УДК 581.143.6:582.736

ОСОБЕННОСТИ МОРФОГЕНЕЗА И РЕГЕНЕРАЦИИ РАСТЕНИЙ В КУЛЬТУРЕ IN VITRO ЛЮПИНА УЗКОЛИСТНОГО

Т.И. ФОМЕНКО, М.К. МАЛЮШ

Центральный ботанический сад Национальной академии наук Беларуси
220012 Минск, ул. Сурганова, 2В

Исследованы особенности морфогенеза тканей гипокотиля, семядольных узлов и незрелых зародышей различных сортов люпина узколистного (*Lupinus angustifolius* L.). Показано, что ткани незрелых зародышей и семядольного узла при культивировании проявляют активный стеблевой органогенез. Менее выраженным морфогенетическим потенциалом обладают ткани гипокотиля. Диапазон оптимальных концентраций БАП для индукции прямого морфогенеза из тканей гипокотиля и семядольного узла находится в пределах 2—4 мг/л. Повышение концентрации БАП до 6 мг/л приводит к увеличению морфогенетического потенциала, но сопровождается развитием аномальных укороченных побегов. Непрямой морфогенез у люпина узколистного затруднен и получен с невысокой частотой только из тканей незрелых зародышей.

Ключевые слова: Lupinus angustifolius L., культура ткани, морфогенез, органогенез, незрелые зародыши, семядольный узел, гипокотиль.

Люпин как возделываемая в Беларуси зернобобовая культура является объектом селекционной работы, направленной на создание сортов с высоким содержанием белка и масла, а также устойчивых к биотическим и абиотическим факторам внешней среды [1]. Наряду с широко применяемыми методами традиционной селекции имеются немногочисленные примеры использования современных биотехнологий для получения трансгенного люпина [4, 6]. Успех в области трансформации генома растений стал возможен благодаря разработке методов культивирования клеток растений in vitro с целью регенерации целого растения из отдельных клеток или тканей.

Морфогенез возможно регулировать с помощью фитогормонов, изменением состава питательных сред, условий культивирования, а также используя виды и сорта, обладающие высоким регенерационным потенциалом в культуре in vitro. Последний фактор особенно важен при проведении работ по культивированию клеток и тканей представителей семейства бобовых, у которых видовые и сортовые особенности проявляются на уровне морфогенетических процессов [9]. Расширение диапазона генотипов, используемых для получения регенерантов in vitro, способствует улучшению селекционного процесса с применением современных биотехнологий. Многочисленные исследования показали, что свойство тотипотентности не всегда реализуется, так как потенциальные возможности клеток разных типов проявляются неодинаково. Поскольку клеточную основу морфогенеза составляет цитодифференциация, то наи-

© Т.И. ФОМЕНКО, М.К. МАЛЮШ, 2010

более мощным индуктором морфогенеза является изменение соотношения между цитокининами и ауксинами, входящими в состав питательных сред. Получение растений-регенерантов возможно через прямой органогенез, соматический эмбриоидогенез, а также непрямым путем из каллюса. Для представителей семейства бобовых регенерация in vitro в значительной степени определяется генотипом, что объясняет актуальность разработки метода регенерации растений применительно к конкретному виду и сорту люпина. Целью наших исследований являлась оценка морфогенетического потенциала различных сортов люпина узколистного (*Lupinus angustifolius* L.) в культуре in vitro.

Методика

Исследования проводили на люпине узколистном (*L. angustifolius*) сортов Липень, Прывабны, Верас, Митан, Миртан, Першацвет, Зеленец. Для введения в культуру in vitro использовали зрелые семена. С целью стерилизации семена в течение 1 мин промывали 70 %-м этанолом, 5 мин 0,4 %-м фунгицидом дитан, 20 мин 0,1 %-м диацидом, после чего четырехкратно — стерильной водой. Семена проращивали в стерильных условиях в течение 3—4 сут при 25 °С. Из полученных проростков вычленяли отрезки гипокотилей длиной ~ 2—3 мм и семядольные узлы. Эксплантаты гипокотилей и семядольных узлов помещали на среду культивирования, содержащую минеральные компоненты и витамины по МС [5], 30 г/л сахарозы, 0,8 % агара и гормоны в соответствии с вариантами, описанными ниже. Культивировали эксплантаты при температуре 25 °С, освещенности 3 клк и 16-часовом фотопериоде.

Для получения незрелых зародышей на опытном участке выращивали растения люпина узколистного исследуемых сортов с применением необходимой агротехники. В процессе вегетации растений на стадии сизого боба отбирали материал для введения в культуру in vitro. Бобы поверхностно промывали мыльным раствором и проточной водой, затем выдерживали 1 мин в 70 %-м растворе этанола. После первичной стерилизации выделяли незрелые семена, которые стерилизовали 5 мин в 0,1 %-м растворе диацида, четырехкратно промывали стерильной водой, затем вычленяли незрелые зародыши с частью семядолей и помещали в чашки Петри на агаризованную питательную среду МС с различным содержанием гормонов. Для индукции морфогенеза использовали среды, содержащие 1—6 мг/л БАП и 0,2 мг/л α-НУК, а также 4 варианта сред для индукции каллюсогенеза: 1) 2 мг/л 2,4-Д, 0,2 мг/л БАП; 2) 1 мг/л 2,4-Д, 0,2 мг/л БАП; 3) 0,5 мг/л 2,4-Д, 0,5 мг/л НУК; 4) 0,5 мг/л 2,4-Д, 0,5 мг/л НУК, 1 мг/л БАП. Культивирование проводили на свету в люминостате при температуре 25 °С, освещенности 3 клк и 16-часовом фотопериоде в течение 4 недель с последующим пассированием на питательные среды. В каждом варианте опыта высаживали по 40—50 эксплантатов в трехкратной повторности. Полученные данные обработаны с помощью компьютерной программы Microsoft Excel. В таблицах представлены среднеарифметические величины и их среднеквадратичные отклонения.

Результаты и обсуждение

Способность различных тканей к регенерации в культуре in vitro находится под генетическим контролем, что было показано для многих ви-

дов растений, включая бобовые [10], поэтому очевидна необходимость исследования морфогенетического потенциала люпина для отбора видов и сортов, которые обладают наиболее выраженной способностью к регенерации растений в культуре in vitro.

В ранее проведенных нами исследованиях четырех видов люпина (*L. polyphyllus*, *L. perennis*, *L. luteus*, *L. angustifolius*) получен прямой органогенез у *L. angustifolius* и *L. polyphyllus*, тогда как регенерация из каллюса наблюдалась только у люпина многолистного [2, 3]. Индукция непрямого органогенеза у многих видов бобовых затруднена, поэтому для получения регенерантов используют меристемы как источник тотипотентных клеток [6]. В настоящих исследованиях использованы сорта, предоставленные Научно-производственным центром по земледелию НАН Беларуси, которые, по данным лаборатории люпина, отличаются по параметрам адаптивной способности и признакам «количество семян на растении», «масса семян с растения» [1].

Нами проведена оценка морфогенного потенциала различных тканей 4 сортов люпина узколистного. Эксплантатами служили различные ткани 3—4-суточных проростков люпина. Ткани гипокотиля и семядольного узла используют в культуре ткани бобовых, поскольку их быстро и несложно вычленить из проростков, что обеспечивает синхронизацию физиологической стадии развития. Оценен морфогенный потенциал тканей гипокотилей и семядольных узлов на среде культивирования МС, содержащей от 2 до 6 мг/л БАП и 0,2 мг/л α-НУК для всех вариантов. Оптимальный уровень развития побегов отмечен на средах с 2 и 4 мг/л БАП. Повышение концентрации в среде культивирования до 6 мг/л приводило к развитию укороченных побегов, хотя по частоте морфогенеза было сопоставимым с вариантом концентрации БАП 4 мг/л (табл. 1).

ТАБЛИЦА 1. Морфогенез эксплантатов гипокотиля и семядольного узла сортов люпина в зависимости от концентрации гормонов и продолжительности культивирования

Сорт	Концентрация гормонов, мг/л	Количество эксплантатов со стеблевым морфогенезом, %			
		Срок культивирования, неделя			
		3		4	
		Гипокотиль	Семядольный узел	Гипокотиль	Семядольный узел
Верас	2 мг/л БАП, 0,2 мг/л α-НУК	0	74,2 ± 5,1	12,5 ± 0,4	100
Прывабны		0	82,3 ± 6,2	10,9 ± 0,4	100
Митан		0	81,0 ± 5,4	19,1 ± 0,5	100
Липень		0	90,4 ± 6,3	13,2 ± 0,4	100
Верас	4 мг/л БАП, 0,2 мг/л α-НУК	0	83,3 ± 5,0	15,8 ± 0,5	100
Прывабны		0	92,0 ± 7,2	12,3 ± 0,6	100
Митан		0	91,1 ± 5,3	20,0 ± 0,6	100
Липень		0	85,2 ± 6,0	15,0 ± 0,5	100
Верас	6 мг/л БАП, 0,2 мг/л α-НУК	0	87,4 ± 5,0	15,2 ± 0,5	100
Прывабны		0	95,2 ± 7,1	16,6 ± 0,6	100
Митан		0	92,0 ± 5,2	23,1 ± 0,5	100
Липень		0	89,1 ± 6,3	18,2 ± 0,4	100

Из эксплантатов семядольных узлов получен прямой стеблевой морфогенез без существенных различий по интенсивности процесса у исследованных сортов (рис. 1, 2). Незначительные различия в развитии эксплантатов проявлялись только на первых этапах культивирования. После культивирования эксплантатов семядольных узлов в течение 3 недель полученные регенеранты переводили на среду элонгации с пониженным до 0,1 мг/л содержанием БАП. Для эксплантатов гипокотиля отмечена более низкая относительно семядольного узла морфогенная активность с наилучшим результатом для сорта Митан (до 23 %). Скорость морфогенетического ответа у эксплантатов гипокотиля значительно отстает от семядольного узла, удлинение срока культивирования не приводит к возрастанию количества эксплантатов гипокотиля со стеблевым морфогенезом.

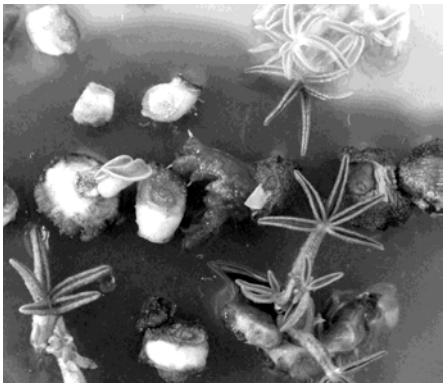

Рис. 1. Морфогенез из тканей гипокотиля и семядольных узлов люпина узколистного сорта Митан на среде культивирования МС, содержащей 2 мг/л БАП, 0,2 мг/л α-НУК

Регенеранты люпина узколистного сортов Верас, Прывабны, Митан, Липень, полученные на средах для индукции регенерации, содержащих 2 мг/л БАП, 0,2 мг/л α-НУК или 2 мг/л БАП, 0,1 мг/л α-НУК, после культивирования в течение 2 недель на среде элонгации МС, содержащей 0,1 мг/л БАП, переносили на среду укоренения (среда МС, содержащая 1 мг/л ИМК). У регенерантов исследованных сортов (Верас, Прывабны, Митан, Липень), полученных из семядольных узлов и гипокотилей, за исключением сорта Митан не удалось индуцировать ризогенез при использовании традиционных подходов, поскольку инициация ризогенеза получена только для сорта Митан и составила не более 5 %.

Укоренение регенерантов люпина узколистного является сложной проблемой, что ранее отмечалось исследователями [8]. Нами показано [2], что среди видов люпинов многолистного (*Lupinus polyphyllus*), многолетнего (*L. perennis*), узколистного (*L. angustifolius*), желтого (*L. luteus*)

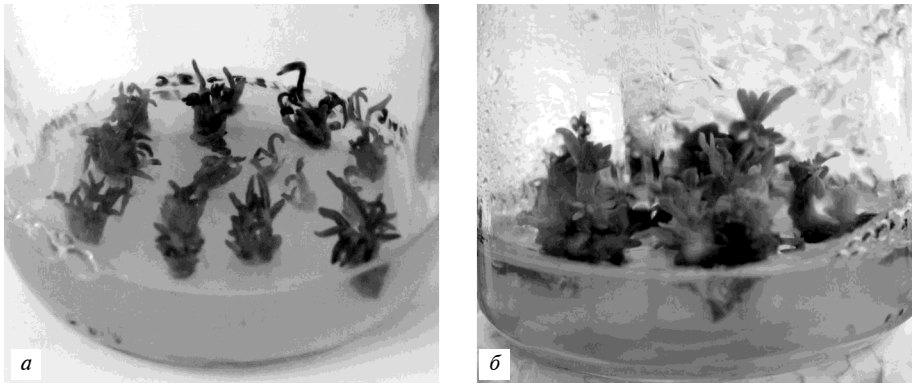

Рис. 2. Регенерация побегов из тканей семядольного узла люпина узколистного сорта Прывабны (*а*) и Липень (*б*) на среде культивирования МС, содержащей 2 мг/л БАП, 0,2 мг/л α-НУК

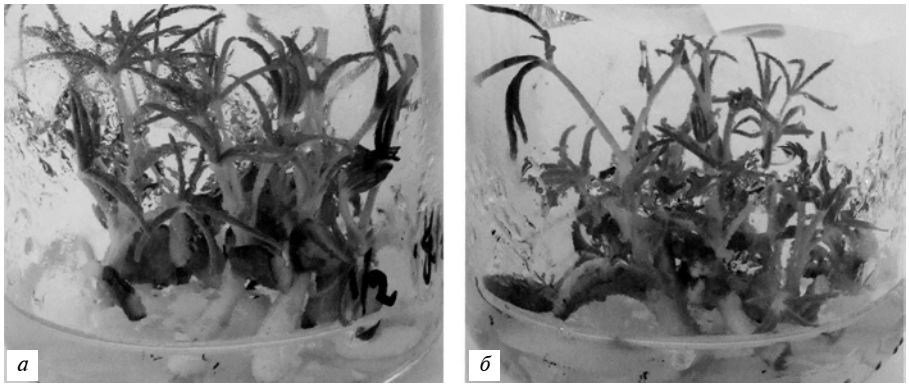

Рис. 3. Ризогенез у регенерантов люпина узколистного сортов Митан (*а*) и Першацвет (*б*)

корнеобразование происходило только у люпина многолистного, у которого и получены укорененные регенеранты. Для люпина узколистного, укоренение которого в культуре in vitro крайне затруднено, предприняты успешные попытки прививки побегов на 14-суточные проростки [6].

Нами исследована возможность индукции ризогенеза у люпина узколистного на среде МС со сниженным вдвое содержанием макросолей и невысоким содержанием БАП (0,1 мг/л). Такой подход предложен Пневски и соавт. [7], которые показали, что культивирование эксплантатов на средах с низким содержанием БАП (ниже 1 мг/л, в отличие от многих работ, где использованы концентрации 1 мг/л и выше) обеспечивает нормальное развитие регенерантов в течение многих пассажей и в начальных пассажах позволяет индуцировать ризогенез. На люпине сортов Митан и Першацвет мы получили положительные результаты. При низкой концентрации цитокинина (0,1 мг/л БАП) укоренение с высокой частотой в первом пассаже наблюдалось для обоих сортов. Однако на среде 1/2 МС, не содержащей гормонов, корни развивались еще активнее (рис. 3). Необходимо продолжение исследований в этом направлении.

Наряду с тканями проростков проведены исследования с использованием незрелых зародышей. Ювенильные ткани незрелых зародышей имеют преимущество по сравнению с дифференцированными тканями растения в связи с более длительным сохранением морфогенетического потенциала в процессе культивирования. Незрелые зародыши для индукции морфогенеза культивировали на средах, содержащих БАП концентрацией 1—6 мг/л и α-НУК 0,2 мг/л.

Оценена частота морфогенеза незрелых зародышей сортов люпина узколистного Першацвет, Миртан, Верас, Прывабны, Митан на средах для индукции морфогенеза (табл. 2). Показано, что развитие эксплантатов на средах с различным содержанием БАП имеет сортовые особенности, которые наиболее ярко проявляются на первой неделе культивирования. Так, сорта Першацвет и Митан отличались достоверно более активным проявлением морфогенетических процессов в интервале концентраций 1—6 мг/л БАП по сравнению с сортами Прывабны, Миртан, Верас. Максимальная частота морфогенеза для сортов Митан и Першацвет отмечена при концентрации БАП 4 мг/л, повышение его концентрации до 6 мг/л приводило к снижению этого показателя у указанных сортов. В процессе культивирования сортовые отличия в

ТАБЛИЦА 2. Влияние концентрации БАП в среде культивирования на морфогенез незрелых зародышей сортов люпина

Сорт	Концентрация гормонов, мг/л	Количество эксплантатов с морфогенезом, %		
		Срок культивирования, неделя		
		1	2	3
Першацвет	1 мг/л БАП, 0,2 мг/л α-НУК	50,1 ± 2,0	85,3 ± 4,2	92,2 ± 4,1
Миртан		31,3 ± 1,2	75,3 ± 3,1	86,7 ± 2,9
Верас		0	39,2 ± 2,2	78,1 ± 3,2
Прывабны		0	45,1 ± 2,4	95,4 ± 3,1
Митан		34,6 ± 1,8	56,2 ± 2,3	96,4 ± 3,5
Першацвет	2 мг/л БАП, 0,2 мг/л α-НУК	61,9 ± 2,7	92,8 ± 3,8	100
Миртан		46,6 ± 2,1	82,4 ± 4,1	94,1 ± 4,2
Верас		15,4 ± 1,4	75,3 ± 2,7	95 ± 5,3
Прывабны		26,3 ± 1,2	75,1 ± 3,2	93,8 ± 4,1
Митан		53,7 ± 1,7	85,6 ± 3,1	94,9 ± 3,2
Першацвет	4 мг/л БАП, 0,2 мг/л α-НУК	71,4 ± 3,1	82,1 ± 2,3	87,7 ± 2,9
Миртан		23,3 ± 1,4	81,2 ± 3,1	96,1 ± 4,2
Верас		16,1 ± 1,3	53,1 ± 2,1	80,2 ± 4,4
Прывабны		35,3 ± 1,2	100	100
Митан		68,2 ± 2,7	76,1 ± 2,4	96,3 ± 4,3
Першацвет	6 мг/л БАП, 0,2 мг/л α-НУК	56,4 ± 2,2	82,6 ± 3,3	93,7 ± 3,8
Миртан		13,8 ± 0,9	86,7 ± 3,1	85,5 ± 4,1
Верас		10,7 ± 1,4	56,5 ± 2,2	79,2 ± 3,3
Прывабны		32,3 ± 1,2	89,4 ± 2,4	95,1 ± 4,2
Митан		55,4 ± 1,1	95,2 ± 2,8	94,7 ± 3,7

развитии эксплантатов нивелируются к 4-й неделе и морфогенез приближается к 80—100 % у всех сортов.

Отмечена зависимость количества развившихся побегов от концентрации БАП, проявившаяся у всех сортов. Так, при концентрации 1 мг/л БАП и 0,2 мг/л α-НУК на эксплантате развивалось 3—5 побегов, а при 4 и 6 мг/л БАП число побегов достигало 15—17.

При дальнейшем культивировании на аналогичных средах проводили вычленение семядольных узлов, что способствовало активизации процессов множественного побегообразования в зоне апикальной меристемы и активизации развития побегов из латеральных меристем. Если во втором пассаже лучшее развитие побегов у всех исследованных сортов было при концентрации БАП 4 и 6 мг/л, то при длительном пассировании культуры наиболее приемлемой оказалась концентрация БАП 2 мг/л, поскольку поддержание культуры при высоких концентрациях приводило к развитию аномальных побегов.

На тканях незрелых зародышей люпина узколистного сортов Миртан, Першацвет, Прывабны, Липень и Зеленец показано, что среды, содержащие БАП, способствуют развитию первичных меристем и быстрому получению множественных побегов. На средах для морфогенеза с высоким содержанием БАП на эксплантатах с фрагментами семядолей

наблюдали побегообразование из пазушных меристем с наибольшей выраженностью этого процесса у сортов Митан и Прывабны. Проведенная оценка морфогенетического потенциала незрелых зародышей 5 сортов люпина узколистного на морфогенных средах с различным уровнем цитокинина позволила сделать вывод о большей перспективности использования сортов Митан и Першацвет для морфогенеза в культуре in vitro. Стеблевой органогенез, полученный из незрелых зародышей люпина сорта Липень на среде инициации МС, содержащей 4 мг/л БАП и 0,1 мг/л α-НУК, поддерживали в течение года на средах с концентрацией БАП 2—4 мг/л. Активное множественное побегообразование также наблюдали при содержании БАП 6 мг/л.

Для анализа возможности непрямого морфогенеза из незрелых зародышей исследовали каллюсы, полученные на средах, содержащих 2,4-Д и α-НУК: 1) 2 мг/л 2,4-Д, 0,2 мг/л БАП; 2) 1 мг/л 2,4-Д, 0,2 мг/л БАП; 3) 0,5 мг/л 2,4-Д, 0,5 мг/л НУК; 4) 0,5 мг/л 2,4-Д, 0,5 мг/л НУК, 1 мг/л БАП. Показано, что развитие эксплантатов незрелых зародышей сортов люпина узколистного Миртан, Першацвет, Липень, Зеленец на таких средах идет по пути каллюсогенеза с подавлением прямого морфогенеза из меристематических тканей. Культивирование зародышей без фрагментов семядолей на средах для каллюсообразования, содержащих 0,5, 1 и 2 мг/л 2,4-Д, приводит к развитию каллюса, в то время как наличие тканей семядоли обусловливает пролиферацию клеток эксплантата и ослабление каллюсогенеза. Однако каллюс, полученный в этих экспериментах, не проявил морфогенной реакции при переносе на среды для инициации морфогенеза, поэтому мы использовали другой методический подход, при котором незрелые зародыши культивировали в течение 1 мес на среде МС для индукции морфогенеза, содержащей 4 мг/л БАП и 0,1 мг/л α-НУК. Развившиеся зародыши использовали для получения эксплантатов гипокотилей, высаженных на два варианта сред МС для индукции каллюсогенеза, содержащих 4 мг/л 2,4-Д, 0,1 мг/л кинетина и 3 мг/л 2,4-Д, 0,3 мг/л кинетина. Полученный каллюс пассировали на морфогенную среду, содержащую 4 мг/л БАП, 0,1 мг/л α-НУК. Из четырех исследованных сортов (Митан, Миртан, Першацвет, Прывабны) с использованием двух сред инициации каллюсогенеза (4 мг/л 2,4-Д, 0,1 мг/л кинетина и 3 мг/л 2,4-Д, 0,3 мг/л кинетина) на каллюсной ткани сорта Першацвет получен непрямой органогенез с частотой ~ 7 % (рис. 4). Среда инициации каллюсной ткани этого варианта содержала 3 мг/л 2,4-Д, 0,3 мг/л кинетина.

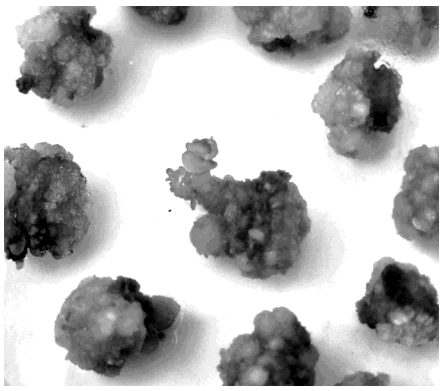

Рис. 4. Органогенез из каллюсной ткани незрелых зародышей люпина сорта Першацвет на среде МС, содержащей 4 мг/л БАП, 0,1 мг/л α-НУК (среда инициации 3 мг/л 2,4-Д, 0,3 мг/л кинетина)

Оценивая возможность непрямого морфогенеза из каллюсной ткани незрелых зародышей, следует отметить сложность протекания этого процесса у большинства сортов люпина узколистного, а также преимущество тканей незрелых зародышей по сравнению с тканями проростков.

Таким образом, проведенные исследования сортов люпина узко-

листного позволили оценить морфогенный потенциал различных тканей проростков и незрелых зародышей. Установлены сортовые отличия по степени выраженности морфогенетических процессов различных тканей. Отмечено преимущество тканей семядольного узла по частоте морфогенетических процессов по сравнению с тканями гипокотиля. Исследована зависимость частоты морфогенеза от содержания БАП в среде культивирования. Оптимальными концентрациями БАП оказались 2 и 4 мг/л. В культуре in vitro незрелых зародышей люпина узколистного показано, что среды, содержащие БАП, обеспечивают развитие первичных меристем и быстрое получение множественных побегов. Метод культуры ткани незрелых зародышей позволяет значительно активизировать морфогенные процессы с более выраженными показателями развития по сравнению с семядольным узлом проростков. Наиболее активная инициация морфогенетических процессов отмечена для незрелых зародышей сорта Першацвет. Показано, что наибольшие отличия в инициации морфогенетических процессов в первом пассаже проявляются в первые 2 недели культивирования на средах с концентрацией БАП 2—6 мг/л, поскольку к концу 3-й недели у большинства эксплантатов развивался стеблевой морфогенез. Отмечено также влияние генотипа на активность морфогенетических процессов в культуре ткани незрелых зародышей люпина с наилучшими показателями у сортов Першацвет и Митан. Культура ткани незрелых зародышей перспективная для получения прямого стеблевого органогенеза из меристематических тканей. Возможность использования каллюса для морфогенеза ограничена сложностью непрямого органогенеза в культуре ткани люпина.

1. *Купцов Н.С.* Будущее люпина — маслично-белковые сорта // Материалы Междунар. науч.-практ. конф. «Проблемы и пути повышения эффективности растениеводства в Беларуси», посвященной 80-летию образования Института земледелия. — Минск, 2007. — С. 186—187.
2. *Решетников В.Н., Фоменко Т.И., Малюш М.К.* Каллусогенез люпина (*Lupinus*). Биохимическая характеристика каллусной ткани // Весці НАН Б. — 1999. — № 4. — С. 5—11.
3. *Фоменко Т.И., Малюш М.К.* Оценка морфогенного потенциала различных тканей люпина (*Lupinus angustifolius* L.) в культуре in vitro // Там же. — 2008. — № 4. — С. 2.
4. *Molvig L., Tabe L.M., Eggum B.O. et al.* Enhanced methionine levels and increased nutritive value of seeds of transgenic lupins (*Lupinus angustifolius* L.) expressing a sunflower seed albumin gene // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. — 1997. — **94**. — P. 8393—8398.
5. *Murashige T., Skoog F.* A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // Physiol. Plant. — 1962. — **15**. — P. 473—497.
6. *Pigeaire A., Abernethy D., Smith P.M. et al.* Transformation of a grain legume (*Lupinus angustifolius* L.) via *Agrobacterium tumefaciens*-mediated gene transfer to shoot apices // Mol. Breed. — 1997. — **3**. — P. 341—349.
7. *Pniewski T., Kapusta J., Legocki A.B.* In vitro micropropagation of four lupin species // Acta Physiol. Plant. — 2002. — **24**, N 4. — P. 417—424.
8. *Sator C.* Studies on shoot regeneration of lupinus (*Lupinus* spp.) // Plant Cell Rep. — 1985. — **4**. — P. 126—128.
9. *Zgagacz E.S., Rybczynski J.J.* Difference in vitro responses of three species of lupin // J. Appl. Genet. — 1996. — **37A**. — P. 133—135.
10. *Wan Y., Sorensen E.L., Liang G.* Genetic control of in vitro regeneration in alfalfa (*Medicago sativa* L.) // Euphytica. — 1988. — **39**. — P. 3—9.

Получено 12.05.2009

ОСОБЛИВОСТІ МОРФОГЕНЕЗУ І РЕГЕНЕРАЦІЇ РОСЛИН У КУЛЬТУРІ IN VITRO ЛЮПИНУ ВУЗЬКОЛИСТОГО

Т.І. Фоменко, М.К. Малюш

Центральний ботанічний сад Національної академії наук Білорусі, Мінськ

Досліджено особливості морфогенезу тканин гіпокотиля, сім'ядольних вузлів і незрілих зародків різних сортів люпину вузьколистого (*Lupinus angustifolius* L.). Показано, що тканини незрілих зародків і сім'ядольного вузла під час культивування виявляють активний стебловий органогенез. Менш виражений морфогенетичний потенціал у тканин гіпокотиля. Діапазон оптимальних концентрацій БАП для індукції прямого морфогенезу із тканин гіпокотиля і сім'ядольного вузла знаходиться в межах 2—4 мг/л. Підвищення концентрації БАП до 6 мг/л зумовлює збільшення морфогенетичного потенціалу, але супроводжується розвитком аномальних укорочених пагонів. Непрямий морфогенез у люпину вузьколистого ускладнений і отриманий з невисокою частотою тільки із тканин незрілих зародків.

MORPHOGENESIS PECULIARITY AND PLANT REGENERATION IN VITRO CULTURE OF NARROW-LEAFED LUPIN (*LUPINUS ANGUSTIFOLIUS* L.)

T.I. Fomenko, M.K. Maljush

Central Botanical Garden, National Academy of Sciences of Belarus
2B Surganova St., Minsk, 220012, Belarus

It was shown the peculiarity of morphogenesis processes for different narrow-leafed lupin cultivars. Primary shoot morphogenesis was obtained on some narrow-leafed lupin cultivars on medium, containing 1—6 mg/l BAP. Immature embryos tissue calli- and morphogenic activity in vitro culture of narrow-leafed lupin cultivars was investigated and development on culture medium with various hormones concentration and combination was estimated. It was shown the perspective of shoot primary organogenesis from immature embryos meristem tissues of all investigated narrow-leafed lupin cultivars.

Key words: Lupinus angustifolius L., tissue culture, morphogenesis, organogenesis, immature embryos, cotyledon node, hypocotyl.