

## **ВЕГЕТАТИВНЕ РОЗМНОЖЕННЯ SANSEVIERIA CYLINDRICA VOJ. (DRACAENACEAE SALISB.) В УМОВАХ ОРАНЖЕРЕЙНОЇ КУЛЬТУРИ ТА КУЛЬТУРИ IN VITRO**

Висвітлено питання вегетативного розмноження представників *Sansevieria cylindrica* в умовах *ex situ* та *in vitro*. Встановлено, що при веденні традиційної культури в умовах оранжерей помірного клімату найефективнішим є вегетативний спосіб розмноження (найкраще 20-сантиметровими листковими живцями восени). Оптимізовано методику мікроклонального розмноження даного виду. Рослини-регенеранти отримували шляхом непрямого органогенезу з калюсу листкових експлантів.

Рід *Sansevieria* Thunbg. нараховує близько 60 видів, поширених у тропічній Африці та Азії (Індія, о. Шрі-Ланка). Представники роду — це багаторічні трав'янисті або напівчагарникові кореневищні рослини з м'ясистими, щільними лінійними плоскими або циліндричними листками, що формують розетку [1, 9].

Завдяки значній екологічній пластичності у декоративному рослинництві давно використовують групу видів цього роду та їх декоративні форми. Крім того, на батьківщині деякі з них застосовують у медицині, а також як джерело цінного технічного волокна [3, 8, 11].

До маловивчених видів цього роду слід віднести *S. cylindrica* Voj. [2]. Це невибаглива в умовах культури рослина, яка легко переносить сухість повітря сучасних приміщень. У природі представники цього виду зростають у західній частині Африканського континенту [9]. Висока декоративна цінність *S. cylindrica* зумовлена оригінальним габітусом рослин. Рослини мають товсте, 2,5—3,5 см у діаметрі кореневище. Пагони несуть 3—6 циліндричних листків до 100 см завдовжки із загостреними верхівками. Суцвіття білі, 60—90 см заввишки, елемен-

ти віночку білі з рожевим відтінком, ароматні. Пагін наростає повільно, розвиваючись протягом трьох років. Галуження моно- або рідше дихазіальне.

Регенерація пагонів *ex situ* з листкових живців досить низька і, за даними деяких авторів, не перевищує 5% [6]. Отримання життєздатного насіння в умовах *ex situ* проблематичне. Саме з цих причин опрацювання методики вегетативного розмноження *S. cylindrica* має важливе значення для широкого впровадження рослин даного виду у фітодизайн.

Для найбільш поширених і цікавих видів роду (в тому числі для *S. trifasciata*, її декоративних форм та *S. cylindrica*) описано різні прийоми вегетативного розмноження: відокремленням дочірньої розетки, частиною пагона, живцюванням листком, частиною листка, а також розмноження в культурі *in vitro* [2, 5—7, 10]. При цьому зазначається, що при живцюванні листком або частиною листка *S. trifasciata* var. *laurentii* N.E.Br. втрачає характерну обляміваність по краю листка, а *S. trifasciata* var. *hahnii* hort. також нагадує типові представники *S. trifasciata* [5]. Відомо, що при регенерації *S. trifasciata* var. *laurentii* з жовтої частини листка рослини, що утворюються, здебільшого хлорофілдефектні і гинуть протягом

кількох тижнів [10]. Описані в літературі спроби розмножити *S. grandis* Hook. шляхом культивування листових експлантів у стерильних умовах були невдалими [5].

У своїй роботі ми спиралися на попередні дослідження, що стосувалися розмноження *in vitro* рослин з родини *Dracaenaceae* загалом та представників роду *Sansevieria* зокрема [6, 7, 10, 13—15]. Згідно з М.А. Каляєвою, для успішної регенерації рослин *S. cylindrica* з листових експлантів вирішальне значення має якісний та кількісний фітогормональний склад (нікотиноцтова кислота (НОК), бензиламінопурин (БАП), 2,4 D) на фоні поживного середовища Мурасіге—Скуга (МС). Автор відмічає низьку морфогенетичну здатність листових експлантів *S. cylindrica* порівняно з іншими видами роду. У запропонованій схемі розмноження за участю листових експлантів максимальна частота регенерації для *S. cylindrica* становила 35,7%. Рослини-регенеранти вкорінювалися на середовищі МС, що містило 1 мг/л НОК, при цьому частка вкорінених рослин дорівнювала 94% [6].

Метою нашої роботи було опрацювання технології клонального розмноження *S. cylindrica in vitro* та *ex situ*, отримання достатньої кількості морфологічно однорідного посадкового матеріалу й подальша його постасептична адаптація. Крім порівняння показників ефективності живцювання залежно від довжини живців, ми також досліджували ефективність використання живців, взятих з різних ділянок листової пластинки.

Досліди проведено впродовж 2002—2005 рр. на базі колекції сукулентних рослин НБС ім. М.М. Гришка НАН України. У фондових оранжереях підтримується температура в межах 22—28 °С, відносна вологість повітря — на рівні 65—70%, освітлення — природне. Для живцювання відбиралися сформовані листки з типових розеток генеративнозрілих рослин. Для укорінення живців використовували пісок. Живцювання проводили частинами листка 20, 10 та 5 см завдовжки. Живці завдовжки 20 см вичленовували з

40-сантиметрових листків. При цьому верхній частині листової пластинки присвоювали індекс "А", а нижній — "В". Живці 5—10 см завдовжки відбиралися аналогічним чином, частини листка позначали індексами згідно з латинським алфавітом, починаючи від верхівки листка. Площина зрізу листка була перпендикулярною до його довжини. Після поділу на сегменти та оброблення вугільним порошком живці підсушували протягом однієї доби. Вкорінення фіксували подекадно. Живцювання проводили у квітні та у вересні, що дало змогу порівняти його ефективність у різні пори року.

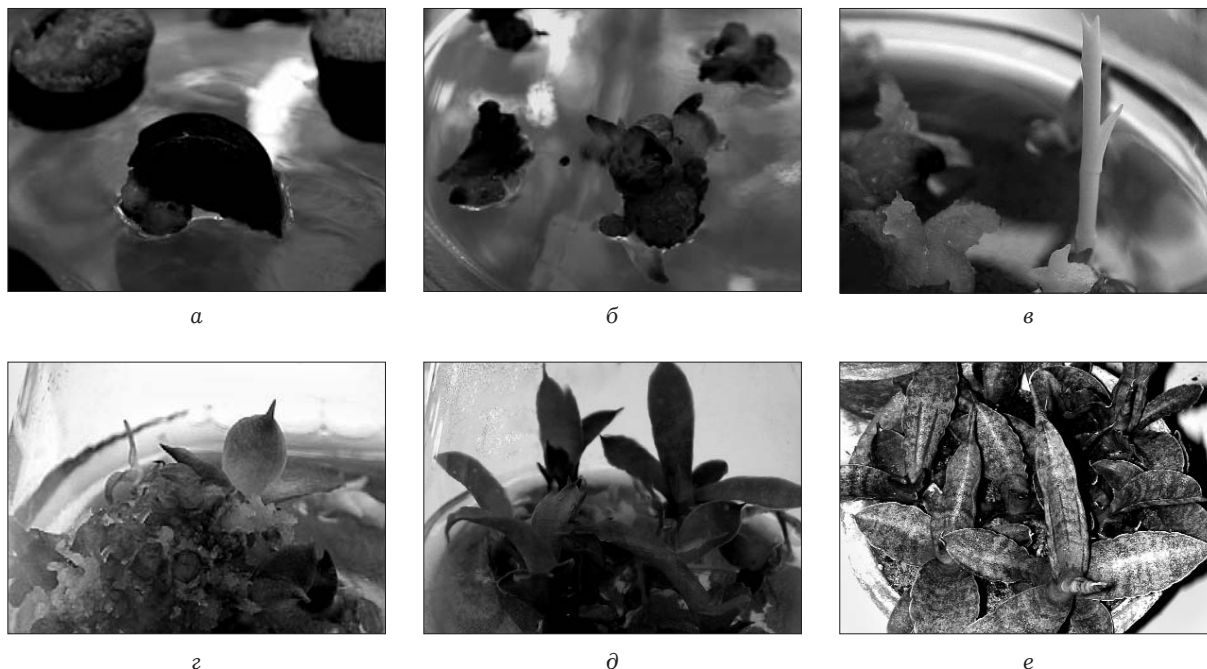
Відбір матеріалу (листові експланти) з інтактних рослин для асептичної культури проводили у жовтні. У роботі використовували верхні та середні частини листків. Процедура стерилізації листових експлантів складалася з кількох етапів, на яких застосовували: спирт (70%) — 2 хв; thimerosal (0,01%) — 17 хв; хлоракс (10%) — 15 хв;  $H_2O_2$  — 8 хв. Після кожного стерилізуючого розчину експланти ретельно відмивали у стерильній дистильованій воді.

Ділянки листка розсікали на сегменти завдовжки 2 см і після стерилізації розташовували їх на поверхні поживного середовища. В роботі використовували стандартні прийоми мікроклонального розмноження рослин [12]. На різних етапах розмноження застосовували модифіковані середовища Мурасіге—Скуга та Піріка.

Схема мікроклонального розмноження складалася з кількох етапів — отримання калюсної тканини, ініціації процесів гомогенезу в калюсі та отримання пагонів *S. cylindrica*, вкорінення рослин-регенерантів та подальшої їх постасептичної адаптації.

Ємності з рослинами розміщували у культуральному приміщенні при температурі 23—27 °С та 10-годинному фотоперіоді. Як початкове для введення в асептичну культуру нами було обране середовище Піріка з 0,1 мг/л БАП.

Калюсні тканини *S. cylindrica* культивували в темряві у термостаті за температури



Мікроклональне розмноження *S. cylindrica* Woj.:

*a* — проліферація первинного калюсу з листових експлантів; *б* — калюсна культура *S. cylindrica*, початкові етапи гомогенезу; *в* — органогенез у темряві, формування етіолованих пагонів з видовженими міжвузлями; *г* — органогенез на світлі; *д* — рослини-регенеранти *S. cylindrica*, придатні до висадки у субстрат; *е* — постсептична адаптація рослин-регенерантів

24 °С. Кількість зразків калюсу у кожному варіанті становила від 10 до 15 шт. при двократній повторності.

Рослини-регенеранти висаджували у попередньо простерилізований субстрат (2 атм при 130 °С/2 год), що містив листяну землю та пісок (1:1). Постсептичну адаптацію рослин-регенерантів проводили в кліматичній камері за таких умов: вологість повітря 80—90%, температура 23—25 °С та 8-годинний фотоперіод. Рослини-регенеранти приживалися на 100%, а за 35—40 діб їх переносили до оранжерей.

У роботі використовували стандартні методи статистичної обробки [4].

Після стерилізації листових експлантів, перед їх розміщенням на поживному середовищі, поновлювали місця зрізів. Під час роботи з'ясувалося, що важливе значення має також орієнтація експланта у просторі — калюс утворювався лише на тих

експлантах, просторова орієнтація яких не була порушена. Експланти, розташовані базальною частиною догори, калюс практично не утворювали. За нашими спостереженнями, листові експланти *S. cylindrica* здатні утворювати два типи калюсу: пухкий та щільний. Останній, що мав здатність до регенерації, був світло-зеленого кольору і формувався зазвичай безпосередньо біля ушкодженої поверхні експланта (див. рисунок, *a*). Пухкий калюс не був морфогенним, мав світло-коричневе забарвлення і наростав неупорядковано навколо травмованих ділянок експланта. Пухкі калюсні маси клітин формувалися після того, як на поверхні експланта сформувався калюс, здатний до регенерації, тому ми припускаємо, що за походженням він є вторинним.

Перші ознаки калюсоутворення на листових експлантах зафіксовано через 35—40 діб від моменту введення в культуру *in vit-*

го. Через 70 діб після цього маса первинного калюсу була достатньою для здійснення першого пасажу (див. рисунок, б). Для зменшення відсотка випадіння ділянки первинного калюсу переносили на свіже поживне середовище разом зі шматочками материнської тканини. За таких умов спостерігалися лише поодинокі випадки відмирання щойно пересаджених конгломератів калюсних клітин.

Нами проводилися дослідження з оптимізації фітогормонального балансу поживного середовища для інтенсифікації процесів калюсоутворення та органогенезу. Як базове для проліферації калюсу *S. cylindrica* ми використовували середовище Піріка. В експерименті різні варіанти середовища відрізнялися за наявністю та співвідношенням основних груп фітогормонів. Експеримент щодо оптимізації процесів проліферації калюсу проводили на світлі і в темряві. Тривалість досліду — 40 діб (див. табл. 1).

Аналіз результатів вивчення процесів регенерації та подальшого органогенезу з калюсних мас *S. cylindrica* показав, що найбільша частота регенерації спостерігалася на середовищі Піріка з 1 мг/л БАП. Причому в темряві зазначені процеси відбувалися інтенсивніше, ніж на світлі. Рослини-регенеранти, що сформувалися за умов затемнення, мали видовжені міжвузля, їхні листові пластинки були редуковані до етіолованих лусочок, які щільно огортали вісь пагона (див. рисунок, в). У подальшому такі пагони відділяли від калюсу і переносили на світло. Кожен з них розділяли на окремі сегменти за кількістю міжвузль. З бруньок, розташованих у пазусі кожного недорозвиненого листка рослини-регенеранта, на середовищі МС з 4 мг/л аденіну за умов освітлення формувалась окрема розетка, яка згодом вкорінювалася на цьому ж середовищі (див. рисунок, г). За 45—55 діб ми отримували рослини, придатні до висадки у субстрат. Таким чином, розділяючи регенеровані у темряві етіоловані пагони ми змогли у 2—4 рази збільши-

Таблиця 1. Комбінований вплив фітогормонів на процеси регенерації та подальшого органогенезу з калюсу *Sansevieria cylindrica*

2,4-D, мг/л	БАП, мг/л	Темрява		Світло	
		СКР*, шт.	ЧР, %	СКР*, шт.	ЧР, %
—	—	1,0 ± 0,05	10	1,1 ± 0,08	8
	0,5	2,6 ± 0,12	53	2,6 ± 0,13	50
	1,0	3,2 ± 0,27	76	2,7 ± 0,12	72
	1,5	3,0 ± 0,21	64	2,4 ± 0,34	63
	2,0	2,5 ± 0,21	57	1,9 ± 0,30	54
0,1	—	1,2 ± 0,06	13	1,0 ± 0,02	14
	0,5	1,2 ± 0,06	38	1,0 ± 0,04	42
	1,0	2,2 ± 0,27	69	1,8 ± 0,11	70
	1,5	1,4 ± 0,11	24	1,4 ± 0,09	27
	2,0	1,5 ± 0,12	17	1,0 ± 0,02	12
0,5	—	0	0	0	0
	0,5	1,4 ± 0,08	13	1,0 ± 0,07	18
	1,0	1,2 ± 0,07	15	1,0 ± 0,04	18
	1,5	0	0	0	0
	2,0	0	0	0	0
1,0	—	0	0	0	0
	0,5	1 ± 0,03	13	0	0
	1,0	0	0	0	0
	1,5	0	0	0	0
	2,0	0	0	0	0

Примітки: СКР — середня кількість регенерантів на один калюсний конгломерат (5 × 5 мм), в якому відбувалися процеси регенерації; \* — наведено середньоарифметичні величини та середньоквадратичні відхилення; ЧР — частота регенерації (кількість зразків калюсу, які сформували регенеранти, загальна кількість — 100%).

ти кількість рослин-регенерантів *S. cylindrica*.

При регенерації на світлі найефективнішою виявилася та сама модифікація середовища Піріка. Однак показники частоти регенерації та середньої кількості рослин-регенерантів були дещо нижчими. Крім того, рослини-регенеранти мали типовий для ювенільних рослин *S. cylindrica* габітус, міжвузля в них були зближені, що істотно ускладнювало процедуру мікроклонування, і, відповідно, кількість рослин-регенерантів за такої схеми розмноження була

Таблиця 2. Ефективність живцювання *Sansevieria cylindrica* в різні пори року

Положення сегменту на листковій пластинці	Кількість укорінених живців, %		Середня кількість молодих рослин на вкоріненому живцю, шт.		Поява коріння, доба	
	Весна	Осінь	Весна*	Осінь*	Весна	Осінь
<i>Живці 20 см завдовжки</i>						
A	50,0	33,3	1,3±0,5	1,8±0,4	110—130	140
B	50,0	33,3	1,1±0,3	3,6±1,9	130	140
<i>Живці 10 см завдовжки</i>						
A	50,0	37,5	1,1±0,3	1,7±0,5	110—120	130—140
B	37,5	25,0	1,3±0,5	1,2±0,4	110—120	130
C	37,5	25,0	1,1±0,3	1,8±0,4	110—120	130—140
<i>Живці 5 см завдовжки</i>						
A	37,5	25,0	1,5±0,5	1,5±0,5	110—120	130—140
B	37,5	12,5	1,7±0,5	1,7±0,6	120—130	140
C	25,0	25,0	1,2±0,4	1,5±0,5	120	140
D	12,5	12,5	1,3±0,6	1,3±0,6	120	140

Примітка: \* — наведено середньоарифметичні величини та середньоквадратичні відхилення.

меншою (див. рисунок, д). Слід зазначити, що форма листкової пластинки у рослин-регенерантів була пласкою, тобто подібною до такої у сянців та регенерантів *ex situ* на початкових етапах онтогенезу. Циліндричні листки, типові для генеративних рослин, у рослин-регенерантів утворювалися в септичних умовах лише через 120—150 діб (див. рисунок, е).

Хід експерименту щодо вегетативного розмноження *S. cylindrica* в умовах оранжерей відображено у табл. 2. Узагальнюючи дані табл. 2, можна зробити висновок про те, що укорінення живців *S. cylindrica* може відбуватися в різні пори року. Кількість укорінених живців збільшується пропорційно до їх довжини. Так, навесні укорінилася половина живців завдовжки 20 см, а в осінній період — лише 33,3%. Живці 10 см завдовжки у весняний період укорінилися на 41,7%, а восени цей показник знизився до 28,6%. Живці 5 см завдовжки у весняний період

укорінилися на 28,1%, а в осінній період — на 18,8%. Отже, високий відсоток укорінення спостерігався навесні у живців 20 см завдовжки. У цей період поява першої розетки над поверхнею ґрунту відмічена на 225—230-у добу, восени — на 276—281-у. Слід зазначити, що під час осіннього живцювання збільшується ймовірність отримання кількох молодих рослин з одного живця, особливо на живцях 20 см завдовжки. Так, у весняний період з одного вкоріненого живця в середньому отримували 1,2 особини, а в осінній — 1,8. Якщо порівнювати ефективність використання живців завдовжки 20 см, то показники успішності вкорінення верхньої та нижньої ділянок листка однакові, хоча при осінньому живцюванні кількість рослин-регенерантів на один вкорінений живець більша, ніж при весняному.

При використанні живців 10 та 5 см завдовжки краще вкорінювалися живці з верхівки листкової пластинки (за єдиним винятком). Загалом укорінення навесні відбувалося на 10 днів швидше.

Отже, згідно з отриманими нами результатами, живцювання *S. cylindrica* краще проводити восени живцями завдовжки 20 см. Крім того, нами розроблена ефективна система асептичного розмноження представників *S. cylindrica* шляхом непрямого органогенезу з калюсу листкових експлантів генеративнозрілих рослин, яка складається з таких етапів:

- ініціація утворення первинного калюсу із сегментів листових пластинок та нарощення його маси (умови: базове середовище Піріка; світло 2—3 тис. лк; фотоперіод 10 год; температура 25—28 °С);
- регенерація пагонів (умови: темрява; середовище Піріка, модифіковане додаванням 1 мг/л БАП; температура 24 °С);
- дорощування та вкорінення рослин-регенерантів (умови: середовище МС з 4 мг/л аденіну; світло 2—3 тис. лк; температура 25—28 °С);
- постасептична адаптація рослин-регенерантів.

Досвід щодо розмноження *S. cylindrica* можна використати при розробці технології розмноження інших видів роду, що повільно наростають, є рідкісними або цікавими з ботанічного чи комерційного погляду, особливо тих, яким властиве монохазіальне галуження з малою кількістю (1—3) листків у розетці (*S. canaliculata* Carr., *S. singularis* N.E.Br., *S. stuckyi* Godefr. та ін.).

1. Белоус Ю.Н. Суккуленты. — М.: ЭКСМО; Донець: СКИФ, 2003. — 303 с.
2. Головкин Б.Н., Чеканова В.Н., Шахова Г.И. и др. Комнатные растения. — М.: Лесн. пром-сть, 1989. — С. 340—343.
3. Жизнь растений / Под ред. А.Л. Тахтаджяна. — М.: Просвещение, 1982. — Т. 6. — 543 с.
4. Зайцев Н.Г. Математическая статистика в экспериментальной ботанике. — М.: Наука, 1984. — 425 с.
5. Каляева М.А., Бурьянов Я.И. Регенерация однодольных растений рода *Sansevieria* in vitro // Биотехнология. — 1997. — № 2. — С. 38—43.
6. Каляева М.А. Бурьянов Я.И. Особенности регенерации сансевьеры цилиндрической (*Sansevieria cylindrica* Boj.) in vitro // Биотехнология. — 1999. — № 5. — С. 36—39.
7. Мак-Миллан Броуз Ф. Размножение растений. — М.: Мир, 1987. — 192 с.
8. Медведев П.Ф. Новые культуры СССР (волокнистые). — М.: Сельхозгиз, 1940. — С. 306.
9. Сааков С.Г. Оранжерейные и комнатные растения. — Л.: Наука, 1983. — 620 с.
10. Abou-Mandour A.A., Czygan F.-C. Kalluskulturen und Pflanzenregenerafte vor *Sansevieria trifasciata* cv. *laurentii* (Dracen.) // Gartenbauwissenschaft. — 1991. — 56, N 6. — S. 250—253.
11. Brown N.E. *Sansevieria*. A monograph of all the known species // Kew Bull. — 1915. — N 5. — P. 185—261.
12. Morel G. Tissue culture — a new means of clonal propagation of Orchids // Bot. Gaz. — 1964. — N 6. — P. 473—478.
13. Piven M.M., Barredo-Pool F.A., Borges-Argaez G.C., Robert M.L. The key events and its regulation during somatic embryogenesis in monocots: Agaves: Int. Sym. — Jalta, 2002. — P. 23.
14. Robert M.L., Herrera J.L., Contreras F., Scorer K.N. In vitro propagation of *Agave four-*

*croydes* Lem. // Plant Cell Tissue and Organ Culture. — 1987. — 8, N 1. — P. 37—48.

15. Schenk R.U., Hildebrandt A.C. Medium and techniques for induction and growth of monocotyledonous and dicotyledonous plant cell cultures // Can. J. Bot. — 1972. — 50. — P. 199—204.

Рекомендували до друку А.М. Лаврентьєва,  
Н.О. Денисьєвська

Р.В. Іванников, О.К. Хейлик

Национальный ботанический сад  
им. Н.Н. Гришко НАН Украины,  
Украина, г. Киев

#### ВЕГЕТАТИВНОЕ РАЗМНОЖЕНИЕ SANSE- VIERIA CYLINDRICA BOJ. (DRACAENACEAE SALISB.) В УСЛОВИЯХ ОРАНЖЕРЕЙНОЙ КУЛЬТУРЫ И КУЛЬТУРЫ IN VITRO

Освещены вопросы вегетативного размножения представителей *Sansevieria cylindrica* в условиях ex situ и in vitro. Установлено, что при ведении традиционной оранжерейной культуры в условиях оранжерей умеренного климата наиболее эффективным является вегетативный способ размножения (предпочтительно 20-сантиметровыми листовыми черенками осенью). Оптимизирована методика микроклонального размножения данного вида. Растения-регенеранты получены путем непрямого органогенеза из каллуса листовых эксплантов.

R.V. Ivannikov, O.K. Khejlyk

M.M. Gryshko National Botanical Gardens,  
National Academy of Sciences of Ukraine,  
Ukraine, Kyiv

#### VEGETATIVE REPRODUCTION OF SANSE- VIERIA CYLINDRICA BOJ. (DRACAENACEAE SALISB.) IN CONDITIONS OF HOTHOUSE CULTURE AND CULTURE IN VITRO

Problems of a vegetative reproduction of *Sansevieria cylindrica* representatives in conditions of ex situ and in vitro are described. It is established, that the vegetative method of reproduction (especially by 20-centimetre cuttings, in autumn) is the more effective for traditional hothouse cultures in conditions of moderate climate. The technique of the microclonal breeding of this species is optimized. Plants-regenerants are obtained by indirect organogenesis from the callus of leaf explants.