

## Библиографический список

- Богунова В.Г.* Физиологическая и генетическая регуляция морфогенеза и регенерации кукурузы *in vitro*: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 1993. 24 с.
- Dolgykh Yu.I.* Establishment of Callus Cultures and Regeneration of Maize Plants // *Biotechnology in Agriculture and Forestry*. Berlin, 1994. Vol. 25, Maize. P. 24–35.
- Диас С., Долгих Ю.И., Шамина З.Б.* Значение физиологических и генетических факторов в индукции эмбрионного каллуса у разных линий кукурузы // Докл. РАСХН. 1994. Т. 2. С. 6–8.
- Алаторцева Т.А.* Культура завязей кукурузы в связи с апомиксисом: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. СПб., 1994. 18 с.
- Alatortseva T., Tyrnov V.* Reproduction of haploid and diploid maize forms *in vitro* // *Maize Genetics Coop. USA*. 2001a. Vol. 75. P. 55–56.
- Alatortseva T.A., Tyrnov V.S.* Maize Regeneration *in vitro* // *Molecular mechanisms of genetic processes and biotechnology: Intern. Symp.* М.; Минск, 2001b. P. 314.

УДК 635.92:581. 143.6

ОСОБЕННОСТИ РАЗМНОЖЕНИЯ И РЕГЕНЕРАЦИИ ТЮЛЬПАНОВ  
*IN VITRO*

**А.Ш. Ахметова, Л.Н. Миронова**

*Ботанический сад-институт Уфимского научного центра РАН*  
450080, Уфа, Полярная, 8;  
e-mail: al\_sham@mail.ru

В настоящее время с целью повышения эффективности селекционной работы для многих растений, в том числе для тюльпанов, используют биотехнологические методы размножения. Изучение морфогенетических потенций разных органов и тканей растения позволяет выявить оптимальную схему, метод и условия размножения *in vitro*. Цель данной работы – оценить генетические потенции к морфогенезу декоративного растения тюльпана и выявить оптимальные условия для реализации этих потенций.

**Материал и методика**

В качестве исходного материала были использованы плоды (семена) тюльпана сорта Lucky Strike. Работу в асептических условиях, стерилизацию питательных сред и посадочного материала проводили согласно имеющимся рекомендациям (Бутенко, 1964; Калинин и др., 1980; Катаева,

Бутенко, 1983). Подготовка к дезинфицированию растительного материала проводилась по схеме: промывка невоскрывшихся коробочек в растворе детергента, затем в интенсивно-розовом растворе перманганата калия. Семена стерилизовали в растворах этанола, перекиси водорода и последовательно в растворах диацета и нитрата серебра.

В работе использовали питательную среду, приготовленную по прописи Мурасиге и Скуга (MS) (Murashige, Skoog, 1962). Экспланты культивировали в темноте при температуре 10°C и на свету при 26°C, 16-часовом фотопериоде, 70%-ной относительной влажности воздуха.

### Результаты и их обсуждение

Применяемые стерилизаторы по-разному влияли на жизнеспособность семян и последующее развитие проростков. Стерилизация семян тюльпана в 3%-ном растворе перекиси водорода и 70%-ном этаноле снижала их жизнеспособность по сравнению с 0,1%-ным раствором диацета и 0,2%-ным раствором нитрата серебра. Максимального числа жизнеспособных (69,8%) и минимального числа инфицированных (2,0%) семян удалось достичь при использовании комбинации стерилизующих растворов, а именно при последовательном выдерживании семян в 70%-ном этаноле в течение 1 мин и 0,1%-ном растворе диацета в течение 8 мин (табл. 1).

Таблица 1. Влияние стерилизаторов на жизнеспособность семян и развитие проростков *in vitro*

Стерилизатор, экспозиция	Жизне- способность, %	Инфици- рованность, %	Средняя длина побега, мм	
			через 30 дней	через 60 дней
70% этанол, 1 мин + + 0.1% диацет, 8 мин	69.8	2.0	37.1 ± 0.7	51.4 ± 1.6
70% этанол, 1 мин + + 3% H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , 15 мин	21.3	58.2	29.6 ± 0.5	35.7 ± 0.8
70% этанол, 1 мин + + 0.1% диацет, 6 мин	57.6	21.8	20.3 ± 1.2	47.3 ± 0.9
70% этанол, 1 мин + + 0.2% AgNO <sub>3</sub> , 10 мин	38.0	46.3	18.5 ± 0.6	31.6 ± 0.7

Проростки из семян, стерилизованных перекисью водорода и этанолом, вначале развивались интенсивнее, чем в варианте опыта по стерилизации семян ртутьсодержащим раствором. Однако через 2 месяца культивирования проростки, полученные из семян после их стерилизации диаце-

дом, при экспозиции 8 мин имели большую длину, чем таковые в опыте по стерилизации семян перекисью водорода. Использование нитрата серебра в качестве стерилизующего раствора вело к низкой жизнеспособности (38.0%) и медленному развитию побегов.

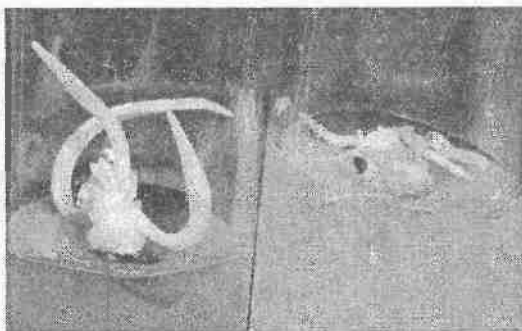
Семена тюльпанов характеризуются глубоким сложным морфофизиологическим типом покоя. Причина такого покоя заключается в недоразвитии зародыша и сильном физиологическом механизме торможения прорастания. Формула покоя семян тюльпанов – БВ-В<sub>3</sub> (Николаева, 1967; 1974). М.Г. Николаева и М.В. Разумова (1973) предположили, что доразвитие зародыша в семенах и процесс прорастания тормозится тем же физиологическим механизмом торможения. Основывается это предположение на необходимости холодной стратификации для доразвития зародыша, о чем пишет и З.П. Бочанцева (1962). Поэтому семена культивировали при низкой положительной температуре +10°C в темноте. Для прорастания семян использовали агаровую безгормональную среду, содержащую минеральные соли и витамины по прописи MS, а также питательную среду, дополненную БАП в концентрации 2.0 мг/л для их дальнейшего развития при 16-часовом фотопериоде. Отмечено, что при добавлении в среду цитокининов увеличиваются длина семядолей и размеры микролуковиц.

Через 3 месяца культивирования проростки делили на основе семядолей и чешуйки микролуковиц, которые субкультивировали в течение 2.5 месяцев на модифицированной среде MS. Испытаны четыре варианта среды MS, содержащей различные комбинации и концентрации физиологически активных веществ, таких, как БАП, кинетин, ИУК и НУК (табл. 2).

Таблица 2. Зависимость органогенеза чешуек микролуковиц от концентрации фитогормонов *in vitro*

Регуляторы роста, мг/л	Среднее число побегов на эксливант, шт.	Средняя длина побега, мм
БАП 0.2 + НУК 0.5	5.7 ± 0.8	32.4 ± 0.5
БАП 0.5 + НУК 1.0	8.1 ± 0.3	49.6 ± 0.8
Кинетин 0.5	4.2 ± 0.7	20.9 ± 0.9
Кинетин 0.5 + ИУК 2.0	6.9 ± 0.6	23.7 ± 0.7

Наиболее активно происходит индукция органогенеза при сочетании БАП в концентрации 0.5 мг/л, НУК – 1.0 мг/л и кинетина – 0.5 мг/л, ИУК – 2.0 мг/л. Причем высокая частота органогенеза наблюдается на питательной среде в сочетании БАП и НУК, когда из одного сегмента чешуи развивалось от 3 до 8 побегов за каждый пассаж (рисунок).



а

б

Индукция развития побегов на питательной среде MS:  
 а – БАП 0.5 мг/л + НУК 1.0 мг/л; б – кинетин 0.5 мг/л +  
 + ИУК 2.0 мг/л

Исследования показали, что основания семядолей микропобегов при культивировании органогенной способностью не обладали.

Одновременно с пролиферацией побегов тюльпана на чешуях микролуковиц на среде БАП 0.5 мг/л, НУК 1.0 мг/л происходила элонгация микропобегов.

Для формирования микролуковиц микрочеренки культивировали на питательной среде, содержащей ИМК в концентрации 0.5 мг/л при пониженной температуре 4°C в течение 10–12 недель в темноте и последующем 16-часовом фотопериоде в течение 8–10 недель.

### Выводы

Включение в питательную среду БАП в концентрации 0.5 мг/л, НУК – 1.0 мг/л и кинетина – 0.5 мг/л, ИУК – 2.0 мг/л способствует индукции развития побегов из чешуй микролуковиц стерильных проростков сортовых тюльпанов.

### Библиографический список

- Бочанцева З.П.* Тюльпаны. Ташкент, 1962. 407 с.  
*Бутенко Р.Г.* Культура изолированных тканей и физиология морфогенеза растений. М., 1964. 272 с.  
*Калинин В.Ф., Сарнацкая В.В., Полищук В.Е.* Методы культуры тканей в физиологии и биохимии растений. Киев, 1980. 488 с.

*Катаева Н.В., Бутенко Р.Г.* Клональное микроразмножение растений. М., 1983. 96 с.

*Николаева М.Г.* Физиология глубокого покоя семян. Л., 1967. 206 с.

*Николаева М.Г., Разумова М.В.* О влиянии температуры и ростовых веществ на прорастание семян тюльпанов // Бюл. Гл. Бот. сада. 1973. Вып. 89. С. 73–75.

*Николаева М.Г.* Дополнение к классификации типов семян // Биологические основы семеноведения и семеноводства интродуцентов. Новосибирск, 1974. С. 8–9.

*Murashige T., Skoog F.* A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // *Physiol. Plant.* 1962. Vol. 15, № 13. P. 473–497.

УДК 581.331.1+581.331.2

## ЦИТОЭМБРИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ГАПЛОИНДУЦИРУЮЩЕЙ ЛИНИИ КУКУРУЗЫ ЗМС-8

**А.Ю. Колесова, О.В. Гуторова**

*Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского  
410012, Саратов, Астраханская, 83*

Для массового получения гаплоидов кукурузы эффективно используются линии с высокой гаплоиндуцирующей способностью пыльцы, впервые полученные в лаборатории цитологии и генетики Ботанического сада СГУ (Тырнов, Завалишина, 1984; Тырнов, 2002). Среди этих линий наибольшая частота гаплоиндукции (до 8%) отмечена у линии ЗМС-8 (Зародышевый маркер саратовский-8) (Zavalishina A.N., Tyrnov V.S., 1992). Было установлено, что гаплоиндуцирующая способность пыльцы линии ЗМС-8 обусловлена мутацией, нарушающей функции спермиев (Еналеева и др., 1997). Следствием функциональной дефектности мужских гамет является одинарное оплодотворение, приводящее в ряде случаев к формированию гаплоидных зародышей.

Исследование генеративной сферы гаплоиндукторов представляет несомненный интерес в связи с разработкой методики получения и отбора гаплоиндуцирующих форм. В настоящей работе представлены результаты исследования мужского и женского гаметофитов линии ЗМС-8.

### Материал и методы

Объектом исследования служили растения линии ЗМС-8. В качестве контроля использовали линию ЗМgl, не склонную к партеногенезу и гаплоиндукции. Завязи с предварительно изолированных початков фиксиро-