РЕГЕНЕРАЦИЯ РАСТЕНИЙ ЧЕСНОКА ОЗИМОГО (*ALLIUM SATIVUM* L.) IN VITRO ИЗ ВОЗДУШНЫХ ЛУКОВИЧЕК

REGENERATION OF WINTER GARLIC PLANTS (*ALLIUM SATIVUM* L.) IN VITRO FROM BULBILS

Поляков А.В., доктор биол. наук, проф., зав. отделом биотехнологии и инновационных проектов
Азопкова М.А., кандидат с.-х. наук, н.с.
Лебедева Н.Н., н.с.
Муравьева И.В., м.н.с.

Polyakov A.V., Doctor of biological sciences, professor, Head of biotechnological department and innovative projects
Azopkova M.A., PhD, research associate
Lebedeva N.N., research associate
Muraveva I.V., junior researcher

Всероссийский научно-исследовательский институт овощеводства – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр овощеводства»
140153, Россия, Московская обл., Раменский р-н, д. Верей, стр. 500
E-mail: vniioh@yandex.ru, vita100plus@yandex.ru

The All-Russian Research Institute of Vegetable Growing – branch of Federal public budgetary scientific institution "Federal Scientific Vegetable Center"
140153, Russia, Moscow region, Ramensky district, Verey, 500
E-mail: vniioh@yandex.ru, vita100plus@yandex.ru

Чеснок – исключительно вегетативно размножаемое растение, которое подвержено заражению многочисленными вирусными, бактериальными, грибными и другими фитопатогенами. При размножении пораженных растений фитопатогены передаются потомству, что приводит к снижению урожайности, потере качества, лёжкостойкости и часто вырождению сортов. В связи с этим оздоровление посадочного материала является необходимым условием в современных технологиях производства чеснока. В статье представлена экспериментально обоснованная технология получения оздоровленного посадочного материала чеснока озимого, основанная на культивировании *in vitro* воздушных луковичек на среде MS, содержащей БА в концентрации 2 мг/л и НУК – 1 мг/л, с последующим образованием проростков, а затем растений, в основании которых формируются луковички. Установлено, что применение ступенчатой стерилизации воздушных луковичек, изолированных из нераскрывшихся соцветий диаметром до 25 мм, для введения в культуру *in vitro* позволяет получить свободные от внутренней инфекции растения. Одним из важных факторов, влияющих на эффективность индукции морфогенеза, является генотип растения. Высокий морфогенетический потенциал в культуре *in vitro* был характерен для сорта Император, который существенно превосходил сорт Гладиатор на всех этапах культивирования. Доля жизнеспособных эксплантов сорта Император составляла 74,2%, а сорта Гладиатор – 56,3%. Морфогенез воздушных луковичек в условиях *in vitro* зависит от их возраста. Доля жизнеспособных микролуковичек с листьями, образовавшихся при культивировании воздушных луковичек в течение 21 суток, изолированных на 7 сутки с момента выхода соцветий из листовых розеток, в зависимости от сорта составляла 65,0% и 76,4%. Культивирование воздушных луковичек более старшего возраста сопровождалось их 100%-ным ростом с образованием листьев и микролуковичек. Адаптация таких растений к условиям *ex vitro* сопровождается получением однозубковых лукович, из которых в условиях открытого грунта образуются многозубковые луковичи. Культивирование растений *in vitro* на питательной среде, содержащей сахарозу в концентрации 10%, дает возможность сохранить жизнеспособность материала в течение 5-6 месяцев.

Ключевые слова: *Allium sativum* L., чеснок озимый, соцветие, воздушная луковичка, клональное микроразмножение, питательная среда, регулятор роста, каллус, эксплант, регенерант, укоренение, адаптация, оздоровленный посадочный материал.

Для цитирования: Поляков А.В., Азопкова М.А., Лебедева Н.Н., Муравьева И.В. РЕГЕНЕРАЦИЯ РАСТЕНИЙ ЧЕСНОКА ОЗИМОГО (*ALLIUM SATIVUM* L.) IN VITRO ИЗ ВОЗДУШНЫХ ЛУКОВИЧЕК. Овощи России. 2018; (4): 20-25. DOI:10.18619/2072-9146-2018-4-20-25

Garlic is exclusively vegetatively propagated plant which damaged by numerous virus, bacterial, fungus and other phytopathogens. Under propagation of damaged plants phytopathogens are transferred to progeny that leads to decrease in productivity, loss of quality, storability and frequently to degeneration of cultivars. In this regard improvement of landing material is obligate stage of the modern technologies of garlic production. Experimentally reasonable technology of the obtaining revitalized landing material of winter garlic based on *in vitro* cultivation of air bulbils on MS medium containing BA in concentration of 2 mg/l and NAA – 1 mg/l, which followed by formation of sprouts and then plants with bulbils is presented in the article. It is established that application of graduated sterilization of air bulbils isolated from not revealed inflorescences with diameter up to 25 mm for introduction in vitro culture allows to obtain plants free of internal infections. One of important factors influencing effectiveness of induction of morphogenesis is the plant genotype. Cultivar Emperor was characterized by high morphogenetic potential in vitro culture which significantly surpassed cultivar Gladiator at all stages of cultivation. The share of vital explants of Emperor cultivar consisted of 74,2%, and Gladiator cultivar – 56,3%. The morphogenesis of air bulbils in vitro conditions depends on their age. The share of vital micro bulbils with leaves formed under cultivation of air bulbils within 21 days isolated on 7th day after of exit of inflorescences from leaf sockets in depending on cultivar consisted of 65,0% and 76,4%. Cultivation of air bulbils of more old age is followed by their 100% growth with formation of leaves and microbulbs. Adaptation of such plants to *ex vitro* conditions is followed by obtaining monoclove bulbs cultivation of which in the open ground conditions led to formation of polyclove bulbs. Cultivation of plants in vitro on the medium containing sucrose in concentration of 10% gives the chance to keep viability material within 5-6 months.

Keywords: *Allium sativum* L., winter garlic, inflorescence, bulbil, clonal micropropagation, medium, growth regulator, callus, explant, regenerant, rooting, adaptation, revitalized plant material.

For citation: Polyakov A.V., Azopkova M.A., Lebedeva N.N., Muraveva I.V. REGENERATION OF WINTER GARLIC PLANTS (*ALLIUM SATIVUM* L.) IN VITRO FROM BULBILS Vegetable crops of Russia. 2018;(4):20-25. (In Russ.) DOI:10.18619/2072-9146-2018-4-20-25

Введение

Чеснок посевной (*Allium sativum* L.) является ценной овощной и лекарственной культурой, которая широко применяется в питании человека и фармацевтической промышленности. Ценность чеснока определяется его уникальным химическим составом.

В нем содержатся витамины, биологически активные вещества, такие как флавоноиды, стероидные сапонины и др. (Пивоваров В.Ф., Ершов И.И., Агафонов А.Ф., 2001). Он обладает высокими бактерицидными и антиоксидантными свойствами (Зеленков В.Н., Лапин А.А., Поляков А.В., 2016), харак-

теризуется способностью накапливать высокие концентрации таких эссенциальных элементов, как селен (Голубкина Н.А., Никульшин В.П., Хрынина Ю.А., 2007) и германий (Поляков А.В., Алексеева Т.В., 2018).

Чеснок – вегетативно размножаемое растение. В связи с этим он под-

вержен многочисленным вирусным, бактериальным, грибным и другим инфекциям, которые передаются потомству, что приводит к снижению урожайности, потере качества, лежкоспособности и часто вырождению сортов (Кокарека Н.Н., Плешакова Т.И., 2013; Поляков А.В., 2014, 2015). Поэтому оздоровление посадочного материала этого вида культурного растения является необходимым условием в современных технологиях семеноводства чеснока.

Многочисленными исследованиями установлена возможность получения оздоровленного посадочного материала различных видов растений при использовании *in vitro* технологий (Бутенко Р.Г., 1964, 1999; Шевелуха В.С. и др., 2008; Поляков, А.В., 2005; Деменко В.И., 2007). На чесноке показано, что использование культуры *in vitro* способствовало получению 76,5% растений, у которых концентрация вируса GarCLV и 41,2% растений с концентрацией вируса OYDV ниже порогового значения. При этом установлено, что использование Рибавирина в концентрации 10 мг/л в составе питательной среды приводит к подавлению вируса GarCLV у 94,1% и вируса OYDV у 47% растений-регенерантов до концентрации ниже порогового значения (Никонович Т.В. и др., <http://www.allbest.ru>). М. Иби с соавторами установили отсутствие вируса мозаики на растениях, полученных *in vitro* из незрелых воздушных луковичек диаметром около 0,4 мм (Ebi M. et al., 2000).

В литературе имеются данные об использовании различных частей и органов растений чеснока в качестве эксплантов в условиях *in vitro*. Так, С.С. Ким с соавторами использовали листья, полученные *in vitro* (Kim S.S. et al., 2003), М. Салам с соавторами (Salam M. et al., 2008) – цветки, Дж. Зел с соавторами (Zel J. et al., 1997) – базальные сегменты зубков, И.Я. Марьяхина (1987), Г.Б. Тюкавин (1989), Х. Мюжика с соавторами (Mujica H. et al., 2008), М.Н. Хассан с соавторами (Hassan M.N. et al., 2014) – апикальные меристемы, М.С. Хакуи (Haque M.A., 2003), Т.В. Ивченко, Т.И. Виценя (2009), А.В. Поляков, А.В. Зубаили, Т.А. Линник (2015) – воздушные луковички. В этих исследованиях показана высокая эффективность использования питательной среды MS (Murashige T., Skoog F., 1962), обогащенной 6-бензиладенином (БА) и а-нафтилуксусной кислотой (НУК) в различных концентрациях и сочетаниях.

В связи с этим целью исследований являлась разработка технологии массового получения оздоровленного посадочного материала чеснока озимого при использовании воздушных луковичек чеснока озимого в условиях *in vitro* культивирования.

Материалы и методы

Основные исследования проведены во ВНИИО – филиале ФНЦО (д. Верей,

Раменского района, Московской области) на воздушных луковичках (бульбочках) чеснока озимого сортов Гладиатор и Император.

Сорт Гладиатор включен в Госреестр РФ с 2011 года. Сорт среднеспелый, длина вегетационного периода 90-98 суток, стрелкующийся. Ценность сорта: высокая зимостойкость, высокая лежкоспособность, высокая урожайность.

Сорт Император включен в Госреестр РФ с 2016 года, создан методом клонового отбора из сорта Гладиатор. Отличается повышенной массой воздушных луковичек, способностью формировать многозубковую луковицу в течение двух сезонов.

При изучении разнообразия чеснока по числу и массе воздушных луковичек использовали, кроме вышеуказанных сортов такие клоны, как Мещера, ПАВ 16, Вита 17, Вита 12, Китайский 1, Китайский 2 и др.

Лабораторные исследования проведены в соответствии с «Методическими указаниями по культуре ткани и органов в селекции растений» (Бутенко Р.Г., 1964 и 1999), по методическим рекомендациям «Получение регенерантов овощных культур и их размножение *in vitro*» (Поляков А.В., 2005).

Для введения *in vitro* применяли ступенчатую стерилизацию. Соцветия промывали в мыльном растворе в течение 2-х часов, затем 30 мин в 1% растворе марганцовокислого калия, затем – в 70%-ом растворе этанола в течение 30 с, затем стерилизовали в 1,0%-ом растворе гипохлорита натрия в течение 20 мин, после чего трижды промывали стерильной водой в течение 20 мин.

Воздушные луковички высаживали на среду MS, содержащую регуляторы роста в различных концентрациях: 6-бензиладенин (БА) 1 мг/л; БА 2 мг/л в сочетании с а-нафтилуксусной кислотой (НУК) 0,1 мг/л. Экспланты и транспланты культивировали при постоянной температуре 20°C, освещенности 5000 люкс и 16/8 часовом фотопериоде. В зависимости от этапа длительность культивирования составляла 21-56 суток.

При культивировании органов и тканей *in vitro* отмечали долю жизнеспособных эксплантов, рост луковичек и листьев, а также образование корней и каллусной ткани.

Растения-регенеранты высаживали в таблетки «Jeffi». При учетах отмечали долю выживших растений, рост луковичек и листьев, а также образование корней.

Агротехника на опытном участке применена согласно «Методике опытного дела в овощеводстве и бахчеводстве» (Белик В.Ф., 1992).

При обработке экспериментальных данных использовали общепринятые математико-статистические методы (Доспехов Б.А., 1985; Литвинов С.С., 2011).

Результаты и их обсуждение

Анализ соцветий сортов и клонов чеснока озимого показал, что по числу

и массе воздушных луковичек у образцов чеснока озимого наблюдаются большие различия. Так, у клона ПАВ 16 число воздушных луковичек в одном соцветии было почти в 10 раз меньше, чем у клона Мещера. При этом, число воздушных луковичек в среднем у клона ПАВ 16 составляло 28,5 шт., а у клона Мещера – 282,2 шт. По массе воздушных луковичек различия были еще большими. Масса воздушных луковичек у клона ПАВ 16 составила 0,48 г, а у клона Мещера – 0,02 г (табл. 1).

Одним из наиболее важных факторов, влияющих на эффективность индукции морфогенеза, является генотип растения. Различия по отзывчивости в культуре *in vitro* наблюдали у различных видов и сортов растений. Изменением этого фактора можно существенно повысить эффективность регенерации растений в интересах хозяйственной деятельности человека.

Проведенные нами исследования показали, что изучаемые сорта чеснока озимого характеризуются высоким морфогенетическим потенциалом и по жизнеспособности в культуре *in vitro* сорт Император существенно превосходит сорт Гладиатор на всех этапах культивирования. Так, доля жизнеспособных эксплантов сорта Император составляла 74,2%, а сорта Гладиатор – 56,3%. При этом на 21 сутки культивирования воздушных луковичек на питательной среде MS, содержащей БА в концентрации 2 мг/л и НУК – 0,1 мг/л, образовалось 77,8% и 79,3% микролуковичек с листьями (табл. 2).

При культивировании воздушных луковичек сорта Гладиатор на питательной среде с различными концентрациями регуляторов роста установлено, что в варианте с содержанием БА 2 мг/л и НУК 0,1 мг/л доля листьев с микролуковичками составляла 88,0%, что на 8,7% выше по сравнению с другим вариантом (табл. 3).

Морфогенез воздушных луковичек в условиях *in vitro* зависит от их возраста. В наших исследованиях доля жизнеспособных микролуковичек с листьями, образовавшихся при культивировании воздушных луковичек в течение 21 суток, изолированных на 7 сутки с момента выхода соцветий из листовых розеток, что соответствует диаметру воздушных луковичек, близкому к 0,4 мм, составляла 65,0% и 76,4% в зависимости от сорта. Культивирование воздушных луковичек более старшего возраста сопровождается их 100%-ным ростом с образованием листьев и микролуковичек (табл. 4).

При культивировании воздушных луковичек, изолированных на 7, 14 и 21 сутки с момента выхода стрелки из листовых пазух, средняя длина листа составляла от 45,0 мм до 75,0 мм, средний размер микролуковичек – от 4 до 5 мм.

Для дальнейшего роста микролуковички были пересажены на питательную среду с уменьшенной в два и четыре раза концентрацией БА и отсутствием НУК.

Таблица 1. Число воздушных луковичек в соцветиях чеснока озимого
Table 1. Number of air bulbils in inflorescences of winter garlic

Сорт, клон	Проанализировано соцветий	Число воздушных луковичек в соцветии		Масса воздушной луковички
		ср.	размах варьирования	
	шт.	шт.	шт.	г
Гладиатор	25	78,5	59-98	0,10
Император	38	69,3	58-87	0,12
Мещера	41	282,2	212-341	0,02
ПАВ 16	27	28,5	22-40	0,48
Вита 17	21	47,8	27-49	0,16
Вита 12	19	39,7	31-54	0,21
Китайский 1	32	92,0	78-121	0,06
Китайский 2	29	101,2	83-114	0,06

Таблица 2. Регенерационная активность воздушных луковичек чеснока озимого *in vitro*, 21 сутки культивирования, среда MS, содержащая БА 2 мг/л и НУК – 0,1 мг/л, 2015-2017 гг.
Table 2. Regeneration activity of air bulbils of winter garlic *in vitro*, 21 day of cultivation, MS medium containing BA 2 mg/l and NAA – 0,1 mg/l, 2015-2017

Сорт	Изучено эксплантов, шт.	Получено жизнеспособных эксплантов		Воздушные луковички, образовавшие					
				листья с каллусом		листья без микролуковички		листья с микролуковичкой	
		шт.	%±2Sp	всего	%	всего	%±2Sp	всего	%±2Sp
Гладиатор	2400	1350	56,3±2,7	0	0	300	22,2±4,8	1050	77,8±2,6
Император	2325	1725	74,2±2,1	0	0	375	21,7±4,2	1350	79,3±2,2

Таблица 3. Регенерационная активность воздушных луковичек при культивировании *in vitro* на разных вариантах среды, сорт Гладиатор
Table 3. Regeneration activity of air bulbils under cultivation *in vitro* on different variants of medium, Gladiator cultivar

Вариант среды	Изучено эксплантов, шт.	Получено жизнеспособных эксплантов		Образовалось			
				листьев без микролуковички		листьев с микролуковичкой	
		шт.	%±2Sp	шт.	%±2Sp	шт.	%±2Sp
БА 1 мг/л	2325	1725	74,2±1,8	375	21,7±4,2	1350	79,3±2,2
БА 2 мг/л, НУК 0,1 мг/л	2400	1875	78,1±1,7	225	12,0±4,3	1650	88,0±1,6

Таблица 4. Эффективность использования воздушных луковичек разного возраста для индукции роста микролуковичек в условиях *in vitro*, среда MS, содержащая БА 2 мг/л и НУК - 0,1 мг/л, n=400 шт., 2015-2017 годы
Table 4. Effectiveness of air bulbil use of different age for induction microbulb growth in vitro conditions, MS medium containing BA 2 mg/l and NAA - 0,1 mg/l, n=400 pieces, 2015-2017

Сорт	Возраст воздушных луковичек, сут.	Образовалось, шт.			
		листьев без микролуковички		листьев с микролуковичкой	
		всего	%	всего	%
Гладиатор	7	140	35,0±3,2	260	65,0±2,7
	14	0	0	400	100
	21	0	0	80	100
Император	7	94	23,5±3,2	306	76,4±2,7
	14	0	0	400	100
	21	0	0	80	100

Таблица 5. Характеристика микролуковичек чеснока озимого, образовавшихся в условиях *in vitro*, на 21 сутки культивирования
Table 5. The characteristic of microbulbs of winter garlic formed in vitro conditions, on 21 day of cultivation

Вариант среды MS	Вариант среды 2-го пассажа	Проанализировано микролуковичек, шт.	Число корней на 1 микролуковичку, шт.	Длина корня, см	Число листьев на 1 микролуковичку, шт.	Длина листа, см
сорт Гладиатор						
БА 2 мг/л, НУК 0,1 мг/л	БА 0,5 мг/л	137	2,0	1,5	2,0	4,5
	БА 1 мг/л	145	1,6	1,0	2,0	5,0
сорт Император						
БА 2мг/л, НУК 0,1 мг/л	БА 0,5 мг/л	140	1,8	1,4	2,0	5,5
	БА 1 мг/л	145	1,3	0,9	2,0	6,5

Таблица 6. Влияние концентрации сахарозы на рост растений чеснока озимого *in vitro*
Table 6. Influence of sucrose concentration on plant growth of winter garlic in vitro

Концентрация сахарозы, %	Проанализировано растений-регенерантов, шт.	Диаметр микролуковички, мм	Лист		Корень	
			число, шт.	длина, см	число, шт.	длина, см
сорт Гладиатор						
3	36	2,6±0,9	2,6±1,0	4,1±1,2	6,1±2,6	3,5±1,5
5	32	2,3±1,1	2,0±0,9	3,2±1,5	5,2±2,0	3,2±1,0
7,5	28	1,6±0,9	1,6±0,5	2,3±1,3	4,3±1,8	2,3±1,3
10	34	2,0±1,1	1,3±0,5	1,4±0,6	3,4±2,0	1,4±0,8
сорт Император						
3	39	2,1±0,7	2,6±0,9	5,1±1,6	7,1±1,6	4,1±1,6
5	42	2,6±0,8	2,6±0,9	7,2±2,5	8,4±2,3	5,2±2,0
7,5	38	2,2±1,0	1,6±0,7	2,3±1,0	3,3±1,3	3,3±1,0
10	41	2,0±1,1	0,8±0,5	1,0±0,5	2,4±0,6	2,4±0,6

Рисунок 1.
Соцветие чеснока озимого
сорта Гладиатор.

Рисунок 2.
Однозубковые луковички
чеснока озимого сорта Гладиатор.

Рисунок 3.
Зубки чеснока озимого
сорта Гладиатор.

Рисунок 4.
Морфогенный каллус чеснока озимого,
полученный из воздушных луковичек, изолиро-
ванных из соцветий диаметром около 10 мм.

Рисунок 5.
Проростки чеснока озимого, полученные
из воздушных луковичек, изолированных
из соцветий диаметром 10 мм.

Рисунок 6.
Луковичка чеснока озимого,
образовавшаяся *in vitro*.

Рисунок 7.
Растения чеснока озимого,
полученные *in vitro*.

Рисунок 8.
Растения чеснока озимого,
полученные *in vitro* в полевых условиях.

Рисунок 9.
Луковички и зубки чеснока озимого сорта
Император.

Установлено, что оба варианта среды дают близкие результаты и позволяют получить при культивировании в течение 21 суток в среднем 1-2 корня длиной 1-1,5 см и 2 листа длиной 4,5-6,5 см в пересчете на 1 микролуковичку (табл. 5).

Известно, что наиболее эффективным источником углерода для культур клеток и тканей чаще всего служит сахароза. К сожалению, растительные культуры *in vitro* не могут синтезировать необходимое для их нормального развития количество сахаров, поэтому в питательные среды добавляют сахарозу. Для повышения активности образования корней и роста листьев у растений чеснока, полученного из воздушных луковичек в условиях *in vitro*, нами было исследовано влияние сахарозы в концентрации 3, 5, 7 и 10%.

Установлено, что содержание сахарозы в питательной среде в концентрации 3% и 5%, позволяет получить 2,0-2,6 листа длиной 3,2 см и 7,2 см, 5,2-8,4 корня длиной 3,2-5,2 см и микролуковички диаметром 2,1-2,6 мм (табл. 6). Установлено, что

применение сахарозы в концентрации 10% дает возможность сохранить жизнеспособность растительного материала в течение 5-6 месяцев.

Следует отметить, что культивирование микролуковичек в течение 5-8 недель на беспересадочной среде приводит к дальнейшему их росту и образованию микролуковичек массой до 1,0-1,5 г. Однако, как правило, использование такой технологии сопровождается формированием микролуковичек с пониженной жизнеспособностью, для улучшения качества которых нужны последующие исследования.

Более перспективной с позиций сегодняшнего дня является технология, основанная на *in vitro* регенерации растений, с последующей адаптацией их к условиям *ex vitro* и получением однозубковых луковичек массой не менее 1,0 г, из которых в условиях открытого грунта будут получены многозубковые луковички.

В результате проведенных исследований получены многочисленные растения-регенеранты различных

сортов и клонов чеснока озимого, в том числе сортов Гладиатор и Император, адаптированные к почвенным условиям и проходящие сравнительные испытания с растениями, полученными из однозубковых луковичек и зубков.

Заключение

В результате проведенных исследований установлено, что использование воздушных луковичек для введения чеснока озимого в культуру *in vitro*, изолированных из нераскрывшихся соцветий диаметром до 25 мм, позволяет получить свободные от внутренней инфекции растения. Культивирование их на среде MS, содержащей БА в концентрации 2 мг/л и НУК – 1 мг/л, сопровождается образованием проростков, а затем растений, в основании которых формируются луковички. Адаптация таких растений к условиям *ex vitro* сопровождается получением однозубковых луковичек, из которых в условиях открытого грунта образуются многозубковые луковички.

Литература

- Белик, В.Ф. Методика опытного дела в овощеводстве и бахчеводстве / Под ред. В.Ф. Белика. М., 1992. – 320 с.
- Бутенко, Р.Г. Культура изолированных растительных тканей и физиология морфогенеза растений / Р.Г. Бутенко. – М.: Наука, 1964. – 270 с.
- Бутенко, Р.Г. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнологии на их основе / Р.Г. Бутенко. Учеб. пособие. – М.: ФБК-ПРЕСС, 1999. – 160 с.
- Голубкина, Н.А. Особенности внекорневого способа обогащения растений чеснока селе- ном / Н.А. Голубкина, В.П. Никульшин, Ю.А. Хрынина // Сельскохозяйственная биология, 2007. – № 1. – С.82-85.
- Деменко, В.И. Микроклональное размножение садовых растений: учебное пособие / В.И. Деменко. – М.: Изд-во МСХА, 2007. – 55 с.
- Доспехов, Б.А. Методика полевого опыта / Б.А. Доспехов. – М.: Колос. – 1985. – 416 с.
- Зеленков, В.Н. Суммарная антиоксидантная активность чеснока озимого отечественной и зарубежной селекции / В.Н. Зеленков, А.А. Лапин, А.В. Поляков // Нетрадиционные природ- ные ресурсы, инновационные технологии и продукты. Сб. науч. тр. – М.: РАЕН, вып.23, 2016. – С.69-72.
- Ивченко, Т.В. Усовершенствование технологии клонального микроразмножения чеснока в культуре *in vitro* / Ивченко Т.В., Вищенко Т.И. // Наукові праці Південного філ. "Кримський агро- технологічний університет" Національний аграрний університет, 2009. – С.191-194.
- Кокарека Н.Н. Вирусы лука и чеснока: диагностика и профилактика / Н.Н. Кокарека, Т.И. Плешакова // Картофель и овощи, 2013. – №6. – 13-14 с.
- Литвинов, С.С. Методика полевого опыта в овощеводстве / С.С. Литвинов. М.: ГНУ ВНИИО, 2011. – 650 с.
- Марьяхина, И.Я. Получение безвирусного посадочного материала чеснока, лука-шалота и многоярусного лука с использованием биотехнологических приемов: метод. рекоменда- ции / И.Я. Марьяхина. М.: ВАСХНИИЛ, 1987. – 45 с.
- Никонович, Т.В. Оздоровление растений-регенерантов озимого чеснока в условиях куль- туры *in vitro* при помощи Рибавирина / Т.В. Никонович, И.Г. Берговина, В.В. Скорина // <http://www.allbest.ru>.
- Пивоваров, В.Ф. Луковые культуры / В.Ф. Пивоваров, И.И. Ершов, А.Ф. Агафонов. М., 2001. – 500 с.
- Поляков, А.В. Получение регенерантов овощных культур и их размножение *in vitro*. Методические рекомендации // А.В. Поляков. – М.: ГНУ ВНИИО Россельхозакадемии, 2005. – 36 с.
- Поляков, А.В. Важнейшие вопросы развития чесноководства в России / А.В. Поляков // Экологические проблемы современного овощеводства и качество овощной продукции. – М.: ФГБНУ ВНИИО, 2014. – С.436-442.
- Поляков, А.В. Морфогенез чеснока (*Allium sativum* L.) *in vitro* / А.В. Поляков, А.В. Зубалий, Т.А. Линник // Материалы III Междуна- р. научной конф. «Качество и экологическая безопас- ность пищевых продуктов и производств», 25-29 марта 2015. – Тверь: ТГУ, 2015. – С.154-157.
- Поляков, А.В. Чеснок (*Allium sativum* L.) как источник органического германия / А.В. Поляков, Т.В. Алексеева // Международная научно-практическая конференция «Горизонты образования и науки». – Алматы, ТОО "Смарт Даму", 2018. – С.80-83.
- Тюкавин, Г.Б. Получение безвирусных растений чеснока *in vitro* / Г.Б. Тюкавин // Селекция овощных культур: сб. науч. тр. ВНИИССОК. М., 1989. – С.116-119.
- Шевелуха, В.С. Сельскохозяйственная биотехнология / В.С. Шевелуха, Е.С. Воронин, Е.А. Калашникова, В.М. Ковалев, А.А. Ковалев, Е.З. Кочиева. – 3-е изд., перераб. и доп. – М.: Высш. шк., 2008. – 710 с.: ил.
- Ebi, M. Small inflorescence bulbils are best for micropropagation and virus elimination in garlic / M. Ebi, N. Kasai, K. Masuda // J. Hort. Sci., 2000, v.35. P.735-737.
- Haque, M.A. Effect of 2.4-D and BAP on *in vitro* Regeneration of Garlic / M. A. Haque // OnLine Journal of Biological Sciences. 2003. №2 (12). P.771-774.
- Hassan, M.N. An efficient protocol for somatic embryogenesis of garlic (*Allium sativum* L.) using root tip as explants / M.N. Hassan, M.S. Haque, M.M. Hassan // J. Bangladesh agric. univ. 2014 № 12(1). P.1-6.
- Kim, S.S. Multiple Shoots Regeneration and *in vitro* Bulblet Formation from Garlic Callus / S.S. Kim, D.P. Guo, D.C. Jung // J. Plant Biotechnology. 2003. №5 (2). P.95-99.
- Mujica, H. Formaciyn *in vitro* del bulbo del ajo morado (*Allium sativum* L.) / H. Mujica, M.E. Sanabria, N. Mogollon // *In vitro* formation of purple garlic (*Allium sativum* L.) bulb / Rev. Fac. Agron., 2008, v.25. P.197-210.
- Murashige, T. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures / T. Murashige, F. Skoog // Physiol. Plant., 1962, v.15, №13. P.473-497.
- Salam, A.M. Callus Induction and Regeneration of Indigenous Garlic (*Allium sativum* L.) / A.M. Salam, M.R. Ali, K.A. Alam // American Journal of Plant Physiology. 2008. №3 (1). P.33-39.
- Zel, J. The effect of jasmonic acid, sucrose and darkness on garlic (*Allium sativum* L. cv. 'Ptujski' Jesenski) bulb formation *in vitro* / J. Zel et al. // *In vitro Cellular & Developmental Biology Plant*, 1997, v.33, P.231-235.

References

- Byelik, V.F. Methodic of experimental matter in vegetable growing / Under editorship of V.F. Byelik. M., 1992. 320 p.
- Butenko, R.G. Culture of isolated plant tissues and physiology of morphogenesis of plants / R.G. Butenko. M.: Science, 1964. 270 p.
- Butenko, R.G. Biology of high plant cells *in vitro* and biotechnology on their basis / R.G. Butenko. Studies. grant. M.: FBK-press, 1999. 160 p.
- Golubkina, N.A. Features of extra root way of enrichment of garlic plants by selenium / N.A. Golubkina, V.P. Nikulshin, Yu.A. Hrynina // *Agricultural biology*, 2007, No.1. P.82-85.
- Demenko, V.I. Microclonal propagation of garden plants: manual / V.I. Demenko. - M.: MSHA publishing house, 2007. 55 p.
- Dospekhov, B.A. Methodic of field experiment / B.A. Dospekhov. M.: Kolos. 1985. 416 p.
- Zelenkov, V.N. Cooperative antioxidant activity of winter garlic of domestic and foreign breeding / V.N. Zelenkov, A.A. Lapin, A.V. Polyakov // *Nonconventional natural resources, innovative technologies and products*. M.: Russian Academy of Natural Sciences, Issue 23, 2016. P.69-72.
- Ivchenko, T.V. Improvement of technology of clonal micropropagation of garlic *in vitro* / Ivchenko T.V., Vitsenya T.I. // *Naukovi pratsi Pivdenного fil. "Krimsky agrotechnological university"* National agrarian university, 2009. P.191-194.
- Kokareka N.N. Viruses of onion and garlic: diagnostics and prevention / N.N. Kokareka, T.I. Pleshakova // *Potato and vegetables*, 2013, No.6. P.13-14.
- Litvinov, S.S. Methodic of field experiment in vegetable growing / S.S. Litvinov. M.: VNIIO GNU, 2011. 650 p.
- Maryakhina, I.Ya. Obtaining virus-free landing material of garlic, onion, shallot and multi-tier onion with use of biotechnological methods: methodical recommendations. Ya. Maryakhina. M.: VASHNII, 1987. 45 p.
- Nikonovich, T.V. Recovery of plant-regenerants of winter garlic *in vitro* culture condi- tions by Ribavirin / T. V. Nikonovich, I.G. Bergovina, V.V. Skorina // <http://www.allbest.ru>.
- Pivovarov, V.F. Onion crops / V.F. Pivovarov, I.I. Yershov, A.F. Agafonov. M, 2001. 500 p.
- Polyakov, A.V. Obtaining regenerants of vegetable crops and their propagation *in vitro*. Methodical recommendations // A.V. Polyakov, M.: GNU VNIIO of Russian Agricultural Academy, 2005. 36 p.
- Polyakov, A.V. The most important questions of development of garlic production in Russia / A.V. Polyakov // *Environmental problems of the modern vegetable growing and quality of vegetable production*. - M.: FGBNU VNIIO, 2014. P.436-442.
- Polyakov, A.V. Morphogenesis of garlic (*Allium sativum* L.) *in vitro* / A.V. Polyakov, A.V. Zubaly, T.A. Linnik // *Materials of III International scientific conf. "Quality and ecological safety of food products and production"*, March 25-29, 2015. Tver: TGU, 2015. P.154-157.
- Polyakov, A.V. Garlic (*Allium sativum* L.) as a source of organic germanium / A.V. Polyakov, T.V. Alekseeva // *International scientific and practical conference "Horizons of Science and Education"*.-Almaty, Smart Damu LLP, 2018. P.80-83.
- Tyukavin, G.B. Obtaining virus-free plants of garlic *in vitro* / G.B. Tyukavin // *Breeding of vegetable crops: collection of scientific papers of VNISSOK*. M, 1989. P.116-119.
- Shevelukha, V.S. Agricultural biotechnology / V.S. Shevelukha, E.S. Voronin, E.A. Kalashnikova, V.M. Kovalyov, A.A. Kovalyov, E.Z. Kochiyeva. 3 ed., revised. and add. M.: High school, 2008. 710 p.
- Ebi, M. Small inflorescence bulbils are best for micropropagation and virus elimination in garlic / M. Ebi, N. Kasai, K. Masuda // J. Hort. Sci., 2000, v.35. P.735-737.
- Haque, M.A. Effect of 2.4-D and BAP on *in vitro* Regeneration of Garlic / M. A. Haque // *OnLine Journal of Biological Sciences*. 2003. №2 (12). P.771-774.
- Hassan, M. N. An efficient protocol for somatic embryogenesis of garlic (*Allium sativum* L.) using root tip as explants / M. N. Hassan, M. S. Haque, M. M. Hassan // *J. Bangladesh agric. univ*. 2014. №12(1). P.1-6.
- Kim, S.S. Multiple Shoots Regeneration and *in vitro* Bulblet Formation from Garlic Callus / S.S. Kim, D.P. Guo, D.C. Jung // *J. Plant Biotechnology*. 2003. №5 (2). P.95-99.
- Mujica, H. Formaciyn *in vitro* del bulbo del ajo morado (*Allium sativum* L.) / H. Mujica, M.E. Sanabria, N. Mogollon // *Rev. Fac. Agron.*, 2008, v. 25. P.197-210.
- Murashige, T. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures / T. Murashige, F. Skoog // *Physiol. Plant.*, 1962, v.15, №13. P.473-497.
- Salam, A.M. Callus Induction and Regeneration of Indigenous Garlic (*Allium sativum* L.) / A.M. Salam, M.R. Ali, K.A. Alam // *American Journal of Plant Physiology*. 2008. №3 (1). P.33-39.
- Zel, J. The effect of jasmonic acid, sucrose and darkness on garlic (*Allium sativum* L. cv. 'Ptujski' Jesenski) bulb formation *in vitro* / J. Zel et al. // *In vitro Cellular & Developmental Biology Plant*, 1997, v.33, P.231-235.