

УДК 633. 88.

**РАЗМНОЖЕНИЯ ПОДСНЕЖНИКА ВОРОНОВА (GALANTHUS WORONOWI
LOSINSK) В УСЛОВИЯХ IN VITRO**

Буриев Забардаст Тожибоевич

Доктор биологических наук, профессор, Центр Геномики и Биоинформатики АН РУз,
Ташкент

Убайдуллаева Хуриида Абдуллаева

Доктор биологических наук, профессор, Центр Геномики и Биоинформатики АН РУз,
Ташкент

Болкиев Абдувахид Абдуллаевич

Младший научный сотрудник, Центр Геномики и Биоинформатики АН РУз, Ташкент

<https://doi.org/10.5281/zenodo.7212265>

Аннотация. В статье приводятся результаты исследований по разработке эффективных методов размножения луковиц *Galanthus woronowii* L в условиях *in vitro* с добавлением в искусственную питательную среду различных регуляторов роста растений. В искусственной среде МС с составом стимуляторов роста 2 мг/л БАП и 0,2 мг/л НАА наблюдался образование луковиц на 65,5%. Наоборот в вариантах опыта в искусственной среде МС с составом гормонов роста НСК и 2,4-Д происходило снижение количества образованных луковиц в каждом экспланте. На основании результатов проведенных экспериментов, было доказано что размножение и образование корней *Galanthus woronowii* L. в условиях *in vitro* важное значение имеет наличие и правильный подбор концентрации цитокина и ауксина в искусственной питательной среде МС э

Ключевые слова: биотехнология, галантамин, эндемик, алкалоид, эксплант, гормон роста, питательная среда, каллус, ауксин, ризогенез, *in vitro*.

**IN VITRO REPRODUCTION OF VORONOV'S SNOWDROP (GALANTHUS
WORONOWI LOSINSK)**

Abstract. The article presents the results of research on the development of effective methods for the propagation of *Galanthus woronowii* L bulbs *in vitro* with the addition of various plant growth regulators to an artificial nutrient medium. In the artificial MS medium with the composition of growth stimulants 2 mg/l BAP and 0.2 mg/l NAA, the formation of bulbs was observed by 65.5%. On the contrary, in the experimental variants in the artificial MS environment with the composition of the growth hormones NSC and 2,4-D, the number of bulbs formed in each explant decreased. Based on the results of the experiments, it was proved that the reproduction and formation of roots of *Galanthus woronowii* L. under *in vitro* conditions is important for the presence and correct selection of the concentration of cytokines and auxins in the artificial nutrient medium MS e

Key words: biotechnology, galantamine, endemic, alkaloid, explant, growth hormone, nutrient medium, callus, auxin, rhizogenesis, *in vitro*

Введение. В настоящее время из-за увеличения антропогенной нагрузки на окружающую среду во всем мире остро встает вопрос сохранения биологического разнообразия растений. Привлечение методов биотехнологии, базирующихся на культивировании изолированных органов, тканей и клеток растений является одним из

эффективных способов решения данной проблемы, поскольку имеет преимущества перед традиционно используемыми подходами.

Среди перспективных лекарственных растений особое положение занимает подснежник Воронова *Galanthus woronowii* Losinsk. (Amaryllidaceae) – эндемик Кавказа, численность которого сокращается в результате чрезмерного антропогенного пресса. Луковицы содержат [алкалоиды](#), в том числе 0,1 % [ликорины](#) и 0,07—0,15 % [галантамина](#), и первоначально были предложены в качестве [лекарственного сырья](#).

Однако растение в настоящее время в многих местах не имеет обеспеченной сырьевой базы и не заготавливается. В луковице подснежника Воронова, а также в надземной его части содержатся алкалоиды галантамин (0,07 – 0,15 %), ликорин (0,1 %), галантин (0,2– 0,3 %), дубильные вещества, органические кислоты, витамины и другие вещества. Среди них наиболее важным является галантамин $C_{17}H_{21}O_3N$; ликорин $C_{16}H_{17}O_3N$ содержится в количестве около 0,1%; галантин $C_{18}H_{23}O_4N$ - 0,2-0,3%. В корнях найдены ликорин, галантин, галантаминидин. [6].

В последние годы более 20 миллионов луковиц подснежников ежегодно импортируются в Великобританию из Нидерландов. Экспорт луковиц с Турции с 70 миллионов луковиц в 1989 году уменьшился до 23 миллионов в 1996 году. Это результат хищнической эксплуатации природных популяций подснежника. В этой связи уделяется большое внимание вопросу разработки приемов размножения и сохранения подснежника в условиях *in vitro* [3-6].

Объекты и методы исследований. Объектом исследований был выбран подснежник Воронова (*Galánthus woronowii* Losinsk.) Растительный материал для исследований – луковицы подснежника Воронова (*Galanthus woronowii* L.) были заготовлены в отрогах Чаткальского хребта на территории Чаткальской лесной опытной станции НИИ лесного хозяйства Ташкентского вилоята.

Для предварительной стерилизации растительных материалов по методике Р.Г.Бутенко (1990 год) были использованы 0,1% ный диацид, 0,1% ный серебристый хлорид (AgCl), 5-9 % ный гипохлориты (Na, Ca) и 10-12%-ный пероксид водорода (H_2O_2). Промывка растительных материалов стерильной водой производилась по 5 минут в трех повторностях. При наличии инфекции эксплант-ткани обрабатывали антибиотиками.

Результаты и их обсуждения. Исследования по микроразмножению подснежника Воронова (*Galánthus woronowii* Losinsk.) и других видов проводились различными исследователями, где были испытаны различные гормоны роста в различных концентрациях в искусственных питательных средах.

В. И. Маляровская, Л. С. Самарина, Р. С. Рахмангулов, Н. Г. Конинская [2] изучали этапы микроразмножения подснежника Воронова (*Galánthus woronowii* Losinsk.) Исследования были проведены в период 2016-2017 гг. на базе лаборатории биотехнологии, физиологии и биохимии растений ВНИИЦиСК (г. Сочи) с использованием современных методов культуры клеток и тканей. Объектом исследований послужили экспланты (части чешуй луковицы) *G. woronowii*. На этапе инициации эксплантов *G. woronowii* исследователи использовали питательную среду по прописи Мурасиге – Скуга, дополненную регуляторами роста в различных концентрациях.

Варианты опыта: 1. 6-бензиламинопурин (6-БАП) 1,0 мг/л и индолил-3-масляная кислота (ИМК) 0,5 мг/л; 2. 6-БАП 2,0 мг/л и нафтилуксусная кислота (НУК) 1,0 мг/л; 3. тидиазурон (TDZ) 0,25 мг/л; 4. кинетин (Кин) 0,5 мг/л; контроль – без регуляторов роста. На этапе оптимизации стадии собственно микроразмножения применялся следующие регуляторы роста: 1. 6-БАП 2,0 мг/л, индолилуксусная кислота (ИУК) 1,0 мг/л; 2. 6-БАП 2,0 мг/л, НУК 1,0 мг/л; 3. 6-БАП 3,0 мг/л; НУК 1,0 мг/л.

Длительность пассажа на этапе введения в культуру *in vitro* составила 78-90 дней. Отделение полученных адвентивных микролуковичек производился по мере их нарастания на тканях первичного экспланта и переносили на среды для размножения. Микролуковички поддерживался в условиях активного роста при температуре $+22 \pm 2^\circ\text{C}$, фотопериоде (16/8) и длительности пассажа 45–50 дней, что обеспечивало активную регенерационную способность.

На этапе инициации эксплантов *G. woronowii* установлено, что по сравнению с контролем (среда без регуляторов роста) добавление в питательную среду регуляторов роста 6-БАП, НУК и ИМК индуцировало регенерацию в тканях чешуй адвентивных микропобегов. При этом наибольшая частота их регенерации (65,7%) и среднее количество образовавшихся микролуковичек *de novo* (3,4 шт./экспл.) было на питательной среде, содержащей 6-БАП и НУК в концентрации 2,0 и 1,0 мг/л соответственно. Кроме того, необходимо отметить, что регенерация адвентивных микролуковичек проходила в тканях экспланта по пути прямого органогенеза.

Наименьшая частота регенерации микролуковичек наблюдалась в опытных вариантах, содержащих TDZ и кинетин, однако по сравнению с контролем этот показатель был выше на 9,2-12,8%. На этой же среде отмечено формирование желтого морфогенного каллуса и образование корней. Частота морфогенного каллуса составляла 27,8 и 31,2%. В дальнейшем, через 5-7 недель из сформированных в каллусе почек наблюдалось образование микролуковичек. В данном случае регенерация микролуковичек подснежника Воронова проходила по пути непрямого органогенеза. Необходимо отметить, что только 9,8% сформированных в каллусе почек образовали микролуковички. Далее полученные на начальном этапе инициации культуры *in vitro* микролуковички *G. woronowii* использовали в опыте по оптимизации этапа собственно микроразмножения.

Известно, что подбор оптимальных питательных сред по концентрации и соотношению регуляторов роста является ключевым фактором, способствующим развитию имеющихся у растения меристем или закладке их *de novo*. Поэтому на этапе оптимизации стадии собственно микроразмножения был использован различные экзогенные регуляторы роста: цитокининовой 6-БАП в концентрациях 2,0-3,0 мг/л и ауксиновой природы ИУК, НУК в концентрации 1,0 мг/л, показавшие наилучшие результаты на начальном этапе введения и инициации культуры. Согласно полученным результатам частота регенерации варьировала от 28,9% в контроле (среда без регуляторов роста) до 79,8% на среде, дополненной БАП и НУК в концентрации 2,0 и 1,0 мг/л (табл. 2). На этой же среде отмечено и наибольшее количество микропобегов – $3,7 \pm 0,4$ шт./экспл.

При увеличении концентрации 6-БАП до 3,0 мг/л в сочетании с 1,0 мг/л НУК отмечали снижение регенерации и активности побегообразования ($3,3 \pm 0,2$ шт./эксплант),

а также увеличение периода (на 8-10 дней), необходимого для индукции микролуковичек. Кроме того, замена ауксина с НУК на ИУК приводила к уменьшению частоты побегообразования до 59,3% с образованием в среднем $2,9 \pm 0,5$ луковичек на эксплант. На контрольной (без регуляторов роста) среде также наблюдался регенерацию адвентивных микропобегов, что можно объяснить последствием накопленных в тканях экспланта экзогенных регуляторов роста, используемых на начальном этапе введения в условия культуры.

Использование TDZ на этапе инициации культуры приводило к образованию адвентивных микролуковичек, однако частота и скорость развития микропобегов из этих почек были низкими. Негативное влияние TDZ на регенерацию различных видов растений также отмечалось в работах других авторов. В то же время выявлена высокая эффективность эндогенного регулятора роста 6-БАП в сравнении с другими цитокининами на этапах инициации в культуру *in vitro* и собственно микроразмножения подснежника Воронова. Необходимо также отметить, что на этапе введения в культуру при культивировании *G. woronowii* наблюдался как прямой, так и непрямой органоогенез.

Таким образом, для инициации и заложения структур *de novo*, а также на этапе собственно микроразмножения необходимы воздействие на ткани экспланта *G. woronowii* регуляторов роста 6-БАП и НУК в концентрации 2,0 и 1,0 мг/л и длительный начальный период культивирования до развития первых адвентивных микролуковичек. Выявлена высокая морфогенная активность луковичных чешуй, как первичных эксплантов в культуре *in vitro*. Установлено, что использование питательных сред с комбинированными 76 регуляторами роста влияет на пути морфогенеза культивируемых эксплантов. На среде с содержанием 6-БАП отмечен прямой органоогенез, а добавление TDZ и кинетина вызывало образование каллусных тканей, из которых путем непрямого органоогенеза получены микролуковички.

В работе В.И. Маляровской, Л.С. Самариной, Н.Г. Конинсой [1] представлены результаты исследования различных режимов культивирования (освещённости, температуры), регуляторов роста и их концентраций на укоренении микронилуковичек редкого, исчезающего вида природной флоры *Galanthus woronowii* Losinsk.

Установлено, что режим культивирования при стабильной положительной температуре (+6 °C) на стадии наблюдения за ризогенезом и формированием микролуковиц наиболее эффективен, так как позволяет получать микролуковицы с развитой корневой системой (от 5,1 до 5,8 шт./на луковичку) и избытком их размер (6,5-7,4 мм). При этом использование в питательной среде регуляторов роста (ризопоны и НУК) стимулирует развитие более развитой корневой системы.

Исследователями Dr Chris Selby, Ioanna Staikidou, Gordon R Hanks [4] для оптимизации условий микроразмножения видов *Galanthus* на основе минеральных анализов луковиц *G. nivalis*, *G. nivalis* 'Flore Pleno' и *G. elwesii* была разработана базальная среда (G). По сравнению со средой Мурашиге и Скуг (MS) основными особенностями среды G были повышенные концентрации Cu (x 30,4), P (x 3,6), Ca (x 1,9), Mg (x 1,3) и S.

Исследования Chris Selby, Ioanna Staikidou, Gordon R Hanks, Pippa Hughes [4] посвящены разработке эффективных методов микроразмножения *Galanthus nivalis* и *Galanthus plicatus*. Первоначальная стерилизация поверхности целых луковиц проводилась

следующим образом. Были отобраны здоровые луковицы и вручную удалены их оболочку и все чешуйчатые листья с обесцвечиванием или коричневыми пятнами.

Ткани базальной луковицы были срезаны скальпелем до здоровых белых тканей, следя за тем, чтобы не удалить больше тканей основания, чем необходимо. У *G. nivalis* обрезка базальных тканей требует особой осторожности, поскольку ткани основания луковицы очень тонкие, и трудно обрезать их как до, так и после стерилизации, оставляя ткани основания на эксплантах. Ткани апикальной луковицы также были отрезаны на 1 мм ниже области старения чешуйчатого листа, чтобы остались только здоровые белые ткани. После этого луковицы готовы к поверхностной стерилизации.

Луковицы были стерилизованы попарно в 100 мл колбах Эрленмейера (*G. nivalis* и *G. nivalis* 'Flore Pleno') или поодиночке в широкоформатных 100 мл стаканах (*G. elwesii* и *G. plicatus*). Добавляют стерилизат, чтобы полностью покрыть луковицы, закрывали сосуд алюминиевой фольгой и встряхивают на возвратно-поступательном шейкере при 130 об/мин. Сначала луковицы встряхивают в течение 1 минуты в 70% этаноле, в течение 20 минут в 50% Доместосе, а затем пять раз промывают в стерильной деионизированной воде.

После первоначальной поверхностной стерилизации луковицы асептически разрезают на экспланты. Сначала луковицы обрезают сверху и снизу, чтобы удалить ранее срезанные ткани, поврежденные стерилизатором. Базальная обрезка выполняется таким образом, чтобы оставалось не менее 1 мм основания. Апикальная обрезка позволяет получить секции луковицы высотой примерно 8-10 мм для *G. nivalis*, *G. nivalis* 'Flore Pleno', *G. plicatus* и *G. plicatus* 'Wendy's Gold' или 10-13 мм для *G. elwesii*. Затем в центре луковиц делают продольные разрезы, чтобы получить четыре (*G. nivalis*, *G. nivalis* 'Flore Pleno', *G. plicatus* и *G. plicatus* 'Wendy's Gold') или шесть (*G. elwesii*) эксплантов стружки на луковицу.

Экспланты встряхивают в течение 9 часов в 4%-ной смеси растительных консервантов (PPM) (Plant Cell Technology Incorporated, Вашингтон, округ Колумбия), приготовленной в 50 мг/л растворе MgSO₄. Экспланты обрабатываются группами по четыре штуки в 20 мл раствора PPM. Для более крупных луковичных видов, таких как *G. elwesii*, группы из трех эксплантов обрабатывают в 30 мл раствора PPM, чтобы компенсировать их больший размер. Культуры инкубируют при постоянной температуре +18°C с 16-часовым фотопериодом, обеспечиваемым холодными белыми флуоресцентными лампами, дающими PAR 100 мкмоль/м²/с на высоте стола. Микроразмножение состоит из трех этапов, как определено ниже.

Экспланты фишек первоначально инокулируются на среду индукции и пролиферации (IM) и инкубируются в течение 12-16 недель. На наружных поверхностях тканей чешуйчатого листа зарождаются бульбочки. Зоны здоровых белых тканей чешуекрылых, предпочтительно с недавно зародившимися чешуйками, отделяются от эксплантов и субкультивируются на свежей ИМ.

Субкультивирования коричневеющих тканей следует избегать. Луковиц развиваются путем рутинной субкультуры на свежем ИМ каждые 12-16 недель. После 3-4 пассажей быстро пролиферирующие культуры бульбочек стабилизируются и могут поддерживаться субкультивированием в течение нескольких лет. Метод субкультуры

заключается в разрезании пролиферирующих гроздей луковиц на более мелкие группы, состоящие из 2-6 бульбочек, и инокуляции этих базальных концов в свежую культуральную среду.

Amin K., Beillevaire, D., Mahmoud, E., Hammar, L. Mirdh, A. Froman, G. [3] исследовали взаимодействие GNA с хламидийными ЭБ и его влияние на инфекционность *in vitro*. Аффинность связывания изучалась с помощью лектина '251-GNA. В течение 15 минут было получено около 80% максимального связывания. Взаимодействие хламидий с ГНК ингибировалось α -метилманнозидом, вызывая снижение примерно на 50% при концентрации 1 мМ. Анализ кривых показал, что на ЭБС имеются два типа сайтов связывания ГНК. Сродство к ним различалось в 15 раз. Также было исследовано влияние лектина на способность *Chlamydia trachomatis* инфицировать клетки McCoy.

Исследование показали, что относительно небольшой лектин со строгой специфичностью к терминальным остаткам маннозила связывается с микроорганизмами и вмешивается в процесс, приводящий к инфицированию клетки-хозяина. Вероятно, это связано с маннозой, присутствующей на поверхности ЭБ, возможно, в виде белковых гликоконъюгатов. Являются ли они необходимыми лигандами для адгезии хламидий к клеткам-мишеням или они вмешиваются в более поздний этап инфекционного процесса, еще предстоит выяснить.

Специфичность связывания GNA изучалась путем добавления возрастающих количеств (до 10 мМ) метил α -D-маннопиранозида в анализе связывания ЭБ. Контроли (100% связывание) без сахара проводились параллельно. Это привело к зависимому от концентрации ингибированию. Около 50% связанного лектина могло быть конкурентно вытеснено, и около половины этого максимального ингибирования было получено при 1 мМ метил α -D-маннопиранозида. Клетки WENI 3 связывали менее 1%, тогда как хламидии связывались более 25% от общего количества меченого лектина. Связывание 125I-ГНК с ЭБ было насыщаемым.

В исследованиях A. Tilly-Mándy, E. Jámor-Benczúr and J. Szabo [6] влияние различных цитокининов, ауксинов и различных концентраций сахарозы было изучено на размножение луковиц *Galanthus elwesii*. Луковицы были дезинфицированы 0,3% HgCl_2 и размножены на стартовой среде. Полученные луковицы пересаживались на среду, содержащую BA, кинетин, 2iP, NAA, IBA и 2,4-D в различных комбинациях. Также было проверено влияние концентрации сахарозы. Наибольшее количество луковиц пролиферировало на среде, содержащей 2iP + IBA, но их размер был очень мал, также происходила витрификация.

Размножение луковиц было наилучшим по качеству и количеству на среде, содержащей 2,0 мг/л BA + 2,0 мг/л IBA. 25% луковиц были больше 5 мм в диаметре, пригодных для акклиматизации. С увеличением концентрации сахарозы количество дочерних луковиц уменьшалось, лучшим количеством было 20 г/л сахарозы. Луковицы диаметром более 5 мм акклиматизировались без проблем, но цветение не наступило.

Темновая обработка оказала положительное влияние на формирование луковиц *Galanthus nivalis* 'Flore Pleno' на начальной стадии, при темновой обработке из одного инокулята на среде, содержащей BA и NAA, образовалось 3,33 дочерних луковицы. Лучшие результаты были получены при использовании комбинаций бензиладенина и

индолбутриховой кислоты, если содержание ВА было не ниже ИВА. Скорость размножения достигла 4,09 дочерних луковиц на инокулят на среде 10 и 4,58 луковиц на инокулят на среде 9 в течение 10 недель инкубации.

Процент крупных луковиц (более 5 мм в диаметре) был довольно хорошим на среде 9: 25%. Получено чрезвычайно высокая пролиферация при использовании низкой концентрации 2iP (среда 11). На этой среде большинство луковиц были очень маленькими, 1-3 мм в высоту, а на чешуйках наблюдалась витрификация. При изменении концентрации 2iP и ИВА количество дочерних луковиц уменьшилось, но процент крупных луковиц оставался высоким (30%). Комбинация 2iP и ВА может привести к высокой скорости размножения с большим размером луковиц. Темновая обработка положительно влияла на пролиферацию инокулятов *Galanthus nivalis* 'Flore Pleno'. На среде, содержащей 0,2 мг/л ВА и 2,0 мг/л NAA, получено 2,5 луковицы/инокулум при фотопериоде 16/8 часов, но при темновой обработке этот показатель увеличился до 3,33.

Экспланты *Galanthus elwesii* реагировали на ИВА в культуральной среде с лучшей пролиферацией, чем на NAA. Лучшие результаты были получены при использовании 2,0 мг/л ВА + 2,0 мг/л ИВА. 2,4-D оказывал тормозящее влияние на формирование луковиц. При использовании 0,1 мг/л 2iP среднее количество луковиц выросло до 8 луковиц/инокула в течение 10 недель, но луковицы были маленькими и началась витрификация.

При увеличении количества 2iP количество луковиц уменьшалось. Сочетание 2iP с ВА привело к высокой скорости пролиферации. В случае *Galanthus elwesii* низкая концентрация сахарозы была лучше, чем высокая. Акклиматизация проходила без проблем, возможно, при низкой температуре луковицы могли даже цвести. В результате 4-недельной темновой обработки количество бульбочек было на 24% больше, чем в случае необработанных эксплантов *Galanthus nivalis* 'Flore Pleno'.

Целью наших исследований была разработка эффективных методов размножения луковиц *Galanthus woronowii* L в условиях *in vitro* с добавлением в искусственную питательную среду различных регуляторов роста растений.

Материал для исследований луковицы *Galanthus woronowii* L. был заготовлен на западных отрогах Чаткальского хребта западного Тянь-Шаня в окрестностях селения Сукок Паркентского тумана. В процессе стерилизации потеря эксплантов составил 15-20%. Поэтому в начале экспериментов в чашки Петри были посажены максимальное количество эксплантов *Galanthus woronowii* L. и через 4 месяцев достигнут высокий показатель эмбриогенеза.

Опыты проведены в трех повторностях, в каждом варианте использовали по 4 эксплантов. Под влиянием стимуляторов роста растений в вариантах опыта наблюдался образование луковиц различного размера и различных количеств. Формирование луковиц были различными в различных вариантах опыта где испытывался различные концентрации стимуляторов роста растений. В варианте опыта искусственной среды МС с составом БАП (1мг/л) и НСК (0,1 мг/л) наблюдался 100 % ное образование луковиц.

Образование луковиц в искусственной среде МС с составом БАП (1мг/л) и НСК (0,1 мг/л) среднем в каждом экспланте наблюдался по 3,51 шт. В вариантах опыта при

повышении концентрации цитокинина (БАП) и ауксина (НСК) наблюдался снижение процессов образования лукович.

В искусственной среде МС с составом стимуляторов роста 2 мг/л БАП и 0,2 мг/л НАА наблюдался образование лукович на 65,5%. Наоборот в вариантах опыта в искусственной среде МС с составом гормонов роста НСК и 2,4-Д происходило снижение количеств образованных лукович в каждом экспланте.

1-таблица

Влияние гормонов роста растений на формирование лукович *Galanthus woronowii* L.

Гормоны роста				Формирование лукович, %	Количество лукович в каждом экспланте, дона
БАП	НАА	GA ₃	2,4-Д		
1,0	0,1			95,8±0,10	3,51±0,51
2,0	0,2			65,5±4,70	2,95±0,44
1,0	0,1	0,1		18,5±0,10	1,00±0,10
		2,0		40,0±4,50	1,20±0,31
	0,1		1,0	42,7±5,50	1,37±0,43
	0,2		2,0	35,2±4,00	0,57±0,20

На основании результатов проведенных экспериментов, было доказано что размножение и образование корней *Galanthus woronowii* L. в условиях *in vitro* важное значение имеет наличие и правильный подбор концентрации цитокинина и ауксина в искусственной питательной среде МС.

Выводы:

1. Формирование лукович были различными в различных вариантах опыта где испытывался различные концентрации стимуляторов роста растений. В варианте опыта искусственной среды МС с составом БАП (1мг/л) и НСК (0,1 мг/л) наблюдался 100 % ное образование лукович.

2. Образование лукович в искусственной среде МС с составом БАП (1мг/л) и НСК (0,1 мг/л) среднем в каждом экспланте наблюдался по 3,51 шт. В вариантах опыта при повышении концентрации цитокинина (БАП) и ауксина (НСК) наблюдался снижение процессов образования лукович.

3. В искусственной среде МС с составом стимуляторов роста 2 мг/л БАП и 0,2 мг/л НАА наблюдался образование лукович на 65,5%.

REFERENCES

1. Маляровская В.И., Самарина Л.С., Конинская Н.Г. Индукции ризогенеза *Galanthus woronowii* Losinsk. в культуре *in vitro*. //Научное обеспечение устойчивого развития плодородства и декоративного садоводства, Сочи (23-27 сентября, 2019г.) 2019. –С. 253-257.
2. Маляровская В.И., Самарина Л.С., Рахмангулов Р.С., Конинская Н.Г. Изучение этапов микроразмножения *Galanthus woronowii* Losinsk.// Плодородство и ягодоводство России: Сборник научных работ, Москва, том 55, 2018.–С71-76.
3. Amin, K., Beillevaire, D., Mahmoud, E., Hammar, L. Mirdh, I?–A. & Froman, G. Binding of *Galanthus nivalis* lectin to *Chlamydia trachomatis* and inhibition of *in vitro* infection. –Stockholm, APMIS 103: 1995, –714-720ю

4. Chris Selby , Ioanna Staikidou , Gordon R Hanks and Pippa Hughes SNOWDROPS: DEVELOPING COST-EFFECTIVE PRODUCTION METHODS THROUGH STUDIES OF MICROPROPAGATION, AGRONOMY AND BULB STORAGE. Horticultural Development Council, Boston, 2005. –

5. Marzieh Babashpour-Asl^{1,2}, Hedayat Zakizadeh^{1*} , Hossein Nazemiyeh² , Alireza Motallebi-Azar. //journals.tbzmed.ac.ir/PHARM Pharmaceutical Sciences, Tabriz, 2016, 22, 267-271

6. A. Tilly-Mándy, E. Jámor-Benczúr and J. Szabo Results with the Micropropagation of *Galanthus elwesii* and *Galanthus nivalis* ‘Flore Pleno’ Corvinus University of Budapest Faculty of Horticultural Sciences Department of Floriculture and Dendrology Budapest Hungary, 2006.– 725