

## РОЗРОБКА БІОТЕХНОЛОГІЧНИХ ПРИЙОМІВ РОЗМНОЖЕННЯ СУМАХА ПУХНАСТОГО (*RHUS TYPHINA* L.) *IN VITRO*

**М.О. Борщевський, аспірант\***

**О.Ю. Чорнобров,**

**А.А. Ключаденко, кандидати сільськогосподарських наук**

*Розроблено технологію розмноження сумаха пухнастого (*Rh. typhina* L.) в культурі *in vitro*. Підібрано оптимальний режим стерилізації експлантатів та досліджено вплив складових живильного середовища на морфогенетичну активність тканин і органів *in vitro*.*

***Rhus typhina* L., клональне мікророзмноження, експлантати, живильне середовище, стерилізація, асептичні експлантати, морфогенез, регулятори росту.**

Представники роду Сумах (*Rhus* L.) є особливо цінними з точки зору декоративності, тому останнім часом широко використовуються в системі озеленення м. Києва. Сумах пухнастий (*Rh. typhina* L.) та його декоративні форми культивуються в багатьох ботанічних садах, різних дендро-декоративних районів [8]. Такі декоративні якості, як життєві форми, розміри рослин, архітектоніка крони, форма, будова листя і суцвіть, зумовлюють культивування сумаха пухнастого (*Rh. typhina* L.) у багатьох містах України.

Серед інтродукованих у нашій країні декоративних форм у ботанічних садах можна зустріти с. оленерогий `Dissecta` (*Rhus typhina* L. var. *Dissecta* Rehd.), с. оленерогий `Laciniata` (*Rhus typhina* L. var. *Laciniata* Alph. Wood.) і с. оленерогий `Bailtiger` (*Rhus typhina* var. *Bailtiger* Tiger eyes). Листкові пластинки у них розсічені, що є особливою прикрасою для середовища, де вони зростають. На жаль, їх рідко використовують в озелененні вулиць, незважаючи на високу декоративність і невибагливість до умов зростання.

Використання розмноження рослин *in vitro* дає змогу вирішувати важливі проблеми рослинництва, а саме: в десятки і сотні тисяч разів збільшити коефіцієнт розмноження рослин, отримати генетично-однорідний, оздоровлений садивний матеріал. Цей метод можна застосовувати у селекційній роботі для репродукції нових гібридних сортів і отримання трансформованих рослин, а також за його допомогою зберегти генофонд рідкісних і зникаючих видів природної флори [9].

У літературі є відомості про розробку і навіть вдосконалення технології мікроклонального розмноження сумаха пухнастого (*Rh. typhina* L.), але досягти стабільних результатів доволі складно. В основному такі дослідження проводять за кордоном на видах, які не поширені в умовах Київського регіону. Успіх введення в культуру тканин сумаха пухнастого (*Rh.*

---

\* Науковий керівник – доктор сільськогосподарських наук, професор Н.О. Олексійченко  
© М.О. Борщевський, О.Ю. Чорнобров, А.А. Ключаденко, 2013

*typhina* L.) залежить від багатьох чинників: стану материнської рослини та її віку, часу добору та розміру експлантату тощо [1, 2, 4].

**Мета дослідження** – розроблення технології розмноження сумаха пухнастого (*Rh. typhina* L.) *in vitro*, з метою подальшого її застосування як базової для розмноження інших декоративних культиварів.

**Матеріали та методика дослідження.** Як рослини-донори використовували фенотипово нормальні (без наявних аномалій та хвороб) одно-річні пагони кореневої порослі (місце вирощування Ботанічний сад НУБіП України). Вихідними експлантатами були пагони завдовжки 3–5 см з кількома бруньками, які розміщені в пазухах листків (здебільшого по дві бруньки). Як стерилізуючі агенти використовували: 70 %-й  $C_2H_5OH$  (30 с), і 0,2 %-й  $HgCl_2$ . Нами випробувано кілька варіантів стерилізації рослинного матеріалу залежно від експозиції (5, 7, 10 хв). В асептичних умовах простерилізовані пагони розрізали на фрагменти завдовжки 1,5–2,0 см. Експлантати звільняли від залишків листя.

Отримані асептичні експлантати переносили на живильне середовище. За основу живильного середовища під час вирощування культури брали неорганічні солі (макро та мікро), вітаміни за прописом Мурасіге та Скуга – МС [3]. Випробовували різні концентрації та співвідношення регуляторів росту: БАП (бензиламінопурин) – 1,0–1,5 мг/л, ІМК ( $\beta$ -індолілмасляна кислота) – 0,2 мг/л та Fe-хелату. До модифікованих живильних середовищ додавали: мезоінозит – 100 мг/л, гліцин – 2,0 мг/л, 0,7%-й агар, 3%-ву цукрозу. Показник кислотності середовища (рН) доводили до рівня 5,7–5,8. Для адсорбування фенольних сполук у живильне середовище додавали активоване вугілля у концентрації 2,0 мг/л.

Рослинний матеріал культивували у світловій кімнаті за температури  $t=25\pm 1^\circ C$ , освітлення 2,0–3,0 клк, з 16-годинним фотоперіодом та відносною вологістю повітря 70–75 %.

Для досліджень було використано 4 варіанти модифікованого живильного середовища МС. Як контроль застосовували безгормональне живильне середовище МС, субкультивування рослинного матеріалу проводили кожні 7–14 діб. На кожний варіант висаджували по 15 експлантатів.

У процесі культивування частин мікропагонів здійснювали візуальний аналіз морфогенезу і регенераційної здатності. Для отримання регенерантів використовували тип розмноження рослин *in vitro*, заснований на активації існуючих в інтактній рослині меристем (апекс, пазушні й сплячі бруньки стебла) [10].

Під час проведення експериментальних робіт використовували такі методи: культура ізольованих клітин, тканин і органів рослин [6].

**Результати дослідження.** Ефективність регенерації деревних рослин в умовах *in vitro* залежить від багатьох чинників, зокрема визначається правильним добром способів стерилізації експлантатів та складових живильного середовища [5, 9].

Отримання стерильного матеріалу деревних видів є достатньо складним завданням, оскільки поверхня рослин інфікована епіфітними бактеріями, грибами та їх спорами. Правильний добір стерилізуючих ре-

човин полягає у тому, щоб нейтралізувати епіфітну мікрофлору і не пошкодити тканини рослини. Крім того, речовина не повинна проникати в тканини і легко змиватися [9].

Оскільки поверхні органів рослин контаміновані спорами різних мікроорганізмів і грибів, то для посилення дії стерилізуючої речовини проводили обробку тканин експлантатів 70 %-м  $C_2H_5OH$  (30 с). Для досягнення поставленої мети використовували 0,2 %-й  $HgCl_2$  з різною експозицією (табл. 1).

### 1. Ефективність стерилізації експлантатів сумаха пухнастого (*Rh. typhina* L.)

Експозиція, хв	Асептичні експлантати, %	Життєздатні експлантати, %	Пігментація експлантатів	Ефективність стерилізації, %
5	50	70	зелене	35
7	80	80	світло-зелене	65
10	95	40	світло-коричневе	40

Перші ознаки інфікування експлантатів сумаха пухнастого (*Rh. typhina* L.), що стерилізували з 5-хвилинною експозицією, фіксували на третю добу культивування. На 42-гу добу інфікування досягло 50% (переважно грибне зараження). При стерилізації експлантатів (експозиція 10 хв) на шосту добу культивування одночасно із зараженням рослинного матеріалу (грибне та бактеріальне) фіксували потемніння тканини.

На 13–15-ту добу культивування експлантати сумаха пухнастого (*Rh. typhina* L.) за відсутності бактеріального та грибного зараження вважали асептичними. Отже, зменшення (до 5 хв) або збільшення (до 10 хв) часу стерилізації експлантатів призвело до низької ефективності 35% та 40%, відповідно. Це відбулося внаслідок пригнічення ростових процесів спорами мікроорганізмів і грибів (експозиція 5 хв) або стерилізуючою речовиною (експозиція 10 хв). Експериментальним шляхом визначений найефективніший термін стерилізації – 7 хвилин. За такої експозиції життєздатність пагонів зберігається на рівні 80%, ефективність стерилізації сягає 65%.

Експлантати сумаха пухнастого (*Rh. typhina* L.) вводили в культуру *in vitro* у травні. Згідно з літературними джерелами, у цей період вегетації найактивніше реалізується морфогенетичний потенціал [7, 9, 5]. Для культивування експлантатів надали перевагу універсальному базовому живильному середовищу МС, яке містить збалансовану концентрацію живильних речовин, що сприяє росту ізольованих тканин багатьох рослин *in vitro* [9]. У процесі культивування експлантатів спостерігали за впливом компонентів живильного середовища на різні етапи морфогенезу (табл. 2).

На 7–14-ту добу культивування експлантатів на всіх варіантах живильного середовища помітили набухання бруньок. Збільшення розміру бруньок призвело (на 11–25-ту добу культивування) до початку регенерації основного пагона. Мікропагони (на 27–40-ву добу) культивування були

завдовжки 1,3–1,9 см, візуально нормальні (зелена пігментація, візуальних деформацій не помітно). Ми припускаємо, що для початкових етапів морфогенезу експлантатам у культурі *in vitro* не потрібні екзогенні регулятори росту, на даній стадії розвитку всі необхідні сполуки присутні у тканинах експлантату (рис. 1).

## 2. Етапи морфогенезу сумаха пухнастого (*Rh. typhina* L.) у культурі *in vitro*

Варіант	Склад живильного середовища	Етапи морфогенезу			
		Початок морфогенезу, доба	Початок регенерації основного пагона, доба	Початок множинного пагоноутворення, доба	Початок регенерації коренів, доба
1	½ МС +БАП 0,5 мг/л+ 2,0 г/л акт. вуг.	7–8	11–13	27–32	100–104
2	½ МС+БАП 0,5 мг/л + ІМК 2,0 мг/л + 2,0 г/л акт. вуг.	7–8	11–13	25–30	99–104
3	МС +БАП 0,5 мг/л + ІМК 0,1 мг/л +2,0 г/л акт. вуг.	10–11	15–16	35–40	-
4	Контроль (МС безгормональне)	12–14	24–25	-	-

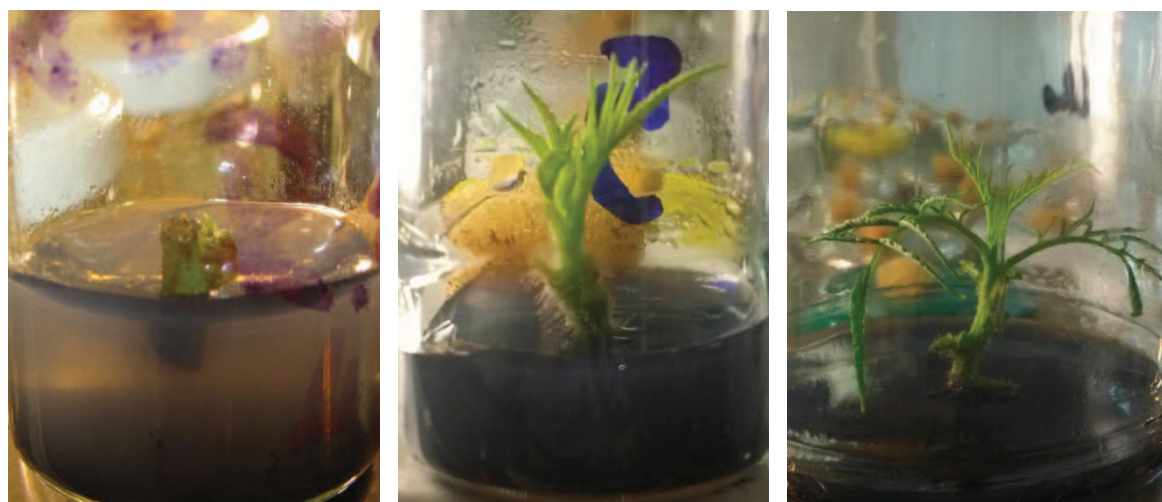


Рис. 1. Активація пазушних бруньок і початок регенерації основного пагона сумаха пухнастого (*Rh. typhina* L.), 7–21 доба у культурі *in vitro*

На другу – третю добу культивування експлантатів сумаха пухнастого (*Rh. typhina* L.) спостерігали виділення фенольних сполук із тканин та фіксували пригнічення їх росту. Як відомо, завдяки великій поверхневій активності та високій сорбційній здатності, активоване вугілля використовується для дезактивації фенольних сполук [5], тому його додавали у живильне середовище.

Починаючи з 25-ї доби культивування спостерігалось відставання у рості частини експлантатів. Для подальшого індукування множинного пагоноутворення та регенерації кореневої системи необхідні екзогенні регулятори росту БАП та ІМК у певному співвідношенні. За результатами дослідження найоптимальнішою виявилася комбінація БАП та ІМК (2,5:1). Експериментальним шляхом визначено, що знижена вдвічі концентрація компонентів живильного середовища позитивно впливає на пагоноутворення і ризогенез. Інтенсивність регенерації мікропагонів на варіантах живильних середовищ № 1 і № 2 відбувалася втричі інтенсивніше, порівняно з контролем.

У процесі подальшого культивування мікропагонів на середовищі №1 і № 2 проходив їх розвиток, що виявлявся у збільшенні довжини і товщини пагона, а також площі листової пластинки, кількості листків та міжвузлів. Початок регенерації коренів фіксували на 99–104-ту добу культивування. При подальшому культивуванні мікропагонів спостерігали поступове збільшення довжини, товщини та кількості коренів (рис. 2).



**Рис. 2. Сформована коренева система сумаха пухнастого (*Rh. typhina* L.), 130 діб у культурі *in vitro***

Отже, у результаті проведених досліджень одержано рослини-регенеранти сумаха пухнастого (*Rh. typhina* L.), які в подальшому будуть використовуватися для адаптації до умов відкритого ґрунту.

**Висновки.** Відпрацьовано методику стерилізації експлантатів сумаха пухнастого (*Rh. typhina* L.) при застосуванні 0,2 %-го розчину  $\text{HgCl}_2$  упродовж семи хвилин з отриманням 65 % асептичних життєздатних культур.

Встановлено, що для масового розмноження сумаха пухнастого (*Rh. typhina* L.) *in vitro* мікропагони доцільно культивувати на ½ МС з додаванням БАП та ІМК (2,5:1).

Розроблена технологія розмноження сумаха пухнастого (*Rh. typhina* L.) *in vitro* буде залучатися для отримання рослин-регенерантів декоративних культиварів виду.

### Список літератури

1. Behboodi, B. S. H. (2002) Tissue culture results of all wildspecies and some cultivars in Iran. ISHS Acta Horticulturae 591: III International Symposium on Pistachios and Almonds, Spain.
2. Doroudi, H. Akbarinia, M. Jalali, S and Khosroujerdi E. (2008) Effects of cutting diameter and media on rooting and survival of Sumac cuttings (*Rhus Coriaria*. L.). Iranian Journal of Biology Spring; 21(2):271–277.
3. Murashige T., Scoog F. A revised medium for rapid, growth and bioassays with tobacco tissue cultures // *Physiol. plantarum*. – 1962. – V.15. –N. 3. – P. 473.
4. Tissue culture in medicinal plant of Sumac (*Rhus coriaria*) / Abbas Safarnejad, Sayedeh Bi Bi. Layla Alamdari // *International jornal of science and nature*. Vol. 2 (4). – Society for science and nature, 2011. P. 760–763.
5. Біотехнологічні прийоми розмноження малини (*rubus hispidus* L.) в умовах *in vitro* / А. А. Ключаденко, О. Ю. Чорнобров, П. Ю. Дрозд, М. Д. Мельничук // *Науковий вісник Національного університету біоресурсів і природокористування України*. – Вип. 134. Ч. 3. Серія "Біологія, біотехнологія, хімія, екологія" : зб. наукових праць / редкол. Д. О. Мельничук . – К., ;, 2009. — С. 369–377.
6. Калинин Ф. Л. Методы культуры тканей в физиологии и биохимии растений / Калинин Ф. Л., Сарнацкая В. В., Полищук В. Е. – К. : Наукова думка, 1980. – 488 с.
7. Катаева Н. В. Клональное микроразмножение растений / Н. В. Катаева, Р. Г. Бутенко. – М. : Наука, 1983. – 96 с.
8. Кохно Н.А. Основные ландшафтообразующие интродуценты парков Украины / Н.А. Кохно // *Оптимизация структуры парковых насаждений с использованием интродуцентов*. – К. : Наук. думка, 1988. – С. 67–75.
9. Кушнір П. Г. Мікроклональне розмноження рослин: теорія і практика / Г.П. Кушнір, В.В. Сарнацька. – К.: Наукова думка: Інститут фізіології рослин і генетики, 2005. – 269 с.
10. Мельничук М.Д. Біотехнологія рослин : підр. (для студ. агробіол. та біол. спец., наук., викл., асп.) / М.Д. Мельничук, Т.В. Новак, В.А. Кунах. – К. : Поліграфконсалтинг, 2003. – 520 с.

*Разработана технология размножения сумаха пушистого (*Rh. typhina* L.) в культуре *in vitro*. Подобран оптимальный режим стерилизации эксплантатов, исследовано влияние составляющих питательной среды на морфогенетическую активность тканей и органов *in vitro*.*

***Rhus typhina* L., клональное микроразмножение, эксплантаты, питательная среда, стерилизация, асептические эксплантаты, морфогенез, регуляторы роста.**

*Developed technology of reproduction of staghorn sumac (*Rh. typhina* L.) in culture *in vitro*. Choose the optimal mode of sterilization explants to study*

*the effect of nutrient medium components on the morphogenetic activity of tissues and organs in vitro.*

***Rhus typhina L., micropropagation, explants, medium, sterilization, aseptic explants, morphogenesis, growth regulators.***

УДК 630\* 232

## **ВІЛЬХА ЧОРНА ТА ЇЇ ЛІСІВНИЧЕ ЗНАЧЕННЯ В КУЛЬТУРАХ СОСНИ ЗВИЧАЙНОЇ, ЩО ВИРОЩУЮТЬСЯ НА ПІЩАНИХ ЛІТОЗЕМАХ**

***Д.Ф. Бровко, магістр садово-паркового господарства  
Ф.М. Бровко, доктор сільськогосподарських наук***

*Показано, що на піщаних літоземах взаємовплив між вільхою та сосною у зімкнених деревостанах залежить від вмісту у них мулистих фракцій, глибини залягання ґрунтових вод, вираженості мікрорельєфу та застосованих схем змішування деревних рослин.*

***Пісок, вільха чорна, сосна звичайна, деревна рослинність, деревостан, лісові культури.***

Вільха чорна (*Alnus glutinosa* Gaertn.) містить у листі біля 3 % азоту [8], а на її корінні, з розрахунку на 1 га насаджень може утворюватись до 500 кг жовен, які упродовж вегетаційного періоду здатні нагромаджувати понад 200 кг атмосферного азоту [15, 17]. Саме завдяки цим властивостям, вільху використовують для залісення техногенно-порушених земель у самих різноманітних умовах зростання, як за кордоном [15, 18, 19], так і в межах України [4, 5]. Вільха газостійка, швидкоросла, невибаглива до родючості ґрунтів, здатна істотно поліпшувати їх біохімічні властивості і вже у фазі індивідуального росту дієво впливати на фізіологічний стан сосни, збільшуючи у її хвої вміст хлорофілу (на 9–34 %), підсилюючи ріст саджанців у висоту (на 35–88 %) та створюючи передумови для формування господарсько-цінних фітоценозів [3, 11]. Було також з'ясовано [3, 6], що після зімкнення крон розвиток сосново-вільхових деревостанів визначається перерозподілом екологічних ресурсів, і зокрема світла, між компонентами фітоценозу, а тому вже з 16-річного віку різниця у висотах саджанців сосни, вирощених у чистих насадженнях та з вільхою, зменшується і становить лише 12 %.

Основні площі піщаних літоземів Іршанського гірничо-збагачувального комбінату було залісено Шершнівським та Турківським лісництвами упродовж 1977–1996 років. За цей термін лісові культури було посаджено на площі понад 926 га. На 93 % лісокультурних площ створено насадження із 3–4 рядів сосни звичайної, між якими висаджувався один ряд листяних деревних рослин, а на 42 % площ – з рядом вільхи чо-