

РОЗВИТОК *CERCIS SILIQUASTRUM* 'ALBA' ЗА УМОВ *IN VITRO*

Приведено результати досліджень залежності процесів гомогенезу, ризогенезу з подальшим становленням життєвої форми рослин *Cercis siliquastrum* 'Alba' від вмісту у живильних середовищах різних концентрацій ріст регулюючих речовин, за умов *in vitro*.

**Вступ**

Рослинний світ, що нас оточує, поширений у різноманітних природно-кліматичних умовах. У ході еволюції рослини пройшли тривалий шлях свого становлення і виробили у собі пристосування до найбільш сприятливих умов росту тобто сформували життєву форму рослин. Найбільш різноманітні за життєвими формами — покритонасінні. Термін «життєва форма» вперше було вжито у 1884 р. датським ботаніком Е. Вармінгом, який розумів під цим «форму, в котрій вегетативне тіло рослини перебуває в гармонії із зовнішнім середовищем протягом усього життя». Вивченням життєвих форм організмів займалися багато вчених ботаніків. Існує кілька класифікацій життєвих форм, в основу яких покладено різні ознаки, як анатомічні так і фізіологічні. Особливо значний внесок у класифікацію життєвих форм внесли К. Раункієр і І. Г. Серебряков. Система Раункієра побудована на обліку одного критерію положення й способу захисту бруньок поновлення протягом несприятливого періоду (холодного або сухого). За визначенням І. Г. Серебрякова життєва форма — це своєрідний загальний вигляд певної групи рослин, який склався в їхньому онтогенезі внаслідок росту і розвитку у певних умовах середовища. Він історично виникає в даних ґрунтово-кліматичних умовах, як вияв пристосованості рослини до цих умов. Життєві форми таксонів формуються під дією як сприятливих так і несприятливих умов середовища і за класифікацією І. Г. Серебрякова [8] можуть бути як деревом так і кущем.

Однією з життєвих форм, що сформувалася в процесі еволюції та має відмінні риси від інших, є дерева, характерним для яких є утворення

єдиного стовбура, головної осі, що росте (у довжину та товщину) інтенсивніше інших пагонів і завжди прагне зберегти вертикальний напрям росту. Представником даної групи є рідкісний в Україні внутрішньовидовий таксон *Cercis siliquastrum* 'Alba' С. К. Schneid. (родина *Caesalpiniaceae* R. Br.). На відміну від основного виду, рослини якого утворюють рожеві квітки для *C. siliquastrum* 'Alba' характерне утворення квіток з білим забарвленням, що надає рослині надзвичайної декоративності і завдяки чому рослини цього таксону можуть бути широко використані у зеленому будівництві України.

Розмноження даної декоративної форми рослини можливе лише за використання вегетативного розмноження, зокрема культури *in vitro*, коли впродовж всього періоду культивування експлантів відбувається ріст, розвиток та відновлення життєвої форми рослини у формуванні якої важливу роль відіграють умови в яких вони ростуть [5]. Зокрема, при розмноженні *in vitro* такі умови для рослин створюють ріст регулюючі речовини (РРР), які і регулюють якісні зміни у рості рослин. Велике значення при становленні життєвої форми має властива майже кожному рослинному організмові біологічна особливість (гомеостаз) — здатність рослинної системи відновити себе, встановити втрачену внутрішню рівновагу. Як вказують Валиханова Г. Ж. та Катаєва Н. В., Бутенко Р. Г., при розмноженні рослин *in vitro* основною функціональною одиницею при відновленні рівноваги фізіологічних процесів є регенераційна здатність тотипотентних рослинних клітин, які під дією ррр здатні реалізувати власну генетичну інформацію, яка забезпечує їх диференціацію і розвиток до

цілого організму [2, 3]. Крім цього тотипотентність рослинної клітини має унікальну здатність — під впливом екзогенної дії фітогормонів детермінувати у двох напрямках — регенерації рослин з подальшим формуванням додаткових пагонів та ризогенезу з утворенням добре розвиненої кореневої системи. Тому мета роботи полягала у підборі такого складу регуляторів росту у живильних середовищах, який би сприяв активації морфогенних процесів у експлантів, максимальному пагоноутворенню, одержанню рослин-регенерантів, та повному відновленню життєвої форми розмножуваних рослин.

### Матеріали та методика досліджень

Досліди залежності формування життєвої форми у *Cercis siliquastrum* 'Alba' за умов *in vitro* від вмісту у живильних середовищах регуляторів росту проведено у лабораторії мікротонального розмноження Національного дендропарку «Софіївка» НАН України. У ході експерименту використано один із біотехнологічних методів — розмноження рослин *in vitro*, який базується на індукції морфогенезу, гомогенезу та ризогенезу дією регуляторів росту [1, 7]. Культивування експлантів проводили на живильному середовищі Мурасіге і Скута (МС) модифікованому різним вмістом регуляторів росту ауксинової та цитокінінової груп [10]. Для досягнення гомогенезу у живильних середовищах використовували 6-бензиламінопурин (6-БАП),  $\beta$ -індолилмасляну кислоту ( $\beta$ -ІМК), 2,4-Дихлорфеноксиацетову кислоту (2,4-Д), для ризогенезу —  $\beta$ -індолилацетову кислоту ( $\beta$ -ІОК),  $\alpha$ -нафтилацетову кислоту ( $\alpha$ -НОК). За первинні експланти використовували мікропагони з апікальною меристемою одержані з 1-річних пагонів 6-ти річних рослин *C. siliquastrum* 'Alba'. Спостереження за виникненням та формуванням морфологічних структур проводили впродовж періоду культивування експлантів, який умовно розділяли на три етапи: введення в культуру *in vitro*, гомогенез та ризогенез.

Умови культивування: температура  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , фотоперіод 16 год., освітленість 3000–5000 лк, відносна вологість повітря 70%. Посуд, матеріали, інструменти та живильні середовища готували згідно загальноприйнятих методик [6, 7, 9].

### Результати досліджень та їх обговорення

Введення *in vitro* рослинних експлантів, відокремлених від материнської рослини, порушує структуру

їхнього організму, майже повністю змінює стійкість внутрішнього стану, порушує координацію всіх внутрішніх реакцій, направлених на підтримку динамічної рівноваги.

Варто зазначити, що постійними і необхідними для здійснення як якісних так і кількісних змін у рослин є вегетативні органи, які впродовж усього життя забезпечують індивідуальний розвиток рослин.

У наших дослідах введені *in vitro* експланти були відділені від материнської рослини, а отже позбавлені всіх вегетативних частин рослини. Для подальшого росту і розвитку вони потребували відновлення як окремо втрачених частин так і в цілому життєвої форми. Досягти цього можливо лише створивши умови в яких можливе відновлення всіх вегетативних органів.

Тому першим етапом у відновленні життєвої форми рослин було досягнення експлантами морфогенезу. При розмноженні рослин *in vitro* значну роль відіграють ріст регулюючі речовини, які здійснюють координацію взаємодії клітин, тканин та органів, сприяють відновленню регуляції життєво важливих функцій та забезпеченню цілісності організму, запуск фізіологічних та морфологічних процесів. Для цього стерильні експланти переносили на живильне середовище модифіковане різним вмістом РРР ауксинової та цитокінінової групи (табл. 1). Впродовж 18–24 діб спостерігали початкові процеси гомогенезу, як одного з типів морфогенезу, під час яких у експлантів під дією РРР утворювалися адвентивні бруньки.

Надалі ріст бруньок продовжувався і з них у подальшому, шляхом активації меристемних тканин починали формування додаткові пагони. Одержані дані свідчать, що активний плин морфогенних процесів залежав від вмісту у живильних середовищах різних концентрацій РРР. Так за вмісту у живильному середовищі 1,0 мг/л 6-БАП, 0,3 мг/л  $\beta$ -ІМК та 0,082,4 D (варіант III) утворювалося до 11 адвентивних пагонів (рис. 1). Зменшення концентрації 6-БАП до 0,5 та 0,1 мг/л (варіанти II та I) при вмісті 0,08 мг/л 2,4 D призводило до зниження морфогенної активності і кількість утворених пагонів становила відповідно 5 та 2 шт. Збільшення вмісту у живильних середовищах вищезгаданих ауксинів (варіанти IV, V, VI) не сприяло утворенню з одного експланта більшої кількості пагонів і становило відповідно 4 та 2 шт., а додавання до живильного

середовища 2,5 мг/л 6-БАП, 0,9 мг/л та 0,08 мг/л 2,4 D сприяло утворенню неморфогенного калюсу

Отже, у даному дослідженні найбільш ефективним виявилось живильне середовище у варіанті III.

1. Залежність гомогенезу у *C. siliquastrum* 'Alba' від вмісту у модифікованих живильних середовищах ріст регулюючих речовин

Варіант живильного середовища	Ріст регулюючі речовини, мг/л			Середня к-сть утворених пагонів, шт
	Цитокініни (6-БАП)	Ауксини		
		$\beta$ -ІМК	2,4 D	
I	0,1	—	0,08	2
II	0,5	0,1	—	5
III	1,0	0,3	0,08	11
IV	1,5	0,5	0,08	4
V	2,0	0,7	0,08	2
VI	2,5	0,9	0,08	0

Проте новоутворені пагони були придатні лише для подальшого розмноження *in vitro*. Для росту в умовах *ex vitro* вони потребували такого вегетативного органу, як коренева система. Для цього після 2–3 пасажів

від введення рослинного матеріалу *in vitro* визначали оптимальну фазу розвитку рослин під час якої вони були найбільш придатними до пересадки на живильні середовища для досягнення ризогенезу.



Рис. 1. Гомогенез у *C. siliquastrum* 'Alba' *in vitro*

Потенційна здатність до коренеутворення у експлантів могла бути реалізована лише при наявності у живильному середовищі відповідних концентрацій ауксинів. Додавання до середовища фітогормонів ауксинової групи сприяло активації корневих

зачатків у експлантів. Найбільш ефективним виявилось живильне середовище, яке містило  $\beta$ -ІОК 0,5 та  $\alpha$ -НОК 1,0 мг/л (варіант II) де ризогенез становив 68% (табл. 2).

## 2. Ризогенез експлантів *C. siliquastrum* 'Alba'

Варіант живильного середовища	Ауксини, мг/л		Ризогенез експлантів, %
	$\beta$ -ІОК	$\alpha$ -НОК	
I	0,1	0,5	18
II	0,5	1,0	68
III	1,0	1,5	5
IV	1,5	2,0	1

Зменшення вмісту  $\beta$ -ІОК до 0,1 та  $\alpha$ -НОК до 0,5 мг/л знижувало відсоток укорінених рослин до 18%, а збільшення концентрації вказаних гормонів  $\beta$ -ІОК до 1,0–1,5 мг/л, а  $\alpha$ -НОК до

1,5–2,0 мг/л призводило до значного погіршення ризогенезу у експлантів і укорінення становило відповідно лише 5 та 1%.

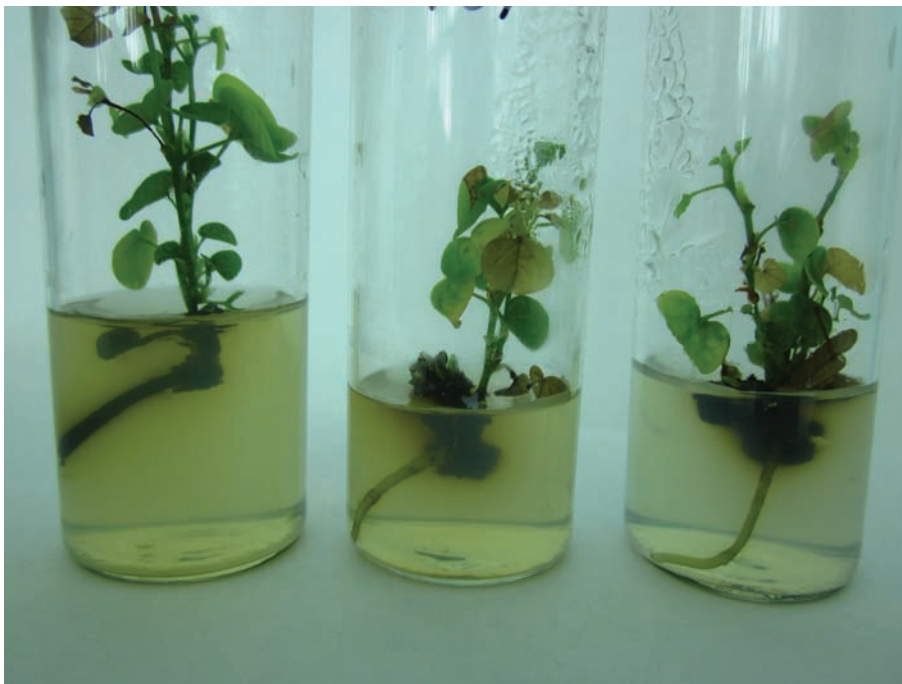


Рис. 1. Рослини-регенеранти *C. siliquastrum* 'Alba'

Впродовж 25–32 діб після висаджування експлантів на вказані середовища у них відбувалися як якісні так і кількісні зміни: ріст центрального пагона, початковий етап формування пагонової та кореневої системи. Через 120–130 діб від дати введення рослинного матеріалу у культуру *in vitro* одержали

рослини з повністю відновленою життєвою формою, які мали добре сформовану кореневу систему, міцне центральне стебло з 3–4 бічними пагонами. Одержані рослини були здатними до перенесення в умови *ex vitro* для адаптації до нестерильних умов.

## Висновки

1. При модифікації живильного середовища доданням 1,0 мг/л 6-БАП, 0,3 мг/л  $\beta$ -ІМК та 0,08 2,4 D з одного експланта утворювалося до 11 адвентивних пагонів.

2. Додавання до живильного середовища  $\beta$  ІОК 0,5 і  $\alpha$ -НОК 1,0 мг/л сприяло одержанню 68% укорінених рослин.

3. Розмноження рослин *C. siliquastrum* 'Alba' *in vitro* дало можливість з допомогою ріст регулюючих речовин ауксинової та цитокінінової групи сприяти проходженню морфогенних процесів: гомогенезу, ризогенезу та повного відновлення життєвої форми рослин.

## Перелік посилань

1. *Биотехнология растений: культура клеток.* / Пер. с англ. В. И. Негрука; С предисл. Р. Р. Бутенко. — М.: Агропромиздат, 1989. — 280 с.
2. *Валиханова Г. Ж.* Биотехнология растений / Валиханова Г. Ж. — Алматы: Конжык, 1996. — 272 с.
3. *Катаева Н. В.* Культура клеток и биотехнология / Н. В. Катаева, Р. Г. Бутенко. — М.: Наука, 1986. — 285 с.
4. *Калинин Ф. Л.* Методы культуры тканей в физиологии и биохимии растений / Калинин Ф. Л., Сарнацкая В. В., Полищук В. Е. — К.: Наук. думка, 1980. — 487 с.
5. *Колдар Л. А.* Фітогормональна регуляція морфогенних процесів у *Prunus serrulata* Lindl. *in vitro* / Л. А. Колдар, М. В. Небиков // *Збірник наукових праць «Автохтонні та інтродуковані рослини».* — 2011. — Вип. 7. — С. 76–81.
6. *Кунах В. А.* Біотехнологія лікарських рослин. Генетичні та фізіолого-біохімічні основи. / В. Кунах. — К.: Логос, 2005. — 730 с.
7. *Лаврентьева А. М.* Використання біотехнологічних методів розмноження декоративних інтродуцентів // *Вісник Львівського університету.* — Львів, 2004. — Вип. 36. — С. 137–145.
8. *Серебряков И. Г.* Экологическая морфология растений (Жизненные формы покрытосеменных и хвойных) / Серебряков И. Г. — М.: Просвещение, 1962. — 378 с.
9. *Черевченко Т. М.* Орхидеи в культуре. / Т. Черевченко, Г. Кушнір. — Киев: Наук. думка, 1986. — 200 с.
10. *Murashige T., Skoog F.* A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // *Physiol. Plant.* — 1962. — 15, № 13. — P. 473–497.

Рекомендувала до друку Куземко А. А.

Л. А. Колдар

Национальный дендропарк «Софиевка» НАН Украины

## РАЗВИТИЕ *CERCIS SILIQUASTRUM* 'ALBA' В УСЛОВИЯХ *IN VITRO*

Приведены результаты исследований зависимости процессов гомогенеза, ризогенеза с последующим становлением жизненной формы растений *Cercis siliquastrum* 'Alba' от содержания в питательных средах разных концентраций рост регулирующих веществ, в условиях *in vitro*.

L. A. Koldar

National Dendrological Park "Sofiyivka" NAS of Ukraine

## FORMATION OF THE *CERCIS SILIQUASTRUM* 'ALBA' *IN VITRO*

The results of investigations upon the dependence of the homogenesis processes, rhizogenesis followed by the formation of the *Cercis siliquastrum* 'Alba' vital form of the content of different concentrations of growth-regulatory substances in the nutrient medium under *in vitro* are represented.