

It is shown that on sandy soils Scots pine seedlings take root at 83-96%. In this case, the highest survival rate (96 %) was observed in the seedlings which were sealed trunks in sand to a depth of 8 cm with simultaneous local application of a landing slot 0.5 kg loess loam. In the same version, 11-year-old pine seedlings had dendrometric indicators on 56,0-92,3% higher and accumulated phytomass at 552.2% more than seedlings, grown at checkout.

Scots pine, sand, survival, seedlings, saplings, phytomass.

УДК 630.232:576.32

ОСОБЛИВОСТІ РИЗОГЕНЕЗУ ЕКСПЛАНТІВ МАГНОЛІЇ КОБУС (MAGNOLIA KOBUS DC.) В КУЛЬТУРІ IN VITRO

І. М. Бобошко-Бардин, кандидат сільськогосподарських наук

Наведено характерні риси та особливості коренеутворення на експлантах магнолії залежно від модифікацій складу живильних середовищ та апробованих стимуляторів. Науково обґрунтовано склад модифікації живильного середовища для завершального етапу морфогенезу.

Ризогенез, коренеутворення, експлант, рослина-регенерант, живильне середовище, нафтилоцтова кислота, Magnolia kobus DC.

Останніми роками активізувалася робота з розмноження деревних рослин методом культури тканин. Його застосовують, передусім, для видів, які важко розмножуються традиційними методами оскільки вирізняються низькою регенераційною здатністю як у природних умовах, так і в штучному середовищі [4, 13]. До таких належить і *Magnolia kobus* DC. Тому особливий інтерес становлять дослідження, спрямовані на розроблення технології її мікроклонального розмноження, з урахуванням видоспецифічних особливостей.

Для розмноження магнолії в умовах *in vitro* використовували такі методи: проліферацію верхівкових пагонів та пазушних бруньок [5, 9, 11], соматичний ембріогенез у недиференційованій калюсній тканині [8, 12, 14].

Численними дослідженнями А. Каменецької та М. Ланакової [10, 11] культивування представників Роду Магнолія проводили на середовищах Standarti і Catalano [10, 11], із половиною вмістом макро- і мікросолей та регулятором росту нафтилоцтової кислоти 0,1 мг·л⁻¹. За дослідженнями В. Ісак [9], Б. Ільсе [8], І. Чайдерун [6] та А.-М. Радомир [15] встановлено, що для культивування більшості рослин в умовах *in vitro* найпридатнішими є базові живильні середовища Мурасіге та Скуга (МС) і Смідта та Маккоуна (СМ). Останні вважають універсальними, оскільки у

своєму складі вони містять більшість поживних елементів у близькому до оптимального співвідношенні. Від інших середовищ вони відрізняються добре збалансованим вмістом амонійного і нітратного азоту, що особливо важливо для культивування магнолії кобус [11]. Їх гормональний склад є ключовим фактором для успішного розвитку деревних рослин в умовах *in vitro*. Проте культивування рослин на певних етапах органогенезу (ріст пагонів, ризогенез) потребує врахування їх специфічних фізіологічних особливостей.

Мета досліджень – підбір науково-обґрунтованого складу живильного середовища сприятливого за вмістом легкодоступних елементів живлення для індукції експлантами кореневої системи на етапі ризогенезу в умовах *in vitro*. На цьому етапі особливо важливим є стимулювання утворення корневих волосків та коренів другого порядку, які в майбутньому, значною мірою, визначають успішність процесу адаптації рослин-регенерантів до нових умов розвитку в *in vivo*.

Матеріали та методика досліджень. Під час проведення досліджень з підбору складу живильних середовищ враховано методичні рекомендації вітчизняних і зарубіжних авторів [6, 8, 9, 10, 11, 15] та раніше апробовані власні напрацювання.

Загалом, як свідчать літературні джерела, у процесі мікроклонального розмноження магнолій як компоненти живильного середовища в асептичних умовах найчастіше використовували 6-бензил-амінопурин (БАП) [9, 10, 11], тидіазурон (ТДЗ) [7], кінетин та зеатин у концентраціях від 0,1 до 5,0 мг·л⁻¹, а також фітогормони ауксинової природи – 2,4-діхлорфеноксид оцтова кислота, нафтилоцтова кислота (НОК), індолілмасляна кислота (ІМК) у концентраціях 0,1–19,6 мг·л⁻¹ [6].

В експериментальних умовах культивування експлантів магнолії кобус здійснювали на модифікованих складах живильних середовищ МС і СМ. Контролем в експерименті був базовий склад МС (табл. 1). До складу модифікованих живильних середовищ МС та СМ входили макро- та мікроелементи (N, P, K, Ca, S, Mg, Fe, B, Zn, Cu, Co, Mn, J, Mo), вітаміни (В₁ – тіамін, В₆ – піридоксин, РР – нікотинова кислота), вуглеводи (сахароза, цукроза), активоване вугілля, глютамін, гліцин, мезоінозитол (табл. 2.). Стимулювання пагоно- та коренеутворення досягали завдяки встановленню необхідних співвідношень цитокінінів (БАП, ТДЗ) та ауксинів (НОК, ІМК) і різними їх концентраціями у живильному середовищі.

У процесі морфогенезу регенерантів важливу роль відіграють регулятори росту. Оптимальний добір співвідношення та концентрації фітогормонів є невід'ємною частиною різних модифікацій складу живильних середовищ.

Ініціювання та утворення коренів у мікропагонів є не тільки завершальною фазою мікроклонального розмноження, а одним із найбільш складних його етапів. Ініціювання коренеутворення у процесі мікроклонального розмноження, як правило, досягається додаванням до живильного середовища ауксину [2, 3]. При цьому його ефективна дія

спостерігається лише на початкових фазах утворення коренів: диференціації тканин та індукції їх росту. У більш пізніх фазах ризогенезу наявність ауксину в живильному середовищі часто призводить до пригнічення появи та росту коренів. Тому укорінення у процесі мікроклонального розмноження виконують переважно у два етапи: спочатку мікропагони висаджують на живильне середовище з високою концентрацією ауксинів, а після появи перших коренів їх пасажують на середовище без регуляторів росту [1].

1. Вміст компонентів у маточних живильних середовищах МС та СМ

Вихідні компоненти	Наважка за МС, мг·л ⁻¹	Наважка за СМ, мг·л ⁻¹
Макроелементи		
NH ₄ NO ₃	1650	400
KNO ₃	1900	-
Ca(NO ₃) ₂ · 4H ₂ O	-	386
CaCl ₂ · 2H ₂ O	440	-
CaCl ₂ б/в	-	72,5
MgSO ₄ · 7H ₂ O	370	-
MgSO ₄ б/в	-	180,7
KH ₂ PO ₄	170	170
K ₂ SO ₄	-	990
Мікроелементи		
H ₃ BO ₂	5,2	6,2
Mn ₃ O ₄ · 4H ₂ O	22,3	-
MnSO ₄ · H ₂ O	-	22,3
ZnSO ₄ · 7H ₂ O	8,6	8,6
KJ	0,83	-
Na ₂ MoO ₄ · 2H ₂ O	0,25	0,25
CuSO ₄ · 5H ₂ O	0,025	0,25
CoCl ₂ · 6H ₂ O	0,025	-
Fe-хелат	37,8	37,8
Вітаміни		
Гліцин	2	2
Глутамін	-	2
Нікотинова кислота	0,5	0,5
Піридоксин	0,5	0,5
Тіамін	1	1
Агар-Агар*	7	8

Примітка: * наважка, г·л⁻¹

За літературними джерелами [8, 9, 10, 11], ініціювання ризогенезу більшості деревних рослин, у т. ч. і магнолії, доцільніше використовувати ауксин НОК, який вирізняється більшою швидкістю поглинання й транспортування тканинами рослин.

У дослідженнях із укорінення мікропагонів магнолії використовували модифіковане середовище МС та СМ зі стандартним та зменшеним удвічі вмістом мінеральних солей (табл. 2). Ризогенез стимулювали за допомогою ауксину НОК, який додавали до живильного середовища наважкою 0,1, 0,5, 1,0 та 1,5 мг·л⁻¹. На гормональне середовище пересаджували мікропагони завдовжки 20 мм і більше, оскільки менші за розмірами, як показали попередні спроби, не так інтенсивно утворюють кореневу систему, повільніше ростуть, що часто стає причиною їх загибелі під час адаптації рослин-регенерантів до умов *in vivo*.

Дослідження з індукції органогенезу виконували у 3-кратній повторності по 30 шт. на кожен варіант. Під час досліджень визначено такі показники: коефіцієнт розмноження як кількість розвинених пагонів з одного експланту (шт/експлант), довжина пагона (мм), частота укорінення (%), кількість коренів із одного регенеранта (шт.).

2. Модифікації складу живильного середовища апробовані в експерименті з активізації ризогенезу експлантів магнолії кобус

Номер варіанта	Живильне середовище	Регулятор росту НОК, мг·л ⁻¹
1	МС	0,1
2		0,5
3		1,0
4		1,5
5	МС 1/2 макро- і мікросолей	0,1
6		0,5
7		1,0
8		1,5
9	СМ	0,1
10		0,5
11		1,0
12		1,5
13	СМ 1/2 макро- і мікросолей	0,1
14		0,5
15		1,0
16		1,5

Результати досліджень. Швидкодіючий ауксин НОК, унаслідок сильної інактивації НОК-оксидази, позитивно вплинув на укорінення експлантів магнолії кобус та проявив значний стимулюючий ефект на кількісні та якісні показники розвитку дослідних рослин.

У проведених дослідженнях перше коріння на мікропагонах висаджених на живильне середовище з різним вмістом НОК почало

з'являтися, залежно від варіанта, на 42–60-й день культивування. В усіх варіантах експерименту в процесі укорінення утворення калюсу на базальній частині експлантів не спостерігалось. При цьому, на живильному середовищі СМ, на відміну від МС, в усіх варіантах, незалежно від концентрації НОК, відзначено високу коренеутворюючу здатність мікропагонів, яка проявлялась активним утворенням 2–4 корінців нормальної морфології завдовжки 4–12 см (табл. 3).

Менш активно утворювалися корені мікропагонів, які були висаджені на живильне середовище МС із половинним вмістом макро- і мікросолей (варіанти 5–8), тоді як у варіантах із повним вмістом солей ризогенез не відбувся взагалі. При цьому на середовищі МС з половинним вмістом макро- та мікросолей формувалося поодинокі білі коріння у 29–37 % експлантів.

3. Особливості морфогенезу магнолії кобус в умовах *in vitro* під впливом нафтилоцтової кислоти

Номер варіанта середовища	Регулятор росту НОК, мг·л ⁻¹	Висота рослин, мм	Частка укорінення, %	Кількість коренів, шт/ експлант	Середня довжина корінців, см	Калюс
1	0,1	16,4±2,0	-	-	-	-
2	0,5	20,8±1,6	-	-	-	-
3	1,0	20,2±2,2	-	-	-	-
4	1,5	20,0±1,5	-	-	-	-
5	0,1	19,0±0,9	29	1–2	3–4	-
6	0,5	16,0±1,8	32	2–3	4–9	-
7	1,0	21,0±1,9	37	1–2	4–9	-
8	1,5	24,6±1,4	34	2–3	4–7	-
9	0,1	16,8±0,9	11	2–4	5–9	-
10	0,5	22,2±0,8	46	2–3	4–8	-
11	1,0	20,8±1,2	52	2–4	7–9	-
12	1,5	23,8±1,5	43	2–3	5–9	-
13	0,1	17,0±1,1	66	2–3	4–7	-
14	0,5	28,4±2,1	74	3–4	6–12	-
15	1,0	18,0±1,1	54	2–3	7–9	-
16	1,5	26,8±1,5	70	3–4	6–0	-

Утворені корінці експлантів були малими за розмірами – 3–9 см, та ослабленими, більшість з них при наступних маніпуляціях відривалася. На гормональному середовищі МС з повним вмістом макро- і мікросолей (варіанти 1–4) через 2–3 тижні культивування листки рослин починали засихати або ставали водянистими, набували коричневого кольору та гинули. Недостатньо розвинена коренева система надалі суттєво погіршувала адаптаційну здатність рослин-регенерантів магнолії та не сприяла їх виживанню в умовах *in vivo*.

Однією з видових особливостей магнолії кобус є значно повільніше, ніж в інших рослин, коренеутворення пов'язане з високим ендогенним вмістом цитокинінів, які інгібують процес ризогенезу.

Активніше процес ризогенезу, як було зазначено, відбувався на середовищі СМ. Максимальний показник укорінення було отримано через два місяці культивування на середовищі СМ із половинним вмістом мікро- і макросолей 54–74 %. Після появи корінців стебло витягувалося, черешки листків подовжувалися та розросталася листкова пластинка. Корені за два тижні досягали довжини 5–20 мм. Отримані рослини-регенеранти відрізнялися вищими показниками росту та розвитку: більш розвиненою кореневою системою з достатньою кількістю корінців та їх довжиною; формуванням на пагонах великих листків.

Висновки

З літературних джерел відомо, що розмноження магнолії кобус в умовах *in vitro* мало досліджувалось і досить часто результати були негативними. За результатами наших досліджень, на середовищі МС ризогенезу не було виявлено взагалі, що підтверджується й експериментальними даними С. Чайдарун [6]. Максимальна частка укорінених експлантів магнолії кобус (74 %) мала місце у рослин-регенерантів за 14 варіантом модифікованого середовища СМ із вмістом 0,5 та 1,5 мг·л⁻¹ НОК. У цьому варіанті більшість рослин-регенерантів стали придатними до адаптації вже через 2–2,5 місяця.

Список літератури

1. Катаева Н. В. Клональное микроразмножение растений / Н. В. Катаева, Р. Г. Бутенко. – М. : Наука, 1983. – 96 с.
2. Кушнір Г. П. Мікроклональне розмноження рослин. Теорія і практика / Г. П. Кушнір, В. В. Сарнацька. – К. : Наук. думка, 2005. – 243 с.
3. Мельничук М. Д. Біотехнологія рослин : підруч. / М. Д. Мельничук, Т. В. Новак, В. А. Кунах. – К. : ПоліграфКонсалтинг, 2003. – 520 с.
4. Минченко Н. Ф. Магнолии на Украине / Н. Ф. Минченко, Т. П. Коршук. – К. : Наук. думка, 1987. – 184 с.
5. Callogénesis in vitro de El Redondo (*MAGNOLIA YORONCONTE* Dandy) a partir de la siembra apolar de explantes foliares Freddy Mauricio Llive Condor Zamorano [Електронний ресурс] / Режим доступу : http://bibagr.ucla.edu.ve/cgi-win/be_alex.exe?Acceso=T070500052206/19&Nombrebd=bvetucla
6. Chaidaroon S. In vitro Root Initiation of 'Champi Sirindhorn' (*Magnolia sirindhorniae* Noot. & Chalernglin) / S. Chaidaroon, I. Ungvichian, K Ratanathavornkiti // AU Journal of Technology. – Vol. 7, № 3. – 2004. – P. 120-132 [Електронний ресурс]. – Режим доступу : http://www.journal.au.edu/au_techno/2004/jan04/index.html
7. Domínguez F. Honokiol and magnolol production by in vitro micropropagated plants of *Magnolia dealbata*, an endangered endemic Mexican species / F. Domínguez, M. Chávez, M.L. Garduño-Ramírez, VM Chávez-Avila, M. Mata, F. Cruz-Sosa [Електронний ресурс] // Режим доступу :

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20334134>

8. Ilse E.G. Biedermann. Factors affectin establishment and deveopment hybrids in vitro / Ilse E.G. Biedermann // Symposium on In Vitro Problems Related to Mass Propagation of Horticultural Plant [Электронный ресурс]. – Режим доступу : [http:// www.actahort.org/books/212/212_104.htm](http://www.actahort.org/books/212/212_104.htm)

9. Isac V. In vitro propagation of *Magnolia x Soulangeana* Soul – Bod. Hybrid – factors affecting axillary buds proliferation; Rez. Lucrări științifice USAMV, Ion Ionescu de la Brad Iasi, Facultatea de horticultura, Anul LI, vol 51, Seria Horticultură, Iasi 2008, ISSN 1454 – 7376. – P. 945–951.

10. Kamenicka A. Influence of selected carbohydrates on rhizogenesis of shoots saucer magnoliain vitro / Acta physiologiae plantarum. – Vol. 20, № 4. – 1998. – P. 425–429 [Электронный ресурс] // Режим доступу : <http://www.springerlink.com/content/x501xk8u5405hx72>

11. Kamenicka A. Micropropagation of selected *Magnolia* spp. *in vitro* / A. Kamenicka, M. Lanakova, J. Kuba // Propagation of Ornamental Plants. – 2000. – № 1. – P. 41–45.

12. Kim Y.W. Somatic embryogenesis and plant regeneration from immature seeds of *Magnolia obovata* Thunberg / Y. W. Kim, S. Y. Park, I. S. Park, H. K. Moon // Plant biotechnology reports. – 2007. – Vol. 1, № 4. [Электронный ресурс]. – Режим доступу : <http://www.springerlink.com/content/f3nm435v56580736/>

13. Knox G. W. Commercial nursery production of Magnoliaceae in the southern United States / G. W. Knox // Proceedings of the 2nd International Symposium on the Family Magnoliaceae. China, 2009. – P. 262–269.

14. Merkle S.A. Regeneration of bigleaf magnolia by somatic embryogenesis / S. A. Merkle, B. A. Watson-Pauley // Canadian Journal of Forest Research . – 1993. – P. 285–290.

15. Radomir A.-M. Research behavior of magnolia soulangiana in the rooting phase of *in vitro* / A.-M. Radomir, C.M. Tudor Radu //Scientifical paper USAMV.– București, 2008. – P. 258–261 [Электронный ресурс]. – Режим доступу : <http://www.anucraiova.3x.ro/v2009.html>

Приведены характерные черты и особенности корнеобразования на эксплантах магнолии в зависимости от модификаций состава питательных сред и апробированных стимуляторов. Научно обоснованно состав модификации питательной среды для завершающего этапа морфогенеза.

Ризогенез, корнеобразование, эксплант, растение-регенерант, питательная среда, нафтилукусная кислота, Magnolia kobus DC.

The personal touches and features of root arearing on on explants magnolia depending on medium modifications and approved growth regulators are resulted. Scientifically grounded of medium composition by modification for the finishing stage of morfogenezis.

Rhizogenezis, rootform, explant, plant-regenerant, medium, Naphthylacetic acid, Magnolia kobus DC.