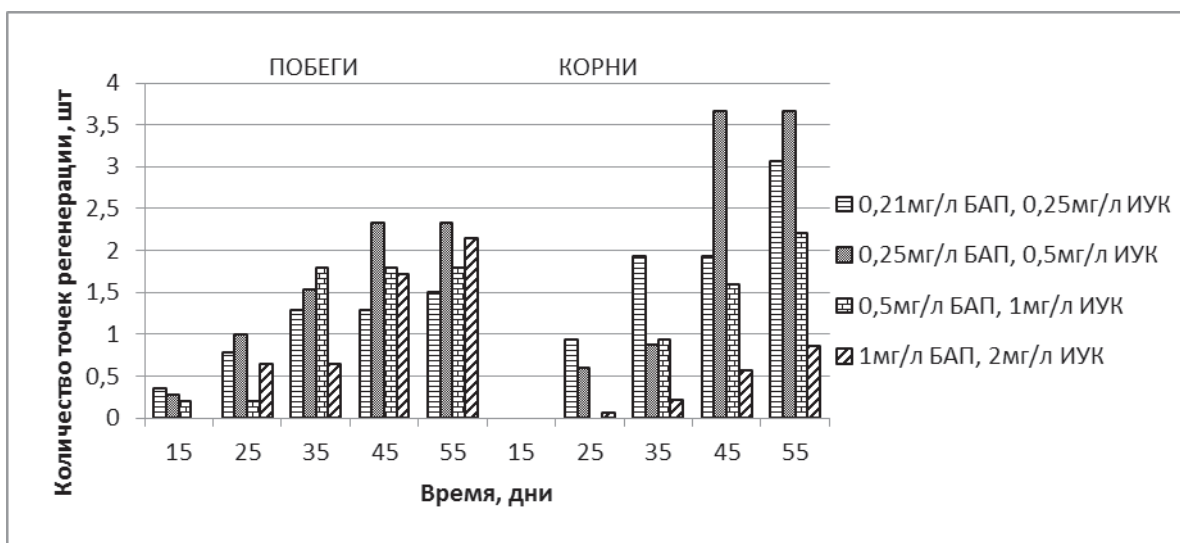


Рис. 1. Влияние фитогормонов на частоту регенерации в динамике (сахароза 60 г/л)

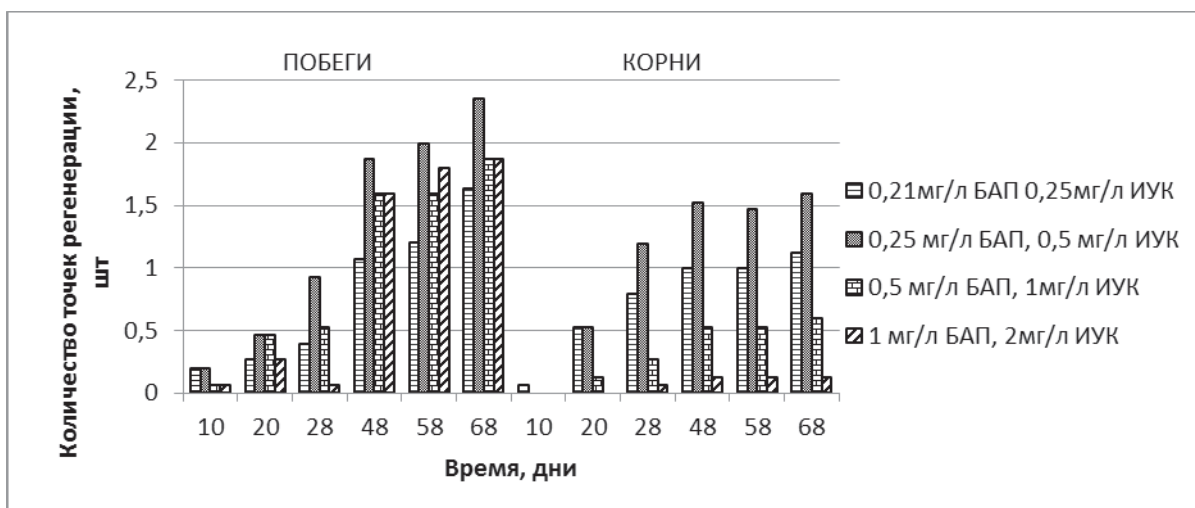


Рис. 2. Влияние фитогормонов на частоту регенерации в динамике (сахароза 30 г/л)

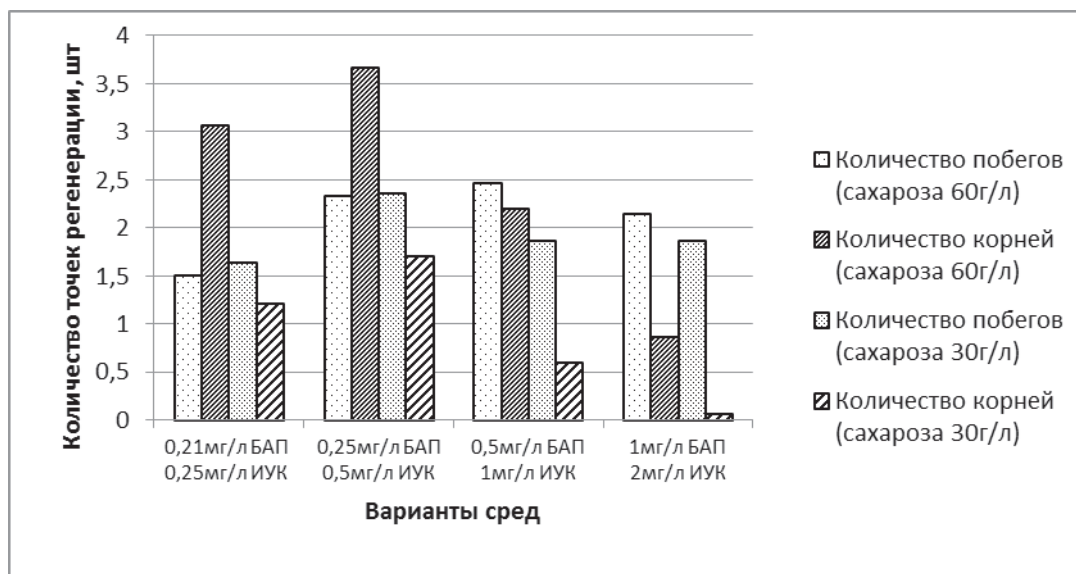


Рис. 3. Влияние фитогормонов на образование точек регенерации (через 55 и 68 дней)

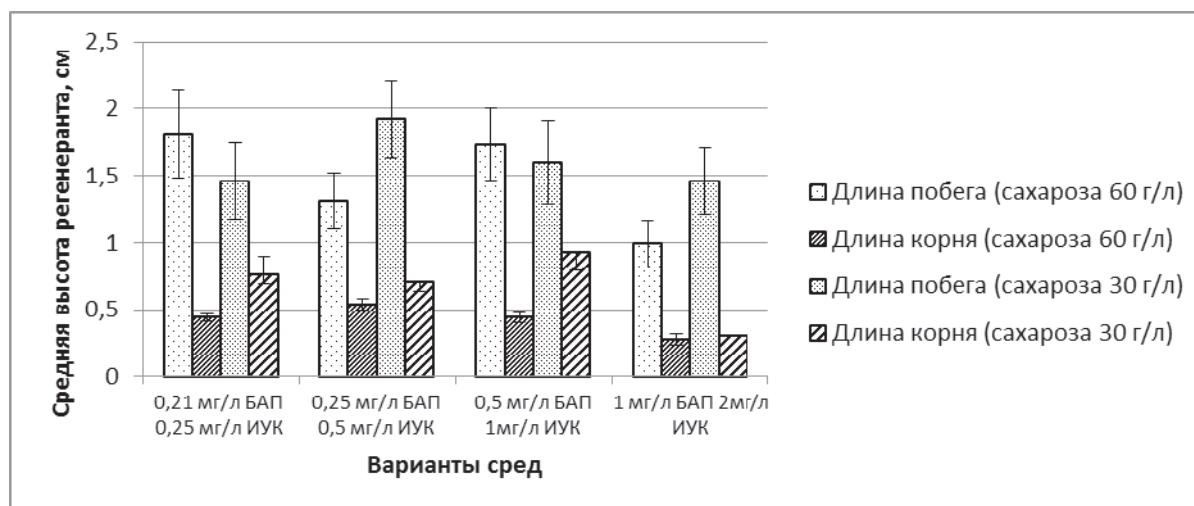


Рис. 4. Влияние фитогормонов на величину регенерантов (через 55 и 68 дней)

Спустя 2 месяца побеги переносили на среду MS для дальнейшего роста и размножения.

Процесс ризогенеза проводили на среде MS/2 с содержанием 0,5 мг/л ИУК, что способствовало образованию развитой корневой системы

#### Выводы

Нами были выявлены сочетания концентраций фитогормонов БАП и ИУК, наиболее активные при регенерации растений *L. martagon* из луковичных эксплантов. Самый высокий уровень регенерации был получен на среде с 0,25 мг/л БАП, 0,5 мг/л ИУК и концентрацией сахарозы 60 г/л. Несколько ниже по количеству регенерантов были остальные варианты опыта. На

темы и формированию растений готовых к пересадке в почву.

В настоящее время растения перенесены в мини-парник и адаптированы к нестерильным условиям.

средах с концентрацией сахарозы 30г/л побеги были более развитые.

Таким образом можно сделать вывод, что наиболее подходящей средой для регенерации растений из луковичных чешуек является вариант среды с 0,25 мг/л БАП, 0,5 мг/л ИУК с концентрацией сахарозы 60 г/л или 30 г/л.

## Литература

1. Красная книга Брянской области. Растения / Сост. О.И. Евстигнеев, Ю.П. Федотов, Н.Н. Панасенко и др. – Брянск, 2004. – 272 с.
2. Красная книга Пензенской области. Т.1: Грибы и сосудистые растения / Сост. А.И. Иванов, Л.А. Новиков, А.А. Чистякова и др. – Пенза, 2002. – 160 с.
3. Красная книга Республики Мордовия. Т.1. Редкие виды растений, лишайников и грибов / Сост. Т.Б. Силаева. – Саранск, 2003. – 288 с.
4. <http://xn--80aaalyjcwczm4o.xn--c1aj2a.xn--p1ai/plant/62/>
5. <http://www.plantarium.ru/page/view/item/22760.html>
6. Губанов И. А. и др. *Lilium martagon* L. [*L. pilosiusculum* (Freyn) Miscz.] — Лилия саранка // Иллюстрированный определитель растений Средней России. В 3 т. – М.: Т-во науч. изд. КМК, Ин-т технолог. иссл., 2002. — Т. 1. – С. 466.
7. Костюкова Е.Е., Заякин В.В., Нам И.Я. Клональное микроразмножение *in vitro* для сохранения редких и исчезающих видов растений, занесенных в Красную книгу Брянской области // Сб. матер. международной научно-практической конференции молодых ученых «Современная биотехнология: фундаментальные проблемы, инновационные проекты и бионанотехнология», Брянск, 2010. – С. 71-75
8. Му-За-Чин В.В., Нам И.Я. Клональное микроразмножение лилии саранки в культуре *in vitro* // Теоретические основы применения биотехнологии, генетики и физиологии растений в современной селекции растений и растениеводстве / Материалы международной научно-практической конференции молодых ученых. Брянск, 2009. – С. 193-186.
9. Murashige T., Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // *Physiol. Plantarum*. – №15. – P. 473-497.

**KOSTYUKOVA E.E., NAM I.Y., ZAYAKIN V.V.**

*Bryansk State University named after academician I.G. Petrovsky*

*Russia, 241036, Bryansk, Bezhitskaya str., 14, e-mail: iyanam1@yandex.ru, wild.biologist@mail.ru*

### **COMPETENCE FOR REGENERATION ON BULBLET EXPLANTS OF RARE AND ENDANGERED PLANT OF LILIUM MARTAGON L.**

**Purpose.** In this study organogenic capacity of bulblet of *Lilium martagon* L. was examined. **Methods.** The effect of different plant growth regulators on regeneration of *L. martagon* was studied on Murashige and Skoog's (MS) medium. For regeneration different plant growth regulators added to MS basal medium were used. **Results.** Our results indicate that indole acetic acid and 6- benzilaminopurine promoted shoot regeneration and root formation from bulblet explants. Plantlets were acclimatized well in a greenhouse conditions. **Conclusions.** Best results was obtained on MS basal medium with 0.25mg/l 6- benzilaminopurine and 0.5mg/l indole acetic acid.

**Key words:** *Lilium martagon* L., plant growth regulators, regeneration, bulblet explants.

**КРУГЛОВА А.Е., КРУГЛОВА Н.Н.**

*Институт биологии Уфимского научного центра РАН*

*Россия, 450054, г. Уфа, пр. Октября, 69, e-mail: aneta@ufaras.ru*

### **БИОТЕХНОЛОГИЯ ПОЛУЧЕНИЯ РЕГЕНЕРАНТОВ *OXYTROPIS BASCHKIRENSIS* KNJASEV В ЭМБРИОКУЛЬТУРЕ *IN VITRO***

Сохранение редких и находящихся под угрозой исчезновения растений как составная часть сохранения биологического разнообразия – важнейшая научная проблема. Одним из эффективных приемов сохранения, размножения и увеличения численности особей редких и исчезающих видов является их интродукция в питомники ботанических садов [1]. Коллекции интродуцированных редких видов служат базой для их реинтродукции (репатриации) в естест-

венные местообитания и тем самым – сохранения и восстановления природных популяций [2]. В то же время, для проведения реинтродукционных работ требуется значительное количество качественных проростков интродуцированных растений. Перспективные современные способы массового получения и тиражирования редких и исчезающих растений состоят в разработке различных биотехнологий получения их проростков-регенерантов в культуре *in vitro*. Одно из