



АЛТАЙН СОНГИНЫ (*ALLIUM ALTAICUM* PALL.) ЗИГОТ ҮР ХӨВРӨЛӨӨС ШУУД БА ШУУД БУС ЭМБРИОГЕНЕЗИЙН АРГААР БИЧИЛ УРГАМАЛ ГАРГАСАН СУДАЛГАА

М. Жавзандулам¹, Б. Буянчимэг², В. Энхчимэг^{1*}

¹ Мал Аж Ахуй Биотехнологийн Сургууль, ХААИС, Улаанбаатар, Монгол Улс

² Шинжлэх ухаан үйлдвэрлэлийн Монхимо төв, Улаанбаатар, Монгол Улс

*Холбоо барих хаяг: enkhchimeg.v@muls.edu.mn

ХУРААНГУЙ

Монгол орны эрс тэс уур амьсгалд зохицон зэрлэгээр ургадаг монгол орны улаан номонд орсон ховор зүйл болох Алтайн сонгино (*Allium altaicum* Pall.) нь сонгины төрөлд хамаарагдах хүнсний төдийгүй эмчилгээний чухал ач холбогдолтой ургамал юм. Энэхүү судалгааны ажлын зорилго нь Алтайн сонгины зигот үр хөврөлөөс шууд ба шууд бус эмбриогенезийн аргаар бичил ургамал гарган авах байв. Шууд эмбриогенезийн аргаар Алтайн сонгины зигот үр хөврөлөөс биежилт сайтай ургамал үүсгэхэд 0.5 мг/л NAA, 0.2 мг/л кинетин агуулсан тэжээлт орчин тохиромжтой байсан ба бичил ургамал нөхөн төлжилт ойролцоогоор 70% байна. Шууд бус эмбриогенезийн аргаар Алтайн сонгины зигот үр хөврөлөөс каллус үүсгэхэд 1 мг/л 2,4-D, 0.6 мг/л BAP, 2 мг/л глицин агуулсан тэжээлт орчин бусад хувилбаруудтай харьцуулахад хамгийн сайн буюу шар өнгөтэй, хуурай, нягт каллус үүсдэг ба каллус үүсэлт 50.4% байсан бол каллусаас нахиа үүсэхэд 0.1 мг/л 2,4-D, 1 мг/л BAP агуулсан тэжээлт орчин тохиромжтой байж бичил ургамал нөхөн төлжилт 61.3% байв.

ТҮЛХҮҮР ҮГС: *In vitro*, шууд ба шууд бус эмбриогенез, нөхөн төлжилт, бичил ургамал

ОРШИЛ

Алтайн сонгино нь хад асгатай өндөр ууланд ургадаг, хүйтэнд гойд тэсвэртэй, ааг амт сайтай, фитонцид ихээр агуулдаг, сонгины төрөлд хамаарагдах хүнсний төдийгүй эмчилгээний чухал ач холбогдолтой ургамал учир зах зээлийн эрэлт хэрэгцээ ихтэй байдаг [1, 2]. Сүүлийн жилүүдэд хайр гамгүй их хэмжээгээр түүж хэрэглэсний улмаас байгаль дахь нөөц хомсдож, халуун, хуурай нөхцөлд үрийн боловсролт түргэн явагдаснаар морфологийн хувиралд орж, үрийн хальс гэмтсэнээс үр хөгц мөөгөнцөрөөр халдварлах явдал нэмэгдэж үрийн ургац өгөх чадварыг доройтуулж байна [3, 4]. Иймд Алтайн сонгиныг ургамлын биотехнологийн аргаар үржүүлж богино хугацаанд масс үржүүлэг хийх, өвчин үүсгэгч (вирус, мөөгөнцөр, бактери) зэргээр дамжих халдварлалтыг зогсоох, өсөн нэмэгдэж буй эрэлт, хэрэгцээг хангах, эмийн түүхий эд болон хүнсний хэрэгцээнд ашиглагдах нөөцийг нэмэгдүүлэх, олшруулан тарималжуулах нэн чухал шаардлагатай. Сонгинолог ургамлыг

дэлхий даяар хоол амтлагч, хүнсний ногоо болон эмийн ургамлын зориулалтаар хэрэглэхээр тариалдаг. Ялангуяа бөөрөнхий сонгино, сармис, таана зэрэг хүнсний ногооны ургамлууд жил бүр дэлхий дахинд 400 сая долларын үнээр худалдаалагдах эдийн засгийн чухал ач холбогдолтой ургамлууд юм [5, 6]. Сонгиныг бичил үржүүлгийн аргаар үржүүлсэнээр булцуу үүсгэх, тайван байдалд байгаа ургамланцарын нөхөн төлжих чадварыг өдөөх, гол хүчин зүйл болох үрийн хязгаарлагдмал байдлыг бууруулах үр ашигтай юм [7]. Сонгины *in vitro* өсгөврөөс ургамал нөхөн төлжүүлэхэд боловсорч гүйцсэн зигот үр хөврөл болон боловсорч гүйцээгүй үр хөврөлийг өргөн ашигласаар байна [8, 9, 10, 11, 12]. Эмбриоген каллус үүсэлт нь ургамлын өсөлтийн бодис болон генотипээс ихээхэн хамаардаг [13]. Сонгины янз бүрийн эксплантаас эмбриоген каллус үүсгэхэд (2,4-D болон пиклорам) зэрэг ауксинууд хамгийн сайн үр дүнтэй болохыг баталсан байна [6, 9, 10, 13,

14]. Уг ажил нь алтайн сонгины зигот үр хөврөлөөс эсийн масс (каллус) өсгөвөрлөн, каллусаас бичил ургамал гарган авч, олшруулан масс үржүүлэг хийх боломжийг судалж буйд судалгааны ажлын шинэлэг тал оршино. Энэхүү судалгааны ажлаар бид Алтайн

сонгины зигот үр хөврөлөөс каллус үүсгэх, каллусаас нахиа ба үндэс үүсэлтэнд тохиромжтой гормоны нөлөөллийг илрүүлэх, бичил ургамлыг хөрсөнд шилжүүлэн суулгаж, гадаад орчинд дасгах ажлуудыг хийлээ.

СУДАЛГААНЫ ХЭРЭГЛЭГДЭХҮҮН, АРГА ЗҮЙ

Судалгааны дээж: Говь-Алтай аймгийн Чандмань суманд ургадаг Алтайн сонгины үрийг судалгааны эх материалаар сонгон авсан. 1000 үрийн жин 2.1 гр. Ажлын явц: Алтайн сонгины үрийг гадаргуун бохирдлоос чөлөөлөхийн тулд урсгал усаар 3 удаа, ламинар бокст 70% этанолд 3 секунд, ариутгасан нэрмэл усаар 30 секунд, 3%-ийн гипохлорт натрийн уусмал (NaOCl) дээр 1 дусал Твин-20 нэмсэн уусмалаар 30 минут ариутгав. Ариутгасан үрийн хальсыг зөөлрүүлэхийн тулд 3% сахароз, 7 г/л агар-агар, рН 5.8 бүхий гормонгүй MS (Мурашиги Сүүг, 1962) тэжээлт орчинд 3 хоног 25±2°C дулаантай, 16 цагийн турш гэрэлтэй, 8 цаг харанхуй ургуулангийн өрөөнд тавьж өсгөвөрлөв. Гурван хоногийн дараа үрийг тэжээлт орчиноос авч сайтар угааж цэвэрлэсний дараа гэрлийн микроскопын тусламжтайгаар үрийн нуруун хэсгээр зүсэлт хийж үрийн зигот үр хөврөлийг салгав. Үр хөврөлийн өсгөврийг шууд эмбриогенез ба шууд бус эмбриогенез (каллусаас нахиа нөхөн төлжүүлэх) үүсгэх бичил үржүүлгийн аргуудаар өсгөвөрлөсөн [15].

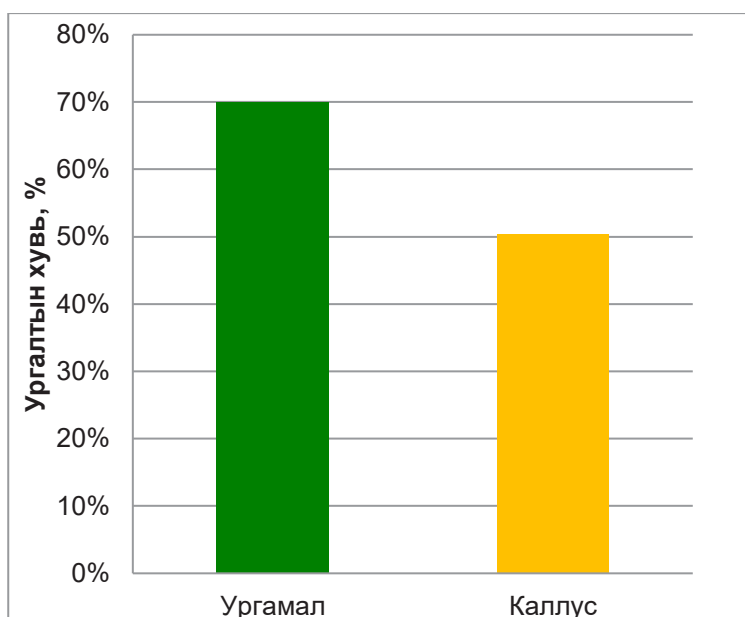
Шууд эмбриогенезийн аргаар ургамал үүсгэх: Үрээс үр хөврөлийн эдийг салган авч ауксины төрлийн гормон болох нафталин цууны хүчил (NAA) (0, 0.5, 1, 2 мг/л) болон цитокининийн төрлийн гормон болох кинетин (Kin) (0, 0.2, 0.5, 1 мг/л) концентрациар хоршуулан 3% сахароз, 7 г/л агар-агар, рН 5.8 бүхий MS тэжээлт орчинд суулгав. Мөн өсөлтийн гормонгүй MS тэжээлт орчинд үр хөврөлийн эдийг суулган хяналтаар ашигласан. Суулгацыг 2000-2500 люкс гэрэлтүүлэгтэй, 25±2°C дулаантай, 60-70% агаарын харьцангуй чийгтэй, 16/8 гэрлийн зохицуулгатай нөхцөлд өсгөвөрлөв. Туршилтыг 3 давталтайгаар хийж гүйцэтгэсэн.

Шууд бус эмбриогенезийн аргаар каллусаас нахиа нөхөн төлжүүлэх: Үрнээс үр хөврөлийн эдийг салган авч каллус үүсгэх тэжээлийн орчин болох ауксины төрлийн гормон 2,4-дихлортфенокси цууны хүчил (2.4-D) (0, 1, 2, 4, 6 мг/л) болон цитокининийн төрлийн гормон 6-бензиламинопуриныг (BAP) (0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 мг/л) концентрациар хоршуулсан, 2 мг/л глицин, 3% сахароз, 7 г/л агар-агар, рН 5.8 бүхий MS тэжээлт орчинд суулгав. Мөн өсөлтийн гормонгүй MS тэжээлт орчинд үр хөврөлийн эдийг суулган хяналтаар ашигласан. Суулгацыг 27°C дулаантай ургуулангийн өрөөнд харанхуй нөхцөлд өсгөвөрлөв. Туршилтыг 3 давталтайгаар хийж гүйцэтгэсэн. **Ургамал нөхөн төлжүүлэх өсгөвөр:** Ауксины төрлийн гормон 2,4-дихлортфенокси цууны хүчил (2.4-D) (0, 0.1, 0.5, 1 мг/л), болон цитокининийн төрлийн гормон 6-бензиламинопуриныг (BAP) (0, 1, 1.5, 2 мг/л) концентрациар хоршуулан 2 мг/л глицин, 3% сахароз, 7 г/л агар-агар, рН 5.8 бүхий MS тэжээлийн орчинд өсгөвөрлөсөн. **Үндэс үүсгэх өсгөвөр:** 3% сахароз, 7 г/л агар-агар, рН 5.8 бүхий 1/2 MS тэжээлийн орчинд өсгөвөрлөсөн. Суулгацыг 2000-2500 люкс гэрэлтүүлэгтэй, 25±2°C дулаантай, 60-70% агаарын харьцангуй чийгтэй, 16 цагийн турш гэрэлтэй, 8 цаг харанхуй ургуулангийн өрөөнд өсгөвөрлөв.

In vitro орчинд гаргасан бичил ургамлыг хөрсөнд шилжүүлэн суулгах: *In vitro* орчинд ургасан бичил ургамлаа 1:1 харьцаатай хүлэр, уулын чулуулаг хольсон хөрсөнд шилжүүлнэ. Шилжүүлэхдээ ургамлын үндэс ишийг тэжээлийн орчноос гүйцэд салгаж 2-3 см гүнд суулган сайтар услаж жижиг хүлэмжинд байрлуулав.

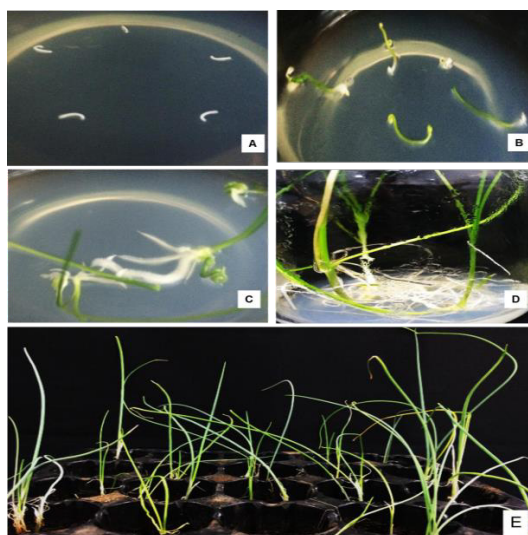
СУДАЛГААНЫ ҮР ДҮН

In vitro орчинд Алтайн сонгиныг (*Allium altaicum*. Pall) өсгөвөрлөсөн дүн:



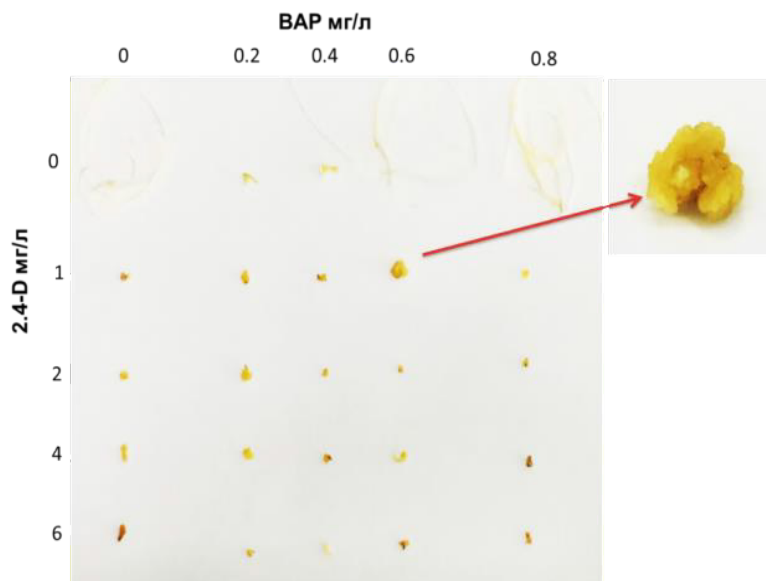
1-р зураг. Алтайн сонгины үр хөврөлөөс ургамал болон каллус үүсэлт.

Алтайн сонгины (*Allium altaicum* Pall.) үр хөврөлөөс ургамал үүсгэх өсгөврийн 3 давталтын дундаж 70%, үр хөврөлөөс каллус үүсгэх өсгөврийн 3 давталтын дундаж 50.4% байв (1-р зураг). Алтайн сонгины нийт өсгөврийн 71% нь амжилттай өсгөвөрлөгдөж цаашид *ex vitro* шатанд шилжүүлсэн. Шууд эмбриогенезийн аргаар Алтайн сонгины үр хөврөлөөс 5 хоногийн дараа нахиа үүсэж харин 10 хоногийн дараа нахианаас үндэс үүсэж бичил ургамал гарч ирсэн. Бичил ургамлыг хөрсөнд шилжүүлэн суулгахад 100% гадаад орчиндоо сайн дасан зохицож ургаж байв (2-р зураг).



2-р зураг.

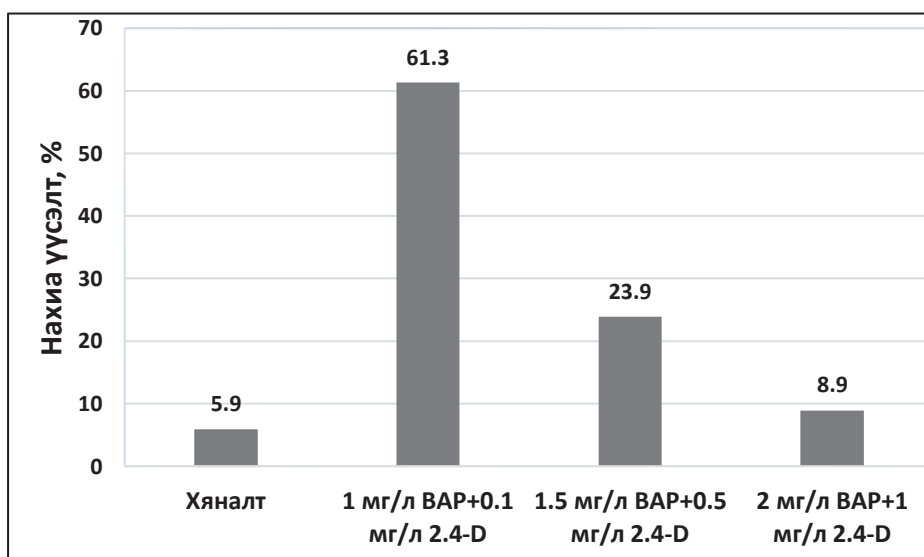
Шууд эмбриогенезийн аргаар Алтайн сонгины үр хөврөлөөс *in vitro* орчинд бичил ургамал үүсгэх үе шат. А. Алтайн сонгины үрийн зигот үр хөврөлийг тэжээлийн орчинд өсгөвөрлөсөн байдал В. 5 хоногийн дараах зигот үр хөврөлөөс нахиа үүссэн байдал С. 10 хоногийн дараах нахианаас үндэс үүссэн байдал D. 28 хоногийн дараа зигот үр хөврөлөөс үүссэн бичил ургамал Е. бичил ургамлыг хөрсөнд шилжүүлсэн байдал.



3-р зураг. Алтайн сонгины зигот үр хөврөлийн каллус үүсэлтэнд гормоны хоршил ба концентрацийн нөлөө.

Шууд бус эмбриогенезийн аргаар *in vitro* орчинд Алтайн сонгины бичил ургамлыг гарган авахдаа бид эхлээд үрийн зигот үр хөврөлөөс каллус үүсгэлээ. Каллус нь ялгаралд ороогүй эсүүдээс тогтсон бүтцийн ялгаралд ороогүй, зохион байгуулалтгүй ургаж байгаа ургамлын эд юм. Каллусын эд үүсэж хөгжих нь ауксин болон цитокининий төрлийн өсөлтийн гормноор зохицуулагддаг. Өөрөөр хэлбэл каллусын эд нь тэжээлт орчны найрлага, өсгөвөрлөж байгаа нөхцөлөөс хамаараад янз бүрийн бүтэцтэй, өөр өөр өнгөтэй үүсдэг. Алтайн сонгины үр хөврөлөөс шар өнгөтэй

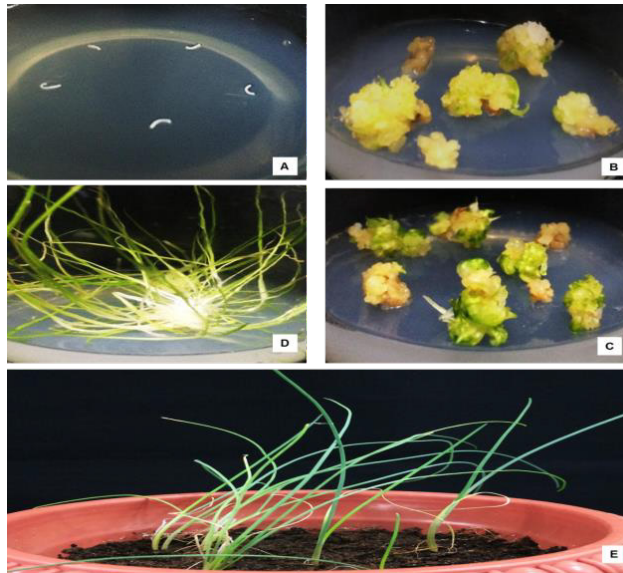
каллус, оройн нахиан хэсгээс хуурай, нягт каллус, үрийн талаас усархаг бутарсан каллус тус тус үүсэж байсан ба Алтайн сонгины үр хөврөлийн каллус үүсэлтийг өдөөх туршилтанд 2,4-D болон BAP өсөлтийн бодисын өөр өөр концентрацийн агууламжтай 24 хувилбарын тэжээлт орчинд 28 хоног өсгөвөрлөн каллус үүсэлтийн хэмжээг 3 давталтын дундажаар тооцоход 1 мг/л 2,4-D, 0.6 мг/л BAP, 2 мг/л глицин агуулсан MS тэжээлт орчинд каллус үүсэлт хяналттай харьцуулахад сайн байсан (3-р зураг).



4-р зураг. Каллусаас нахиа үүсэлтэнд гормоны концентраци ба хоршлын нөлөө.

Каллусын эдээс нахиа, найлзуур үүсэхэд цитокинийн төрлийн гормоныг өндөр тунгаар хийснээр ауксины төрлийн гормонтой харьцуулахад илүү идэвхтэй нөлөө үзүүлдэг. Ургамлын каллусаас нахиа найлзуур үүсэх процесс нь каллусын өсгөврийн орчинтой адил

найрлагатай тэжээлийн орчинд явагддаг. Каллусаас нахиа үүсгэх өсгөврийг тэжээлт орчны 3 хувилбарт туршихад 1 мг/л ВАР, 0.1 мг/л 2,4-D, 2 мг/л глицин агуулсан тэжээлт орчинд нөхөн төлжих чадвар бусад 3 хувилбараас илүү байна (4-р зураг).



5-р зураг. Шууд бус эмбриогенезийн аргаар Алтайн сонгины үр хөврөлөөс үүссэн каллусаас бичил ургамал үүсгэх үе шат. А. 7 хоног өсгөвөрлөсөн зигот үр хөврөл В. Зигот үр хөврөлөөс каллус үүссэн байдал С. Каллусаас нахиа үүссэн байдал D. Үндэс үүссэн байдал E. Хөрсөнд шилжүүлэн суулгасан бичил ургамлын ургалт.

Шууд бус эмбриогенезийн аргаар Алтайн сонгины үр хөврөлөөс 1 мг/л 2,4-D, 0.6 мг/л ВАР, 2 мг/л глицин агуулсан тэжээлт орчинд хэдэн зуун каллусын эсүүдийг үүсгэж болж байв. Алтайн сонгины зигот үр хөврөлийн каллусаас нахиа үүсгэхэд 0.1 мг/л 2,4-D, 1 мг/л

ВАР агуулсан тэжээлт орчинд нахиа үүсэлт хамгийн сайн буюу 61.3% байв. Нахианаас 7-10 хоногийн дараа үндэс үүсэж, бичил ургамал гарсан. Хөрсөнд шилжүүлэн суулгасны дараа бичил ургамал бараг 100% гадаад орчиндоо дасан зохицож ургасан (5-р зураг).

ШҮҮН ХЭЛЭЛЦЭХҮЙ

Бидний энэхүү судалгааны ажил нь Алтайн сонгины зигот үр хөврөлөөс каллус болон соматик эмбриогенез үүсгэж буй анхны ажил юм. Ramakrishnan ба бусад (2013) нарын бөөрөнхий сонгины үр хөврөлийн каллусыг 4мг/л 2.4-D бүхий тэжээлийн орчинд үүсгэсэн бол бидний судалгаагаар 1мг/л 2,4-D, 0.6 мг/л ВАР бүхий тэжээлийн орчинд каллус үүссэн байна. Sivanesan ба бусад (2015) нар нь бөөрөнхий сонгиныг газарзүйн өөр өөр бүсэд тариалсан 16 үрийн үр хөврөлийн каллус үүсгэхдээ 1мг/л 2.4-D, 5.0 мг/л пиклорам, 1 мг/л 2.4-D, 2.5 мг/л пиклорам хэрэглэн каллус

үүсгэсэн нь бидний судалгааны ажилтай 2.4-D өсөлтийн бодисын тунгаараа төстэй байгаа нь үр хөврөлөөс каллус үүсгэхэд ургамлын өсөлтийн бодис, тэжээлт орчны найрлага, ургамлын ургасан орчин нөхцөл болон ургамлын генотип их нөлөөлдөг болохыг харуулж байна. Van der Valk ба бусад (1992) нар нь сонгины төрлийн эксплантаас эмбриоген каллус үүсгэхэд 2.4-D болон пиклорам зэрэг ауксинууд хамгийн сайн үр дүнтэй байна хэмээн тодорхойлсон нь бидний судалгааны үр дүнгээс мөн харагдаж байна.

ДҮГНЭЛТ

1. Алтайн сонгины зигот үр хөврөлөөс каллус өсгөвөрлөн гарган авахад 1 мг/л 2,4- D, 0.6 мг/л ВАР, 2 мг/л глицин агуулсан тэжээлт орчин хамгийн тохиромжтой бөгөөд шар өнгөтэй, хуурай, нягт каллусын эд үүсдэг.
2. Алтайн сонгины зигот үр хөврөлийн каллусаас нахиа үүсгэхэд 0.1 мг/л 2,4-D, 1

мг/л ВАР агуулсан тэжээлт орчин хамгийн тохиромжтой ба нахиа үүсэлт ойролцоогоор 61.3% байв.

3. Алтайн сонгины зигот үр хөврөлөөс хэлбэржилт сайтай ургамал гарган авахад 0.5 мг/л NAA, 0.2 мг/л кинетин агуулсан тэжээлт орчин тохиромжтой байв.

НОМ ЗҮЙ

1. Володя Ц., Цэрэнбалжир Д., Ламжав Ц., “Монгол орны эмийн ургамал”, 2008.УБ. 11: 483х
2. Монгол орны ашигт ургамлын тархац – нөөцийн атлас УБ. 2014. 91- 92х
3. Ганбаатар. Г “Үр судлал” УБ хот 2002. 95х
4. Буянчимэг Б, Лхагвасүрэн С, Хоролсүрэн Ш, Энхтуяа Л, Энхчимэг В, Болормаа Д, Халиун Б., “Сонгинолог ургамлын цито эмбриологи, кариологи”, Улаанбаатар, 2014. 11-12, 39-40х.
5. Лигаа У., “Монгол орны эмийн ургамлыг өрнө, дорнын анагаах ухаанд хэрэглэхүй”, 2006.УБ. х.290-292
6. Ramakrishnan M; Ceasar SA ; Duraipandiyan V; Daniel MA; Ignacimuthu S. 2013. Efficacious somatic embryogenesis and fertile plant recovery from shoot apex explants of onion (*Allium cepa*). *In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant* 49: 285-293.
7. Kamstaityte, D. Stanys, V. 2004. Micropropagation of onion (*Allium cepa* L.). *Acta Universitatis Latviensis, Biology*, Vol. 676, pp. 173–176
8. Khar,A. Bhutani, R.D. Yadav, N. Chowdhury , V. K. 2005. Effect of Explant and Genotype on Callus Culture and Regeneration in Onion (*Allium cepa* L.). *Akdeniz Universitesi Ziraat Fakultesi Dergisi*, 2005, 18(3), 397-404.
9. Saker MM (1997) *in vitro* regeneration of onion through repetitive somatic embryogenesis. *Biol Plant* 40:499–506
10. van der Valk P, Scholten O, Verstappen F, Jansen R, Dons J (1992) High frequency somatic embryogenesis and plant regeneration from zygotic embryo-derived callus cultures of three *Allium* species. *Plant Cell Tissue Organ Cult* 30:181–192.
11. Zheng SJ, Henken B, Sofiari E, Jacobsen E, Krens FA, Kik C (1998) Factors influencing induction, propagation and regeneration of mature zygotic embryo-derived callus from *Allium cepa*. *Plant Cell Tissue Organ Cult* 53:99–105
12. Zheng SJ, Henken B, Sofiari E, Keizer P, Jacobsen E, Kik C, Krens FA (1999) Effect of cytokinins and lines on plant regeneration from long-term callus and suspension cultures of *Allium cepa* L. *Euphytica* 108:83–90
13. Sivanesan I, Kyoung KE, Kyoung KM, Young KE, Park SeW. 2015. Somatic embryogenesis and plant regeneration from zygotic embryo explants of onion. *Horticultura Brasileira* 33:441-447
14. Zhang W; Lin X; Takano H; Takio S; Ono K. 2004. Efficient plant regeneration from suspension cells of *Allium cepa*. *Plant Cell Reports* 23: 371-376.
15. Алтанцэцэг Х “Ургамлын биотехнологи” УБ. 2010.23-24х

SOMATIC EMBRYOGENESIS AND PLANT REGENERATION FROM ZYGOTIC EMBRYO-DERIVED CALLUS CULTURES OF *ALLIUM ALTAICUM* PALL .

M. Zavzandulam¹, B. Buyanchimeg², V.Enkhchimeg^{1*}

¹School of Animal Science and Biotechnology, Mongolian University of Life Sciences, Ulaanbaatar, Mongolia, ²Monchemo LLC, Ulaanbaatar, Mongolia

*Corresponding author: enkhchimeg.v@muls.edu.mn

ABSTRACT

Altain onion (*Allium altaicum* Pall.) grows wildly under different ecological conditions and one of the listed rare plant in Red Data Book of Mongolia. *Allium altaicum* pall belong to a member of the onion family (Alliaceae) and has been used for both culinary and traditional medicine and a perennial herb. The purpose of this research is to get micropropogated plants in *in vitro* condition from Mongolian the *Allium altaicum* Pall tissue culture. *Allium altaicum* Pall. regeneration from zygotic embryo was 70% in MS medium with 0.5 mg/l 1-Naphthaleneacetic acid, 0.2 mg/l kinetin compare to control. Convenient condition for primary callus induction observed in MS medium with 1 mg/l 2,4-dichlorophenoxyacetic acid, 0.6 mg/l 6-benzylaminopurine, 2mg/l glycine by 50.4%. Regeneration of callus induction was 61.3% and somatic embryos formed plantlets on regeneration 0.1 мг/л 2,4-D 0.1 mg/l 2,4-dichlorophenoxyacetic acid, 1 мг/л BAP 1 mg/l 6-benzylaminopurine.

KEYWORDS: *In vitro*, embryogenesis, regeneration,