УДК 581.1. 635.9

Л. А. Колдар
Національний дендропарк «Софіївка» НАН України

ОСОБЛИВОСТІ АДВЕНТИВНОЇ РЕГЕНЕРАЦІЇ ЕКСПЛАНТІВ *CERCIS CHINENSIS* BUNGE ЗА УМОВ *IN VITRO*

Досліджено особливості адвентивної регенерації експлантів *Cercis chinensis* Bunge культивованих *in vitro*. Подано дані щодо залежності регенераційних процесів у експлантів від фітогормонального складу живильних середовищ.

Вступ

З кожним роком, в Україні зростає потреба у розширенні асортименту рослин для зеленого будівництва. Значну роль при її вирішенні відіграє залучення цінних декоративних видів, інтродукованих з інших районів світу, які є рідкісними у наших садах і парках та здатні реалізувати потенціал продуктивності, декоративності, стійкості тощо в конкретних екологічних умовах.

Серед інтродукованих рослин України все більшої популярності набувають види роду *Cercis* L. (родина *Caesalpiniaceae* R. Br.), які є представниками прадавньої флори Землі. Рід об'єднує 7 видів, які заслуговують на увагу, оскільки їм властиві високі декоративні властивості (рясність та тривалість цвітіння, забарвлення квіток, оригінальність суцвіть, форма та забарвлення листків тощо), господарські якості (гарний чорнувато-зелений орнамент деревини, яка добре полірується, вміст дубильних речовин у листках, меліоративні, вітрозахисні, та лікувальні властивості, завдяки яким їх використовують у фармакології) [3,4]. Крім цього, вони належать до рослин, які створюють харчову базу для бджільництва та мають високі показники нектаропродуктивності [1].

Рідкісним у наших садах і парках є церцис китайський (*Cercis chinensis* Bunge), який за своїми декоративними властивостями не поступається іншим видам і може бути використаним у створенні солітерних посадок, а також паркових композицій з багатьма хвойними та листяними породами.

Важливою передумовою успішного використання рослин у озелененні є розробка методів масового розмноження і вирощування. Основними методами розмноження рослин *C. chinensis* є насіннєвий та вегетативний, проте вони не завжди можуть забезпечити потребу у садивному матеріалі. Вегетативний спосіб не дає бажаного результату оскільки відсоток укорінення живців є надзвичайно низьким (3,6–4,8%) [4]. При насіннєвому розмноженні проявляється характерний для насіння видів роду *Cercis* стан органічного спокою, коли хід ростових процесів притупляється, а проростання насіння затримується і розтягується на декілька років [3]. Використання традиційних методів розмноження не дає змоги одержати необхідну кількість рослинного матеріалу для забезпечення потреб зеленого будівництва.

Тому актуальним є використання альтернативного методу — розмноження у культурі *in vitro*, який базується на процесах адвентивної регенерації під час якої адвентивні (придаткові) бруньки утворюються не з первинних апікальних, а з вторинних бічних та раневих меристем в результаті дедиференціації клітин, що дає можливість збільшити коефіцієнт розмноження та в стислі строки одержати максимальну кількість садивного матеріалу [2, 5].

Мета роботи — дослідити особливості адвентивної регенерації експлантів *C. chinensis* залежно фітогормонального складу живильних середовищ в умовах культури *in vitro*.

Матеріали та методи досліджень

Експериментальні дослідження фітогормональної регуляції регенераційних процесів у експлантів *C. chinensis* проводили у лабораторії мікроклонального розмноження рослин Національного дендропарку «Софіївка» НАН України. Матеріалом для

досліджень слугували меристемні тканини з апікальними та пазушними бруньками, взяті з пагонів 5-річних рослин *C. chinensis* у період їх активного росту (20.05–20.06).

Умови культивування експлантів: температура 24±1°С, фотоперіод 16 год., освітленість 3000–5000 лк, відносна вологість повітря 70%. Посуд, матеріали, інструменти та живильні середовища готували згідно загальноприйнятих методик [2, 5, 8].

Модифікацію живильних середовищ Мурасіге і Скуга (МС) проводили у чотирьох варіантах (МС1–МС4) за використання фітогормонів цитокінінової та ауксинової груп. Індуктором проліферації адвентивних бруньок і пагонів слугував 6-бензиламінопурин (6-БАП) у співвідношеннях з 3-індолилоцтовою кислотою (3-ІОК), β-індолилмасляною кислотою (β-ІМК), 2,4-дихлорфеноксіоцтовою кислотою (2,4-Д) з додаванням вітамінів та амінокислот. Пасажування експлантів проводили через 36±2 доби.

Результати досліджень та їх обговорення

Експериментальні дослідження з розмноження *C. chinensis in vitro* проводили у напрямку стимулювання проліферації адвентивних бруньок дією екзогенних фітогормонів на різних етапах розмноження, з подальшим пагоноутворенням та досягненням одержаними експлантами ризогенезу.

У багатьох видів рослин утворення адвентивних бруньок може бути індуковано високим співвідношенням у живильному середовищі цитокінінів та ауксинів. Проте, у літературі відсутня єдина думка щодо ефективності застосування у цьому напрямку певних типів середовищ та фітогормонів [7]. Тому у ході експерименту досліджували різні модифікації живильних середовищ, на які висаджували для подальшого культивування, одержані стерильні, життєздатні експланти. Відомо, що регенерація адвентивних бруньок, пагонів, коренів або ембріоїдів із соматичних рослинних клітин може відбуватись через непряму регенерацію шляхом утворення калюсу і формування пагонів, або через пряму — завдяки здатності клітин експланта до регенерації без формування калюсних тканин [7].

Впродовж 12–18 діб від моменту перенесення експлантів на живильні середовища, спостерігали розростання з різною інтенсивністю базальної частини експлантів та формування впродовж наступних 8–10 діб зачатків адвентивних бруньок. Це слугувало початком прямої регенерації, при якій шляхом активації меристемних тканин та дедиференціації клітин починали формування адвентивні бруньки. За результатами вивчення здатності експлантів *C. chinensis* до адвентивної регенерації у різних варіантах живильних середовищ виявлено істотну різницю між варіантами дослідів. Серед досліджуваних живильних середовищ, модифікованих різним вмістом фітогормонів, найбільш активно процеси регенерації відбувались у варіанті МС-2 за вмісту 6-БАП — 2,0 мг/л, 3-ІОК — 0,05 мг/л та 2,4-Д — 0,05 мг/л (табл.).

Коефіцієнт розмноження експлантів *C. chinensis* залежно від фітогормонального складу живильних середовищ

Варіанти середовищ	МС мг/л			Коефіцієнт розмноження	
				пасажі	
	6-БАП	3-ІОК	2,4Д	I	II
I МС-1	1,0	0,01	0,01	2,3	10,6
II МС-2	2,0	0,05	0,05	3,4	11,4
III МС-3	3,0	0,1	0,1	1,1	2,6
IV МС-4	4,0	0,5	0,5	1,0	1,7

Незначне зменшення кількості утворених адвентивних бруньок спостерігали у варіанті I, на живильному середовищі, модифікованому додаванням 6-БАП — 1,0 мг/л, 3-ІОК — 0,01 мг/л та 2,4-Д — 0,01 мг/л. Збільшення вмісту 6-БАП до 3,0 та 4,0 мг/л, 3-ІОК та 2,4-Д до 0,1 та 0,5 мг/л відповідно призводило до зниження рівня регенерації та зменшення коефіцієнта розмноження. Впродовж 32–40 діб у кожному з варіантів спостерігали розростання адвентивних бруньок та початок

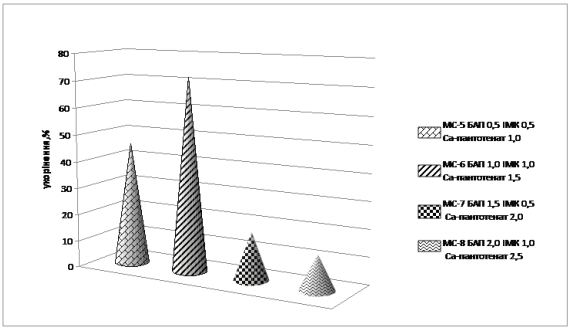

Рис. 1. Залежність укорінювання експлантів від фітогормонального складу живильних середовищ

Рис 2. Формування кореневої системи у експлантів *C. chinensis in vitro*

формування пагонів, які залежно від вмісту у живильному середовищі фітогормонів відрізнялися за кількістю, розмірами та інтенсивністю росту. Утворені пагони виймали з пробірок, розділяли на окремі експланти та проводили візуальне оцінювання. Пагони, які досягали висоти 3,0–4,0 см з добре сформованими 2–3 парами листків були придатними до перенесення на живильне середовище для досягнення ризогенезу. Для його стимулювання використовували живильні середовища, модифіковані додаванням фітогормонів: 6-БАП — 0,5–2,0 мг/л, ІМК — 0,5–1,0 мг/л і кальцію пантотенату — 1,0–2,5 мг/л (рис. 1). Найбільш ефективним виявилось живильне середовище, модифіковане додаванням 1,0 мг/л 6-БАП, 1,0 мг/л ІМК та 1,5 мг/л кальцію пантотенату, завдяки якому впродовж 10–12 діб у 80% експлантів спостерігали початок формування у базальній частині експланта кореневих зачатків — білувато-жовтих бугорчатих ущільнень (2×3 мм), з яких починали ріст корені.

Впродовж 18–32 діб формувалася коренева система, яка мала центральний та бокові корені з всисними волосками. (рис. 2).

При додаванні до живильного середовища (МС-5) БАП 0,5 мг/л, ІМК 0,5 мг/л та Са-пантотенату 1,0 мг/л одержали лише 43% рослин-регенерантів. За вмісту у середовищі БАП 1,5 мг/л, ІМК 0,5 мг/л та Са-пантотенату 2,0 мг/л (МС-7) та БАП 2,0 мг/л, ІМК 1,0 мг/л та Са-пантотенату 2,5 мг/л (МС-8) укорінення відповідно становило 22 та 18%.

Найбільш ефективним виявилося живильне середовище МС-6, вміст якого доповнювали 6-БАП 1,0 мг/л, ІМК 1,0 мг/л та Са-пантотенат 1,5 мг/л, а укорінення становило 70%.

Експланти, які не утворювали кореневої системи, висаджували на живильні середовища для подальшого культивування і розмноження. При візуальному оцінюванні одержані рослини-регенеранти з добре сформованою кореневою системою та 2–3 парами листків переносили в адаптаційну кімнату для пристосування до умов ex vitro.

Висновки

За результатами досліджень встановлено, що морфогенний розвиток експлантів *C. chinensis* та утворення адвентивних бруньок відбувалися при наявності у живильних середовищах різних концентрацій фітогормонів. Найбільш активно процеси морфогенезу відбувалися у варіанті МС-2 з додаванням 6-бензиламінопуріну (6-БАП) 2,0 мг/л у якому впродовж 12–18 діб з одного експланта формувалися 3–4 мікропагони, коефіцієнт розмноження при другому пасажі становив 11,4.

З досліджених індукторів ризогенезу найбільш ефективним виявилось середовище з додаванням 1,0 мг/л 6-БАП, 1,0 мг/л ІМК та 1,8 мг/л кальцію пантотенату на якому одержали близько 70% рослин-регенерантів, придатних для адаптації до умов *ex vitro*.

Перелік посилань

1. *Губеладзе Е.А.* Биоэкология распространенных в Имерети некоторых медоносных древесных бобовых растений и их использование: автореф. дис. на соискание степени канд. с-х наук: спец. 01.06.13. „Лекарственные и эфиромасличные культуры” / Е.А. Губеладзе. — Тбилиси, 2006. — 20с.
2. *Калинин Ф.Л.* Методы культуры тканей в физиологии и биохимии растений / Калинин Ф.Л., Сарнацкая В.В., Полищук В.Е. — К.: 1980. — 488 с

3. *Колдар Л.А.* Інтродукція видів роду *Cercis* L. у Правобережний Лісостеп України та перспективи використання їх у зеленому будівництві / Лариса Антонівна Колдар. — Умань: 2006. — 158 с.
4. *Колдар Л.А.* Особливості онтогенезу рослин *Cercis siliquastrum* L. культивованих *in vitro* / Л.А. Колдар // Автохтонні та інтродуковані рослини. — Умань: 2008. — Вип.3–4. — С.23–26.
5. *Кунах В.А.* Біотехнологія лікарських рослин. Генетичні та фізіолого-біохімічні основи / В.А. Кунах. — К.: 2005. — 730с.
6. *Ребров В.Г.* Витамины, макро- и микроэлементы / В.Г. Ребров, О.А. Громова. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. — 960 с.
7. *Роговая В.В.* Адвентивная регенерация вишни в культуре *in vitro* / В.В. Роговая, Л.Ю. Новикова, Т.А. Гавриленко // Известия Российского гос. пед. ун-та им. А.И. Герцена. — 2007. — Вып. 26 —С. 164–172.
8. *Черевченко Т.М.* Орхидеи в культуре / Т.М. Черевченко, Г.П. Кушнир. — К.: Наук. думка, 1986. — С. 77–88.
9. *Murashige* T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. // Phusiol. Plant., 1962. — 15 N 13. — p. 473–497.

Рекомендував до друку Грабовий В.М.

ОСОБЕННОСТИ АДВЕНТИВНОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ ЭКСПЛАНТОВ *CERCIS CHINENSIS* BUNGE В УСЛОВИЯХ *IN VITRO*

Исследованы особенности адвентивной регенерации эксплантов *Cercis chinensis* Bunge *in vitro*. Приведены результаты исследований зависимости регенерационных процессов у эксплантов от фитогормонального состава питательных сред.

THE PECULIARITIES OF *CERCIS CHINENSIS* BUNGE EXPLANTS ADVENTIVE REGENERATION ON *IN VITRO* CONDITIONS

The peculiarities of the *Cercis chinensis* Bunge explants adventives regeneration cultivated on *in vitro* have been determined.The results et study of explants regeneration processes on the structure of phytohormones in the nutrient medium have been represent ted.