

hexaploid honeysuckle are valuable only as a collector material. As a result of studying the biological characteristics and qualities climbing honeysuckle planting for the Right steppes of Ukraine recommended the following species, varieties and forms: giraldii, flavida, flava, flavida, caprifolium, etrusca, periclymenum, periclymenum var. belgica, periclymenum var. serotina, americana, heckrottii, tellmaniana. Less promising for planting honeysuckle are climbing with optional range: Henry, sempervirens, japonica, japonica f. aureo-reticulata, Brownii Carr. var. fuchsioides, Brownii Carr. var. punicea. Plants are valuable only as a collector material.

Keywords: introduction, climbing honeysuckle, monosad, landscaping.

УДК 582.711.711: 581.143.6

М. В. Небиков<sup>1</sup>, Л. А. Колдар<sup>1</sup>, З. Г. Бонюк<sup>2</sup>, Н. М. Трофименко<sup>3</sup>, Н. М. Белемеч<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Національний дендрологічний парк «Софіївка» НАН України

<sup>2</sup> Ботанічний сад ім. акад. О. В. Фоміна Київського національного університету імені Тараса Шевченка

<sup>3</sup> Національний ботанічний сад ім. М. М. Гришка НАН України

## МІКРОКЛОНАЛЬНЕ РОЗМНОЖЕННЯ ТАВОЛГИ БІЛУВАТО-СІРОЇ (*SPIRAEA CANA* WALDST. ET KIT.)

Досліджено особливості мікроклонального розмноження *Spiraea cana* Waldst. et Kit. в умовах *in vitro*, стерилізацію рослинного матеріалу, підбір та модифікацію живильних середовищ. Встановлено залежність морфогенезу експлантів від гормонального складу живильних середовищ.

Ключові слова: *Spiraea cana*, експланти, стерилізатори, живильне середовище, морфогенез, регулятори росту

### Вступ

Асортимент декоративних кущів, який використовується в Лісостепу та на Поліссі України, досить обмежений. З метою збагачення флористичних ресурсів красивокувітучими рослинами, нами були залучені до вивчення інорайонні види таволг (*Spiraea* L.) перспективні для декоративного садівництва, фітомеліорації та інших галузей господарства. У Ботанічному саду імені акад. О. В. Фоміна Київського національного університету імені Тараса Шевченка методом родового комплексу Ф. М. Русанова створена колекція роду *Spiraea* L., яка включає понад 120 видів і внутрішньовидових таксонів [1]. Поліморфний рід *Spiraea* родини *Rosaceae* Juss. нараховує близько 100 видів, що поширені у помірному та субтропічному кліматі Північної півкулі, і приблизно стільки ж гібридів, варіацій та форм. Крім цього щороку з'являється в культурі значна кількість сортів. Центр різноманіття видів роду Таволга розташований у Південно-Східній Азії. Вивченню видів *Spiraea* присвячено багато робіт, із яких випливає, що вони мають високу фітонцидність, газостійкість, лікарські

властивості, але основна їх цінність — це висока декоративність та стійкість в умовах урбанізованого середовища. Красивокувітучі кущі таволг досить успішно розмножуються насінням і вегетативним способом — відсадками, зимовими і літніми живцями тощо. Насінневим способом можна розмножити значну кількість саджанців. Насіння більшості видів таволг має високу схожість, понад 80–90%, і енергію проростання на 5–7-му добу, залежно від виду, але отримати генетично чистий матеріал в умовах культури, досить складно.

До представників роду *Spiraea* належить вид *Spiraea cana* Waldst. et Kit. (таволга білувато-сіра) занесений до Європейського Червоного списку [2]. *S. cana* вперше була описана у 1812 р. офіцером і ботаніком Ф. Waldstein із Австрії разом з професором ботаніки Р. Kitaibel з Угорщини. Природний ареал *S. cana* розташований у Європейській Середземноморській флористичній області — в горах південно-східної частини Західної Європи до Італії та на Балканах.

Це пряморослий кущ 1 м заввишки з дуже щільною кроною до 1,5 м в діаметрі. Пагони тонкі, округлі, жовтувато-коричневі, опушені, дрібно-смугаті. Бруньки дуже маленькі 1–1,5 мм завдовжки, пластуваті, з кількома черепитчастими лусочками, опушені. Листки еліптичні до продовгуватих 1–2,5 см завдовжки, гострі на кінцях, з хрящуватою верхівкою, цілокраї, іноді з кількома гострими зубцями на верхівці, сірувато опушені з обох сторін, особливо молоді, зверху сіро-зелені, зісподу світліші і щільніше опушені на черешку, 1–3 мм завдовжки. Суцвіття густі, опушені щитки на облиствлених гілочках до 5 см завдовжки; квітки чисто білі 6 мм в діаметрі; пелюстки круглуваті, трохи коротші за тичинки, інколи однієї довжини з ними; чашолистки продовгувато-трикутні з відігнутою верхівкою, при плодах загорнуті донизу. Плоди — багатонасінні листянки.

В Україні *S. sana* зрідка трапляється в ботанічних садах. В колекції Ботанічного саду Київського університету з 1983 р. Насіння отримане з ботанічних садів Познані (Польща) у 1986 р. і Росток (Німеччина) у 1983 р. Висота кущів в 30-річному віці 0,8–1,0 м. Цвітуть рослини з 5-річного віку, окремими суцвіттями, не рясно. Насіння зав'язують дуже мало. За нашими дослідженнями життєздатність пилку *S. sana* — 23–30%. Цвіте в другій-третьій декаді травня, ріст пагонів закінчується у першій половині червня, плодоносить з серпня, вегетація триває  $221 \pm 12$  добу. Насіння 1,4–1,7 мм завдовжки, 0,2–0,4 мм завширшки, маса 1000 шт. — 0,05 г. Живці *S. sana* мали досить низький процент укорінювання (0,8–13% залежно від року і фази розвитку рослини). Появу коренів спостерігали на 23–24 добу.

*Spiraea sana* — це низькорослий кущ, відрізняється від усіх інших видів густою сріблястою кроною, в озелененні майже не трапляється і досить рідко є в колекціях ботанічних установ. Таким чином, для збереження та широкого впровадження виду *S. sana* в озеленення необхідно використовувати методи розмноження завдяки яким за короткий час можна отримати велику кількість генетично однорідного рослинного матеріалу.

Одним із сучасних, перспективних методів є розмноження рослин у культурі *in vitro* — вирощування рослинного матеріалу (клітин, тканин, органів) на штучних живильних середовищах в асептичних умовах. Суть його полягає у збільшенні коефіцієнту розмноження, мініатюризації процесу, оздоровленні та одержанні морфологічно вирівняного матеріалу.

Впродовж останніх десятиріч розроблено ефективні методи розмноження різних видів і форм рослин *in vitro* [3, 5, 6, 8].

Відомості стосовно розмноження *S. sana* у культурі *in vitro* нам невідомі, тому розробка методу мікроклонального розмноження рослин даного виду є актуальною.

Метою наших досліджень була розробка ефективних прийомів культивування рослин *S. sana* в умовах *in vitro* та підбір оптимального складу живильного середовища для індукції морфогенезу, яке дозволило б збільшити коефіцієнт розмноження.

### Матеріали та методи

Дослідження проведено у лабораторії мікроклонального розмноження рослин Національного дендропарку «Софіївка» НАН України. Для забезпечення генетичної стабільності розмножуваних зразків *S. sana* за експланти використовували пагони з бічними і апікальними бруньками. Підготовку ізольованих верхівок до посадки на живильне середовище починали із ізоляції тканин на інтактних рослинах. Експланти відокремлювали завдовжки 1–2 см, бо вони мають високу регенераційну здатність. Чим більший розмір експланту, тим легше відбуваються процеси морфогенезу, що закінчуються одержанням цілісної пробіркової рослини. Відбір живців здійснювали у травні-червні від зовнішньо здорових без фізіологічних відхилень кущів *S. sana*. Базовим живильним середовищем слугувало середовище за прописом Мурасіге і Скуга (МС) [9] з додаванням сахарози 30 г/л, агар-агар 7 г/л. рН середовища становила 5,6–5,8.

В експериментах використовували наступні регулятори росту: 6-бензиламінопурин (6-БАП) та  $\beta$ -індолилмасляну кислоту (ІМК).

У роботі використовували методи культури рослинних тканин та індукції морфогенних процесів *in vitro*. Культивування експлантів проводили у культуральній кімнаті з кондиційованим повітрям на скляних стелажах, при температурі  $25 \pm 1$  °С, відносній вологості повітря 70–75%, фотоперіоді 16 годин і штучному освітленні інтенсивністю 3–5 тис. люкс. Посуд, матеріали, інструменти та живильні середовища стерилізували згідно загальноживильних методик [4, 7].

### Результати досліджень та їх обговорення

Процес мікроклонального розмноження рослин *S. cana* нами умовно розділено на декілька послідовних етапів: стерилізація рослинного матеріалу, введення його у культуру *in vitro*, морфогенез.

На першому етапі при введенні в культуру *in vitro* для знищення патогенної мікрофлори на поверхні експлантів використовували ступінчастий процес стерилізації. Експланти попередньо обробляли 0,5% водним розчином комерційного препарату BTC 885 (Irax Cleanogel, USA) впродовж 30 сек. і власне стерилізаторами. Як стерилізуючі речовини випробували водні розчини різних хімічних реагентів, зокрема

2,5% гіпохлорит натрію (NaOCl), 0,1% дихлорид ртуті (HgCl<sub>2</sub>) та 0,8% нітрат срібла (AgNO<sub>3</sub>) з різними експозиціями. Для більш ефективної дії до кожного із реагентів додавали емульгатор «Твін 80». Після обробки реагентом експланти тричі промивали дистильованою стерильною водою протягом 10–15 хв., після того висаджували на модифіковане нами живильне середовище МС. Впродовж семи діб у кожному з варіантів визначали ефективність стерилізації, підраховуючи відсоток стерильних та інфікованих експлантів. Життєздатність та некротичність введених експлантів оцінювали через 25 діб (табл. 1).

#### 1. Ефективність стерилізації експлантів рослин залежно від стерилізаторів та експозиції

Стерилізатор та концентрація	Експозиція, хв.	Ефективність стерилізації експлантів					
		інфіковані		некротичні		життєздатні	
		шт.	%	шт.	%	шт.	%
Гіпохлорит натрію — 3,5%	1,0	18,8	94,0	0	0	1,2	6,0
	1,5	14,9	74,5	0	0	5,1	25,5
	2,0	12,2	61,0	0,6	3,0	7,2	36,0
	2,5	11,4	57,0	1,1	5,5	7,5	37,5
Дихлорид ртуті — 0,1%	1,0	1,4	7,0	0,9	4,5	17,7	88,5
	1,5	0,4	2,0	1,1	5,5	18,5	92,5
	2,0	0,3	1,5	2,2	11,1	17,5	87,5
	2,5	0,1	0,5	7,0	35,0	12,9	64,5
Азотнокисле срібло — 0,8%	1,0	4,4	22,0	4,5	22,5	11,1	55,5
	1,5	3,3	16,5	2,9	14,5	13,8	69,0
	2,0	1,8	9,0	8,0	40,0	10,2	51,0
	2,5	1,1	5,5	12,6	63,0	6,3	31,5

Результати випробування стерилізаторів при різних експозиціях показали, що найбільший вихід життєздатних експлантів (92,5%) одержано при використанні водного розчину 0,1% дихлориду ртуті при експозиції 1,5 хв (табл. 1). Показники ефективності стерилізації мікроживців *S. cana* із застосуванням нітрату срібла були досить високими, хоча і поступалися варіантам із застосуванням дихлориду ртуті на 33,3%, 23,5%, 36,5% та 33,0% відповідно.

Найменш ефективним стерилізатором виявився гіпохлорит натрію (NaOCl). Його застосування при експозиції 1–2,5 хв забезпечило отримання лише 6,0–37,5% життєздатних експлантів.

Після стерилізації експланти переносили для культивування на живильне середовище МС модифіковане різним вмістом регуляторів росту: 6-бензиламінопуріну (БАП), β-індолилмасляної кислоти (ІМК).

Впродовж 15–20 діб від моменту перенесення експлантів на живильні середовища, спостерігали розростання з різною інтенсивністю базальної частини експлантів та формування впродовж наступних 5–10 діб зачатків адвентивних бруньок.

За результатами вивчення здатності експлантів *S. cana* до морфогенезу у різних варіантах живильних середовищ виявлено істотну різницю між варіантами дослідів (табл. 2).

## 2. Залежність пагоноутворення від регуляторів росту та їх концентрацій

Регулятори росту, $\mu\text{M}$		Довжина пагонів, см	Кількість пагонів, шт.	Коефіцієнт розмноження
БАП	ІМК			
2,22	0	$2,23 \pm 0,11$	$1,98 \pm 0,07$	$2,21 \pm 0,06$
	0,25	$2,61 \pm 0,10$	$2,33 \pm 0,08$	$3,04 \pm 0,15$
	0,49	$4,80 \pm 0,24$	$2,97 \pm 0,15$	$7,13 \pm 0,36$
	0,98	$5,27 \pm 0,26$	$2,74 \pm 0,14$	$7,22 \pm 0,36$
4,40	0	$3,02 \pm 0,15$	$11,27 \pm 0,56$	$17,02 \pm 0,25$
	0,25	$4,47 \pm 0,22$	$6,94 \pm 0,35$	$15,51 \pm 0,76$
	0,49	$5,59 \pm 0,28$	$7,05 \pm 0,35$	$19,70 \pm 0,34$
	0,98	$6,22 \pm 0,24$	$6,65 \pm 0,33$	$20,68 \pm 0,31$
8,90	0	$6,55 \pm 0,33$	$6,84 \pm 0,34$	$22,40 \pm 0,41$
	0,25	$6,41 \pm 0,17$	$7,17 \pm 0,36$	$22,98 \pm 0,42$
	0,49	$6,91 \pm 0,18$	$7,21 \pm 0,36$	$24,91 \pm 1,26$
	0,98	$6,58 \pm 0,33$	$6,94 \pm 0,35$	$22,83 \pm 1,14$
13,32	0	$2,29 \pm 0,11$	$6,30 \pm 0,32$	$7,21 \pm 0,36$
	0,25	$3,08 \pm 0,15$	$7,29 \pm 0,25$	$11,23 \pm 0,27$
	0,49	$3,84 \pm 0,19$	$8,65 \pm 0,43$	$16,61 \pm 0,83$
	0,98	$4,15 \pm 0,21$	$8,68 \pm 0,43$	$18,01 \pm 0,90$

Використання середовищ з  $2,22 \mu\text{M}$  БАП сприяло утворенню мінімальної кількості пагонів ( $1,98$ – $2,97$  шт.), середня довжина яких становила  $3,75$  см.

Додавання до живильного середовища БАП у концентрації  $13,32 \mu\text{M}$  збільшувало коефіцієнт розмноження, але така концентрація негативно впливала на анатомічну структуру експлантів через високий відсоток утворення калюсу на базальній частині пагонів.

Культикування експлантів на середовищі з додаванням БАП –  $2,22 \mu\text{M}$  та ІМК –  $0$ – $0,98 \mu\text{M}$  спричинило розвиток незначної кількості пагонів та придаткових бруньок, що характеризувались уповільненим ростом.

Використання середовища з додаванням БАП –  $4,40 \mu\text{M}$  та ІМК –  $0$ – $0,98 \mu\text{M}$  сприяло утворенню максимальної кількості пагонів  $6,65$ – $11,27$  шт., середня довжина яких становила  $4,62$  см.

На живильному середовищі з додаванням  $8,90 \mu\text{M}$  БАП та  $0,49 \mu\text{M}$  ІМК спостерігали максимальний приріст мікропагонів, високу морфогенну здатність, збільшення кількості міжвузлів, а коефіцієнт розмноження склав  $24,91$ .

Культикування експлантів на даному середовищі забезпечило активний ріст як центрального, так

і формування додаткових адвентивних пагонів на  $18$ – $24$  добу (рис.).



Рис. Морфогенез *S. cana*



У процесі розмноження отримані пагони мікроклонуювали кожних 35–50 діб, для цього експланти завдовжки 3–6 см відокремлювали від материнської рослини та розділяли на частини близько 2–3 см завдовжки.

Дослідження органогенезу *S. cana* в умовах *in vitro* та методів укорінення одержаних пагонів для подальшої адаптації рослин в умовах *ex vitro* та їх вирощування у відкритому ґрунті тривають.

### Висновки

Таким чином, досліджено особливості мікроклонального розмноження *Spiraea cana* Waldst. et Kit. в умовах *in vitro*. Виявлено залежність морфогенезу експлантів від гормонального складу живильних середовищ.

Найбільший відсоток стерильних експлантів (92,5%) одержано при використанні ступінчастого процесу поверхневої стерилізації: спочатку 0,5% водним розчином комерційного препарату ВТС 885 впродовж 30 сек., а потім 0,1% водним розчином дихлориду ртуті при експозиції 1,5 хв.

При мікророзмноженні рослин *S. cana* найбільш ефективною було живильне середовище з додаванням 8,90  $\mu\text{M}$  БАП та 0,49  $\mu\text{M}$  ІМК, де коефіцієнт розмноження становив 24,91.

Проведені дослідження мають гарні перспективи для масового розмноження *S. cana* з метою використання в озелененні та для збереження рідкісних рослин в природі.

### Список використаних джерел

1. Бонюк З.Г. Таволги (*Spiraea* L.): монографія / З.Г. Бонюк. — К.: Видавничо-поліграфічний центр “Київський університет”, 2008. — 248 с.
2. *Европейский Красный список животных и растений, находящихся под угрозой исчезновения во всемирном масштабе.* — Нью-Йорк: ООН, 1992. — 167 с.

3. *Интродукция, сохранение и использование биологического разнообразия мировой флоры: Материалы междунаро. конференции, посвященной 80-летию Центрального ботанического сада Национальной академии наук Беларуси.* (19–22 июня 2012 г., Минск, Беларусь). В 2 ч. Ч. 2 / Нац. акад. наук Беларуси, Централ. ботан. сад; редкол.: В.В. Титок и др. — Минск, 2012. — 492 с.
4. Калинин Ф.Л. Методы культуры тканей в физиологии и биохимии растений / Ф.Л. Калинин, В.В. Сарнацкая, В.Е. Полищук. — К.: Наук. думка, 1980. — 488 с.
5. Колдар Л.А. Таволги у культурі *in vitro* // 36. мат. Міжнар. конф. «Сучасні проблеми біології, екології та хімії, присвяченої 20-річчю біологічного факультету ЗНУ (29 березня-1 квітня 2007 р., Запоріжжя) / Л.А. Колдар, М.В. Небиков, Н.В. Руденко. — Запоріжжя, 2007. — С. 503–504.
6. Константинов А.В. Использование культуры *in vitro* для массового размножения декоративных кустарников рода Спирея (*Spiraea*) // Актуальні проблеми озеленення населених місць: освіта, наука, виробництво, мистецтво формування ландшафту: Матеріали II Міжнародної науково-практичної конференції (4–6 червня 2014 р., Біла Церква) / А.В. Константинов. — Біла Церква, 2014. — С. 49–51.
7. Кушнір Г.П. Мікроклональне розмноження рослин / Г.П. Кушнір, В.В. Сарнацька. — К.: Наук. думка, 2005. — 272 с.
8. Черевченко Т.М. Биотехнология тропических и субтропических растений *in vitro* / Т.М. Черевченко, А.Н. Лаврентьева, Р.В. Иванников. — К.: Наук. думка, 2008. — 559 с.
9. Murashige T. Skoog F. A revised medium for rapid-growth and bioassays with tobacco tissue cultures // *Physiol. Plant.* — 1962. — Vol. 15. — № 13. — P. 473–497.

М. В. Небыков<sup>1</sup>, Л. А. Колдар<sup>1</sup>, З. Г. Бонюк<sup>2</sup>, Н. М. Трофименко<sup>3</sup>, Н. М. Белемєць<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Національний дендрологічний парк «Софіївка» НІИ НАН України

<sup>2</sup>Ботаничний сад ім. акад. О. В. Фомина Київського національного університету ім. Тараса Шевченка

<sup>3</sup>Національний ботаничний сад ім. Н. Н. Гришко НАН України

## МИКРОКЛОНАЛЬНОЕ РАЗМНОЖЕНИЕ ТАВОЛГИ БЕЛОВАТО-СЕРОЙ (*SPIRAEA CANA* WALDST. ET KIT.)

Исследованы особенности микроклонального размножения *Spiraea cana* Waldst. et Kit. в условиях *in vitro*, стерилизация растительного материала, подбор и модификация питательных сред. Установлена зависимость морфогенеза эксплантов от гормонального состава питательных сред.

Ключевые слова: *Spiraea cana*, экспланты, стерилизаторы, питательная среда, морфогенез, регуляторы роста

M. V. Nebykov<sup>1</sup>, L. A. Koldar<sup>1</sup>, Z. G. Bonyk<sup>2</sup>, N. M. Trofimenko<sup>3</sup>, N. M. Belemets<sup>2</sup>

<sup>1</sup>National dendrological park «Sofiyivka» of NAS of Ukraine

<sup>2</sup>O.V. Fomin Botanical Garden

<sup>3</sup>M. M. Gryshko National Botanical Carden, NAS of Ukraine

## MICROCLONAL BREEDING IS WHITISH-GREY MEADOWSWEET (*SPIRAEA CANA* WALDST. ET KIT.)

The peculiarities of microclonal breeding of the *Spiraea cana* Waldst. et Kit. *in vitro*, sterilization of plant material, selection and modification of nutrient mediums were investigated. The dependence of the explants morphogenesis from hormonal composition of nutrient mediums has been considered.

Keywords: *Spiraea cana*, explants, sterilizers, nutrient medium, morphogenesis, growth regulators

УДК 581.143.5:582.711.714

Опалко О. А., Кучер Н. М.

Національний дендрологічний парк «Софіївка» НАН України

## ПОСТТРАВМАТИЧНІ РЕГЕНЕРАЦІЙНІ ПРОЦЕСИ У ПРЕДСТАВНИКІВ *PYRUS COMMUNIS* L. І *P. SALICIFOLIA* PALL.

На прикладі представників *Pyrus communis* L. і *P. salicifolia* Pall. розглянуті особливості феномену неморфогенної посттравматичної регенерації, завдяки якій відбувається гоєння усіляких ран у рослин. Порівняння темпів і інтенсивності загоювання ранок з датами штучних надрізів дає змогу умовно поділити вегетаційний період вивчених видів за їх регенераційними потенціалами на наступні етапи — наростання темпів регенерації, відносно їх зниження, друга хвиля наростання, і досить швидке згасання.

Виявлено тенденцію більшої залежності регенераційної потенціалу від коливань температури, ніж від кількості опадів і гідротермічного коефіцієнта. Висловлено припущення, що показник регенераційної здатності побічно свідчить про рівень екологічної адаптації досліджуваних генотипів, а періоди найбільшої