

Л. А. Колдар<sup>1</sup>, М. В. Небиков<sup>1</sup>, О. Д. Андрієнко<sup>2</sup>,

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

<sup>2</sup>Уманський державний педагогічний університет імені Павла Тичини

## ІНДУКЦІЯ ОРГАНОГЕНЕЗУ У ЕКСПЛАНТІВ *AMELANCHIER OVALIS* MEDIC. IN VITRO

У статті наведено результати досліджень індукції органогенезу експлантами *Amelanchier ovalis* Medic. за використання різних концентрацій ауксинів та цитокінінів (6-БАП,  $\beta$ -ІМК,  $\beta$ -ІОК, 2,4-Д), при розмноженні рослин на штучних живильних середовищах в асептичних умовах *in vitro*. З'ясовано, що проходження процесів диференціації та органогенезу у експлантів залежить від екзогенного вмісту ріст регулюючих речовин у живильному середовищі. Впродовж періоду культивування експлантів спостерігали формування адвентивних бруньок, пагонів, коренів та рослин-регенерантів.

Основним показником ефективності морфогенезу є коефіцієнт розмноження. У наших дослідах за використання різного кількісного співвідношення ростових регуляторів у другому пасажі одержано коефіцієнт розмноження 25 за використання 4,44  $\mu$ М 6-БАП, 0,98  $\mu$ М  $\beta$ -ІМК та 0,36  $\mu$ М 2,4Д. Вміст у живильному середовищі 2,85  $\mu$ М  $\beta$ -ІОК сприяв одержанню 73,2% укорінених рослин-регенерантів. Впродовж 70–80 діб після введення рослинного матеріалу у культуру *in vitro* одержали рослини-регенеранти придатні до перенесення на адаптацію до умов *ex vitro*.

### Вступ

*Amelanchier ovalis* Medik. (Ірга овальна) — вид рослин, що належить до родини *Rosaceae* Juss. Ареал поширення його займає гори Криму та Кавказу (Передкавказзя, Східне і Південне Закавказзя), трапляється в заростях чагарників та в освітлених лісах на узліссях і галявинах на висоті до 1900 м [4, 7]. У промислових масштабах ірга, як плодова культура, вирощується у США і Канаді, де, зокрема, серйозна увага приділяється селекційній роботі [10, 11].

Рослини *A. ovalis* морозо- та посухостійкі, невибагливі до ґрунтів, практично не пошкоджуються шкідниками і майже не уражуються збудниками хвороб. Завдяки декоративним властивостям цих рослин, особливо під час цвітіння, а також осіннього забарвлення, коли листки набувають темно-багряного

кольору, що надає їм привабливого вигляду, вони є цінним рослинним матеріалом при створенні алеї і куртин у парках та скверах. Рослини ірги добре витримують підстригання, що робить їх придатними для використання у створенні живоплотів. Висаджують іргу також невеликими групами у парках та скверах. Завдяки широкому діапазону екологічної витривалості *A. ovalis* може бути використана для озеленення промислово-забруднених територій [4].

Завдяки її лікувальним властивостям у народній медицині *A. ovalis* застосовують при хворобах зору, серця, шлунково-кишкового тракту, для зміцнення кровоносних судин тощо.

Основною передумовою одержання рослинного матеріалу для використання в різних галузях народного господарства є розробка методів масового розмноження та дорощування його до певних кондицій

зі збереженням господарчо-цінних ознак. До альтернативних, сучасних методів належить розмноження рослин у культурі *in vitro* — вирощування рослинного матеріалу (клітин, тканин, органів та рослин) в асептичних умовах на штучних живильних середовищах. Це один із способів вегетативного розмноження рослин в основу якого покладено тотипотентність клітин, тобто їх властивість під дією ріст регулюючих речовин повністю реалізувати свій генетичний потенціал, який забезпечує їх диференціацію і розвиток до цілого організму [1, 2, 3, 5]. Метод культури тканини забезпечує масовий вихід садивного матеріалу, тому метою нашої роботи було дослідження індукції органогенезу в експлантів *A. ovalis* Medik. за використання різних концентрацій ауксинів та цитокінінів при розмноженні в асептичних умовах *in vitro*.

### Матеріали та методи досліджень

**Рослинний матеріал.** У дослідженнях з визначення регенераційної здатності експлантів *A. ovalis*, за умов *in vitro*, використовували однорічні пагони з яких нарізали живці завдовжки 1–2 см з апікальними або пазушними бруньками, взяті у період активного росту (30.04–15.06) з 5-річних рослин, які ростуть на інтродукційній ділянці та в розсаднику Національного дендропарку «Софіївка» НАН України.

**Ріст регулюючі речовини (далі РРР).** Використовували метод індукції органогенезу у експлантів дією ріст регулюючих речовин: 6-бензиламінопурину (6-БАП),  $\beta$ -індолимасяної кислоти ( $\beta$ -ІМК),  $\beta$ -індолилцтовіої кислоти ( $\beta$ -ІОК), та 2,4-дихлорфеноксіцтовіої кислоти (2,4-Д) у різних концентраціях. Для індукції ризогенезу до живильного середовища додавали різні концентрації  $\beta$ -індолилцтовіої кислоти ( $\beta$ -ІОК). Як базове, використовували

живильне середовище Мурасіге і Скуга (МС) [9].

Вивільнення рослинного матеріалу від патогенної флори проводили за використання гіпохлориту натрію (NaClO), дихлориду ртуті (HgCl<sub>2</sub>) та нітрату срібла (AgNO<sub>3</sub>) з експозиціями 1, 2, 3 та 4 хв. [4].

**Умови культивування:** температура 24±1°C, фотоперіод 16 год., інтенсивність освітлення 3000–5000 лк, відносна вологість 70%.

Живильні середовища, посуд, матеріали та інструменти готували згідно методичних рекомендацій Калинина Ф. Л. (1980), Черевченко Т. М. (1986) та Кунаха В. А. (2005) [2, 6]. Дослідження проводили у лабораторії мікроклонального розмноження відділу фізіології, генетики, селекції та біотехнології рослин Національного дендропарку «Софіївка» НАН України.

### Результати досліджень та їх обговорення

Під час експерименту досліджували залежність диференціації у експлантів *A. ovalis* та процесів органогенезу від екзогенного вмісту РРР у живильних середовищах. Для диференціювання меристемних тканин з подальшою індукцією органогенезу (утворення адвентивних бруньок, пагонів, коренів та рослин-регенерантів тощо) одержані стерильні експланти переносили на живильне середовище Мурасіге і Скуга (МС), модифіковане різним вмістом РРР.

Впродовж наступних 14–18 днів спостерігали початкові етапи органогенезу — формування в основі експланта адвентивних бруньок, з яких у подальшому росли пагони, тобто відбувався процес морфогенезу. Основним показником ефективності морфогенезу є коефіцієнт розмноження, який у наших дослідженнях за використання різного кількісного співвідношення ростових регуляторів значно відрізнявся своїми показниками (табл. 1).

#### 1. Коефіцієнт розмноження експлантів *A. ovalis* залежно від вмісту у живильних середовищах РРР

Варіант	Регулятори росту, $\mu$ M				Коефіцієнт розмноження	
	6-БАП	$\beta$ -ІМК	$\beta$ -ІОК	2,4-Д	пасажі	
					I	II
I	2,22	2,46	0,57	—	2	4
II	3,55	1,48	—	—	5	25
III	4,44	0,98	—	0,36	3	9

1	2	3	4	5	6	7
IV	6,66	0,49	—	—	1	4
V	8,90	—	—	—	1	2

Вміст у живильному середовищі 3,55  $\mu\text{M}$  6-БАП та 1,48  $\mu\text{M}$   $\beta$ -ІМК (варіант II) сприяв найбільш активному проходженню процесів органогенезу та утворенню адвентивних пагонів (рис. 1), а коефіцієнт розмноження при різних пасажах становив відповідно 5 та 25. Значно менший коефіцієнт розмноження (3 і 9) одержали у варіанті III де вміст

6-БАП становив 4,44  $\mu\text{M}$   $\beta$ -ІМК — 0,98  $\mu\text{M}$ , а 2,4-Д — 0,36  $\mu\text{M}$ . Додавання до живильного середовища лише 6-БАП — 8,90  $\mu\text{M}$  призводило до зниження регенераційної здатності експлантів, що свідчило про залежність органогенезу у експлантів від вмісту та співвідношень у живильному середовищі 6-БАП та  $\beta$ -ІМК.



Рис. 1. Морфогенез у експлантів *A. ovalis*

При культивуванні експлантів на живильних середовищах протягом 24–35 діб у 70–85% експлантів формувались мікропагони завдовжки 4,0–6,0 см з сформованим центральним стеблом, які мали по три–чотири пари добре розвинутих листків. Одержані конгломерати розділяли на

окремі експланти. За результатами візуального оцінювання краще розвинуті пагони пасажували на свіже живильне середовище для досягнення ризогенезу. Для цього проводили підбір різних концентрацій ( $\beta$ -ІОК), яку додавали до середовища (табл. 2).

## 2. Ефективність ризогенезу у експлантів *A. ovalis* залежно вмісту у живильному середовищі $\beta$ -ІОК

$\beta$ -ІОК, $\mu\text{M}$	Укорінення пагонів		Середня кількість утворених коренів, шт.
	висаджено, шт.	утворено рослин-регенерантів, %	
0,57	15	7,9	1,6 $\pm$ 0,1
2,85	38	73,2	2,9 $\pm$ 0,2
5,71	26	49,5	1,8 $\pm$ 0,1
8,56	15	27,7	1,3 $\pm$ 0,1

Протягом 14–22 діб у висаджених для укорінення експлантів спостерігали початок коренеутворення — появу конусу наростання, який в результаті інтенсивного росту впродовж 15–18 діб досягав 3,1–3,6 см завдовжки (рис.2).



Рис. 2. 30-добова рослина-регенерант *A. ovalis*

У окремих експлантів утворювалися 2–3 корені.

Найбільшу кількість укорінених рослин-регенерантів одержали у варіантах з додаванням  $\beta$ -ІОК 2,85 та 5,71  $\mu\text{M}$ , де укорінення експлантів відповідно становило 73,2 та 49,5%. Менші за розмірами мікропагони висаджували на середовище МС з додаванням РРР для подальшого мікророзмноження з метою підвищення коефіцієнту розмноження та збільшення кількості садивного матеріалу. Тривалість пасажу в середньому складала 4–6 тижнів і залежала від умов культивування, темпу розмноження та характеру розвитку експланта.

### Висновки

1. У результаті проведеного експерименту нами досліджено багато ступеневий процес органогенезу експлантів *A. ovalis* (утворення адвентивних бруньок, пагонів, коренів та рослин-регенерантів).

2. Вміст у живильному середовищі 3,55  $\mu\text{M}$  6-БАП та 1,48  $\mu\text{M}$   $\beta$ -ІМК сприяв найбільш активному проходженню процесів морфогенезу та утворенню адвентивних пагонів, а коефіцієнт розмноження при першому та другому пасажі становив відповідно 5 та 25.

3. Найбільшу кількість укорінених рослин-регенерантів одержали у варіанті з додаванням  $\beta$ -ІОК 2,85  $\mu\text{M}$ , де укорінення експлантів становило 73,2%.

4. Впродовж 70–80 діб після введення рослинного матеріалу у культуру *in vitro* одержали рослини-регенеранти, які були придатні до перенесення на адаптацію до умов *ex vitro*.

### Перелік посилань

1. Валиханова Г.Ж. Биотехнология растений / Г.Ж. Валиханова. — Алмааты, «Конжык», 1996. — 272 с.
2. 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.
3. Катаева Н.В. Клональное микроразмножение растений / Н.В. Катаева, Р.Г. Бутенко. М., Наука, 1983. 96 с.
4. Колдар Л.А. Особливості стерилізації експлантів *Amelanchier ovalis* Medik. при введенні *in vitro* / Л.А. Колдар, А.І. Опалко, М.В. Небиков, О.Д. Андрієнко // Старовинні парки і ботанічні сади — наукові центри збереження біорізноманіття рослин та охорони історико-культурної спадщини: матер. міжнар. наук. конф., (Умань, 5–7 жовтня 2011 р.). — Умань: «Сочінський», 2011. — С. 256–258.
5. Лаврентьєва А.М. Використання біотехнологічних методів розмноження декоративних інтродуцентів / А.М. Лаврентьєва // Вісник Львівського університету. — Львів, 2004. — Вип. 36. — С. 137–145.
6. Кунах В.А. Біотехнологія лікарських рослин. Генетичні та фізіолого-біохімічні основи / Кунах В.А. — К.: Логос, 2005. — 730 с. 7. Флора УРСР. [у 12т.] / ред. тому Д.К. Зеров]. — К.: Вид-во АН УРСР, 1954. — Т. VI. — С. 46–47.

7. Черевченко Т.М. Орхидеи в культуре. / Т. Черевченко, Г. Кушнір. — Киев: Наук. думка, 1986. — 200 с.
8. Murashige T. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture / Toshio Murashige, Folke K. Skoog // *Physiol. Plant.* — 1962. — Vol. 15. — P. 473–497.
9. St-Pierre R. G. Growing saskatoons. A manual for orchardists / R. G. St-Pierre. — Department of Horticulture Sciences, University of Saskatchewan. Saskatoon: SK, 1997. — 338 p.
10. Zatylny A. M. Revised International Registry of Cultivars and Germplasm of the Genus *Amelanchier* / A. M. Zatylny, R. G. St-Pierre // *Small Fruits Review.* — 2003. — Vol. 2(1). — С. 51–80.

Рекомендувала до друку Куземко А. А.

Л. А. Колдар<sup>1</sup>, М. В. Небыков<sup>1</sup>, Е. Д. Андриенко<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Национальный дендрологический парк «Софиевка» НАН Украины

<sup>2</sup>Уманский государственный педагогический университет имени Павла Тычины

### ИНДУКЦИЯ ОРГАНОГЕНЕЗА У ЭКСПЛАНТОВ *AMELANCHIER OVALIS* MEDIC. IN VITRO

В статье приведены результаты исследований индукции органогенеза эксплантами *Amelanchier ovalis* Medic. при использовании разных концентраций ауксинов и цитокининов (6-БАП,  $\beta$ -ИМК,  $\beta$ -ИОК, 2,4-Д), при размножении растений на искусственных питательных средах в асептических условиях *in vitro*. Определено, что прохождение процессов дифференциации и органогенеза у эксплантов зависит от экзогенного содержания рост регулирующих веществ в питательной среде. В течении периода культивирования эксплантов наблюдали формирование адвентивных почек, побегов, корней и растений-регенерантов.

Главным показателем эффективности морфогенеза является коэффициент размножения. В наших исследованиях при использовании разного количественного соотношения ростовых регуляторов во втором пассаже получено коэффициент размножения 25 при использовании 4,44  $\mu$ М 6-БАП, 0,98  $\mu$ М  $\beta$ -ИМК та 0,36  $\mu$ М 2,4Д. Содержание в питательной среде 2,85  $\mu$ М  $\beta$ -ИОК способствовало получению 73,2% укорененных растений-регенерантов. В течении 70–80 суток после введения растительного материала в культуру *in vitro* получили растения-регенеранты придатные для перенесения на адаптацию в условия *ex vitro*.

L. A. Koldar<sup>1</sup>, M. V. Nebykov<sup>1</sup>, O. D. Andrienko<sup>2</sup>

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

<sup>2</sup>Pavlo Tychyna Uman State Pedagogical University

### ORGANOGENESIS INDUCTION FROM EXPLANTS *AMELANCHIER OVALIS* MEDIK. IN VITRO

The article reports on the results of studies of organogenesis induction from explants *Amelanchier ovalis* Medik. using various concentrations of growth regulating substances (auxin and cytokinin) in the process of reproduction under aseptic conditions *in vitro*, on artificial nutrient media. It was found that the processes of differentiation and organogenesis in explants depend on exogenous content of growth regulating substances in the culture medium. Forming endogenous buds, shoots, roots and plants regenerants were observed during the period of cultivating explants.

The main indicator of morphogenesis effectiveness is a net reproduction. In our experiments by using various quantitative ratio of growth regulators in the second passage, the net reproduction of 25 was obtained by using 4.44  $\mu\text{M}$  6-BAР, 0.98  $\mu\text{M}$   $\beta$ -ІМС and 0.36  $\mu\text{M}$  2,4-D. The content in the culture medium of 2.85  $\mu\text{M}$   $\beta$ -ІЕС contributed to obtaining 73.2% rooted plants regenerants. Within 70–80 days after the introduction of plant material in culture *in vitro*, plants regenerants were obtained suitable for transferring to adapt in conditions *ex vitro*.

УДК 581.543.5

Т. В. Копилова

Національний дендрологічний парк «Софіївка» НАН України

## ЗИМОСТІЙКІСТЬ ТА МОРОЗОСТІЙКІСТЬ ПРЕДСТАВНИКІВ РОДУ *PYRACANTHA* М. РОЕМ. В УМОВАХ ПРАВОБЕРЕЖНОГО ЛІСОСТЕПУ УКРАЇНИ

Наведено результати вивчення зимостійкості та морозостійкості представників роду *Pyracantha*, що ростуть в умовах Національного дендрологічного парку «Софіївка» НАНУ. Встановлено, що *P. coccinea* Roem., *P. crenatoserrata* (Hence) Rehd., *P. crenulata* (Roxb. ex D. Don) M. Roem., *P.* × 'Orange Charmer', *P.* × 'Red Cushion', відносно зимостійкі, а *P.* × 'Soleil d'Or' — слабозимостійка.

### Вступ

Успіх інтродукції багатьох деревних і кущових рослин у зонах із порівняно суворими кліматичними умовами залежить, насамперед, від стійкості рослин до несприятливих умов зимового періоду. При вивченні характеру перезимівлі враховують два види стійкості: морозостійкість та зимостійкість, причому перша є компонентом другої [5].

Під зимостійкістю розуміють весь комплекс пристосувань рослини до несприятливих умов навколишнього середовища після завершення періоду вегетації упродовж холодної пори року. Морозостійкість — здатність рослин витримувати без пошкоджень низькі зимові температури. Саме морозостійкість значною мірою визначає зимостійкість рослин [2, 5, 7]. Основним компонентом морозостійкості

є критична температура вимерзання рослин, тобто температура, за якої загибель від вимерзання становить > 50%. За даними Лічікакі В. М. [14], значення критичної температури вимерзання тісно пов'язано із середньою мінімальною температурою ґрунту за весь період перезимівлі рослин. Кожний вид має мінімальну температурну межу, нижче якої нормальна життєдіяльність його неможлива. Температура повітря визначає не тільки умови, але і тривалість періоду зимівлі рослин, який починається з моменту стійкого переходу температури повітря нижче 0 °С восени, а закінчується встановленням плюсової температури навесні. Умовно можна виділити три етапи розвитку морозостійкості: 1) входження у період спокою; 2) перша фаза загартування; 3) друга фаза загартування при температурах