

УДК 581.14:582.711.712:57.085.2

## ПОКРАЩЕННЯ СКЛАДУ ЖИВИЛЬНИХ СЕРЕДОВИЩ ДЛЯ ПРИШВИДШЕННЯ РОСТУ І РОЗВИТКУ ТРОЯНДИ ЕФІРООЛІЙНОЇ В КУЛЬТУРІ *IN VITRO*

О.О. Олійник<sup>1</sup>, А.А. Клюваденко<sup>2</sup>, М.Д. Мельничук<sup>3</sup>

Здійснено дослідження прямого морфогенезу троянди ефіроолійної на сортах української селекції Лань, Лада та Райдуга. Встановлено, що сорти троянди мікроклонально ефективніше розмножуються за використання у ролі експлантатів апікальних меристем вегетативних бруньок (Лада, Лань) або частин пагонів (Райдуга, Лань). Для обраних зразків оптимізовано склад живильних середовищ, що забезпечують пришвидшення росту. Для сорту Лань рослини-регенеранти рекомендовано культивувати на живильному середовищі МС, або QL без додавання гормонів росту; рослини сорту Райдуга – на середовищі Андерсона з подвійним вмістом Fe-хелату та 2,0 мг·л<sup>-1</sup> БАП; сорту Лада – на середовищі Андерсона 0,5 мг·л<sup>-1</sup> БАП або WPM 1,5 мг·л<sup>-1</sup> БАП, 0,1 мг·л<sup>-1</sup> НОК.

**Ключові слова:** троянда ефіроолійна, живильне середовище, культура *in vitro*, прямий морфогенез, експлантат.

**Вступ.** В Україні попит на ефіроолійні рослини значно перевищує пропозиції виробництва, це пов'язано з розповсюдженням інфекційних хвороб, що призводять до втрати потрібних якостей, погіршення фізіологічного стану рослин і, зрештою, – до значного зниження продуктивності рослин.

Альтернативою традиційним методам розмноження рослин є впровадження сучасних біотехнологій, серед яких провідне місце належить мікроклональному розмноженню (МКР) [1]. Метод культури тканин для мікророзмноження троянди з використанням ізольованих меристем почали розробляти в 70-80 роках ХХ ст. [3], проте досі практично не вивчено питання індукції та перебігу етапів органогенезу кожного генотипу рослин, не визначено підходи до відбору ефективних індукторів різних стадій морфогенезу *in vitro* і недостатньо досліджено механізми, відповідальні за ефективну регенерацію окремих ефіроолійних рослин, вирощування яких має великий інтерес для розвитку різних галузей національного господарства.

Дослідження прямого морфогенезу троянди ефіроолійної проводили як вітчизняні, так і зарубіжні науковці, однак цей метод належить до складновідтворювальних, оскільки залежить від комплексу чинників: фізіологічних, генетичних, гормональних та фізичних. Базове живильне середовище Мурасіге і Скуга є найпоширенішим для розмноження троянд. Зокрема, модифіковані МС і ½ МС середовища успішно використовували в різноманітних дослідженнях із розмноження троянд в умовах *in vitro* [1]. Додавання до середовища БАП (6-бензиламінопурин) (1-10 мг/л) стимулює проростання бруньок і проліферацію пагонів [6]. Поєднання БАП в концентрації 2,5-3,0 мг/л і ІОК (β-індоліл-3-оцтова кислота) 0,1 мг/л визначено як найоптимальніше співвідношення для розмноження троянди ефіроолійної [7]. Для збільшення довжини пагонів Кумар та

Нудеж рекомендують на етапі третього субкультивування додавати до середовища ГК 0,2-0,5 мг/л [3]. Ван дер Салм та інші зазначили, що збільшення концентрації заліза, кальцію та нітрату амонію, а також збільшення кількості Fe-хелату в середовищі дає змогу отримати більшу кількість рослин з покращеними показниками росту [4]. У роботах Бандзіана було показано, що використання МС середовища з удвічі меншою концентрацією макросолей індукуює ріст коренів [7]. Дуглас та ін. домоглися високих темпів вкорінення на середовищі МС з ¼ вмісту макросолей без додавання регуляторів росту, використовуючи пагони довжиною понад 2 см [4]. Нудеж для отримання коренів переносив пагони довжиною понад 1,5 см на рідке живильне середовище МС з половинним умістом макросолей з додаванням 0,1 мг/л ІОК [5]. У своїй роботі Пилунська для індукції росту коренів, базальну частину експлантата занурювала у стерильний розчин ІМК з концентрацією 25 мг/л з подальшим перенесенням на середовище МС без регуляторів росту [2].

Одним із основних факторів, які контролюють ріст і розвиток троянд під час їх культивування *in vitro*, є генотип вихідного матеріалу. Хасагева у своїй роботі знайшов залежність індукваного морфогенезу від генетичних особливостей вихідних експлантатів у різних видів і сортів троянд [5]. Тому для різних генотипів рослин, навіть однієї родини, застосовують комплексний підхід, який полягає у підборі віку донора, його фенологічної фази, типу експлантата, умов стерилізації, підборі складових компонентів живильного середовища для різних етапів мікророзмноження.

**Мета дослідження** – дослідити вплив регуляторів росту на перебіг різних етапів органогенезу та вивчення морфогенетичного потенціалу сортів троянди ефіроолійної.

**Матеріали та методика дослідження.** Для досліджень використано сорти троянди ефіроолійної української селекції Лань, Лада та Райдуга.

Для масового мікроклонального розмноження троянди ефіроолійної, шляхом методу активації вже існуючих у рослині меристем, використовували живильні середовища Мурасіге-Скуга (МС), Андерсона (An) та Куаріна-Леповре (QL) з додаванням до їх складу різних груп цитокінінів і ауксинів: 6-БАП (6-бензиламінопурин), ТДЗ (тідазурон), НОК (α-нафтилоцтова кислота) та ІОК (β-індоліл-3-оцтова кислота) як окремо, так і комбінуючи між собою. Додатково до середовища додавали сахарозу (0,3 %), мезоінозит (100 мг·л<sup>-1</sup>) та агар (0,7 %), рН середовища – 5,7-5,8.

Експлантати культивували за освітлення 3-4 тис. лк, Т – 24<sup>±2</sup>°С, з вологістю повітря ~ 70 % та 16-годинним фотоперіодом.

**Результати дослідження.** У ході експериментальних досліджень з'ясовано, що для ефіроолійних культур синтетичний аналог цитокініну ТДЗ у низьких концентраціях більш ефективний порівняно із традиційними похідними пуринів. На основі цих проведено досліджено гормональний вплив ТДЗ на ріст та розвиток експлантатів троянди ефіроолійної в культурі *in vitro* на живильному середовищі за прописом МС.

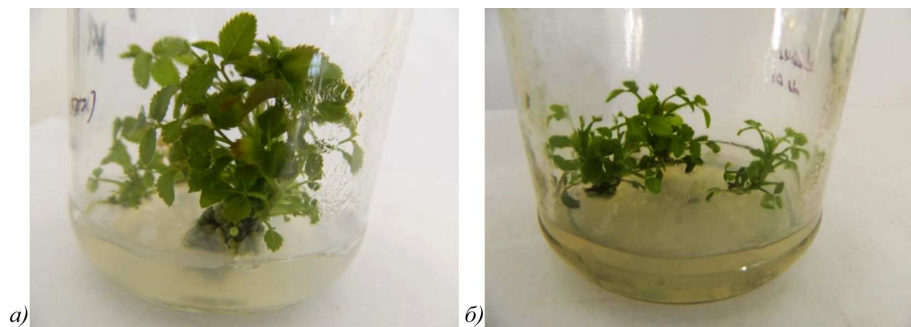
<sup>1</sup> аспір. О.О. Олійник – НУ біоресурсів та природокористування України, м. Київ;

<sup>2</sup> ст. наук. співроб. А.А. Клюваденко, канд. с.-г. наук – НУ біоресурсів та природокористування України, м. Київ;

<sup>3</sup> проф. М.Д. Мельничук, д-р біол. наук – НУ біоресурсів та природокористування України, м. Київ;

Експлантати, які отримані на безгормональному середовищі МС, розділяти на сегменти з пазушною брунькою, однією чи двома листовими пластинками і стеблом, розміром не більше 1 см. Такі сегменти культивували на модифікованих живильних середовищах протягом 30 діб (табл.).

Унаслідок проведеного дослідження з'ясовано, що найоптимальнішою концентрацією тїдазурону для множинного пагоноутворення експлантатів троянди ефіроолійної сортів Лань та Лада є 0,1 та 0,5 мг·л<sup>-1</sup> 2-8 пагонів на експлантаті, довжиною 1,0-2,5 см (рис. 1, а), розетки розвинені, зелені, добре відділяються одна від одної, листки рівномірно сформовані, однорідного зеленого забарвлення. На базальній частині пагона утворюється морфогенний калюс. На середовищі МС з концентрацією ТДЗ 1,0, 2,0 мг·л<sup>-1</sup>, відповідно, спостерігались ознаки негативного впливу на процес пагоноутворення та зовнішній вигляд експлантата (розетки короткі, погано розвинені; лиски дрібні, світло-зеленого забарвлення) (див. рис. 1, б).



**Рис. 1. Вплив тїдазурону на пагоноутворення троянди ефіроолійної сорту Лань:**  
 а) множинне пагоноутворення на середовищі МС з додаванням 0,1 мг·л<sup>-1</sup> ТДЗ;  
 б) негативний вплив високої концентрації ТДЗ (2,0 мг·л<sup>-1</sup>)

Як основний спосіб розмноження на етапі субкультивування застосовували декапітацію пагонів для зняття апікального домінування та індукцію розвитку пазушних бруньок. Результати представлено у табл.

Для цього середовища, які рекомендують для МКР троянд ефіроолійних, доповнювали цитокінінами та ауксинами та висаджували експлантати, розміром 1-1,5 см з 1-2 міжвузлями. Баланс між ауксинами та цитокінінами має істотний вплив на ефективність перебігу процесів морфогенезу. У культурі троянд ефіроолійних перевага масової долі цитокінінів над ауксинами ( $V_{\text{БАП}}: V_{\text{ЮК}} = 5: 1$ ) стимулювало утворення пагонів і їх ріст як на середовищі МС, так і на QL (рис. 2, а). На базальній частині пагона формується щільний калюс з активними меристемоїдними зонами. На середовищі, з перевагою масової частки ауксинів над цитокінінами ( $V_{\text{ЮК}}: V_{\text{БАП}} = 5: 1$ ) відбувається пригнічення ростових процесів, експлантат втрачає тургор, пагін жовтіє, сохне.

За результатами експериментів оптимізовано склад живильного середовища для різних етапів морфогенезу для кожного досліджуваного сорту.

**Табл. Мікроклональне розмноження сортів троянди ефіроолійної**

Варіант	Живильне середовище	Морфометричні показники мікропагонів <i>in vitro</i>			Тривалість циклу культивування, діб	Тип мікроклонального розмноження	Призначення живильного середовища
		довжина мікропагона, см	довжина кореневої системи, см	коefficient розмноження			
<b>Лань</b>							
1	МС б/г <sup>1</sup> QL б/г	1,3–1,9	–	–	10-15	–	введення експлантатів у культуру <i>in vitro</i>
2	МС 0,5 мг·л <sup>-1</sup> БАП, 0,01 мг·л <sup>-1</sup> ЮК; МС 0,1 мг·л <sup>-1</sup> ТДЗ; QL 0,5 мг·л <sup>-1</sup> БАП	3,0–5,0	–	1:8–1:14	80-90	а. р. м. е. <sup>2</sup> , п. м. <sup>3</sup>	мкр. <sup>4</sup> , отримання р.-р. <sup>5</sup>
3	½ МС б/г; МС б/г; QL б/г	3,0–6,0	2,5-8,0	–	60-80	п. м.	ризогенез
<b>Райдуга</b>							
4	МС 0,5 мг·л <sup>-1</sup> БАП	1,5–2,0	–	–	12-17	–	введення експлантатів у культуру <i>in vitro</i>
5	МС 0,1 мг·л <sup>-1</sup> ТДЗ; Андерсона з подвійним вмістом Fe-хелату 2,0 мг·л <sup>-1</sup> БАП	1,0–2,0	1,0-1,5	1:3–1:7	50-65	п. м.	мкр.
<b>Лада</b>							
6	Андерсона 0,5 мг·л <sup>-1</sup> БАП; МС 1,0 мг·л <sup>-1</sup> БАП	1,0-2,0	–	–	15-20	–	введення експлантатів у культуру <i>in vitro</i>
7	Андерсона 0,5 мг·л <sup>-1</sup> БАП; QL 2,0 мг·л <sup>-1</sup> БАП; WPM 1,5 мг·л <sup>-1</sup> БАП, 0,1 мг·л <sup>-1</sup> НОК	2,0-3,5	1,0-2,0	1,2-1,4	80-90	а. р. м. е.	мкр.

**Примітки:** 1. Без гормонів росту (б/г); 2. Активізація росту меристем експлантату (а. р. м. е.); 3. Прямий морфогенез (п. м.); 4. Мікроклональне розмноження (мкр.); 5. Рослини-регенеранти (р.-р.).

Мікропагони троянди сорту Лань впродовж 10-15 діб потрібно культивувати на живильному середовищі МС або QL без додавання гормонів росту. Експлантати таких сортів як Райдуга та Лада уже з перших днів культивування характеризувалися чутливістю до складу живильного середовища. Вирощування *in vitro* останніх на МС безгормональному призводить до набуття мікропагонами не характерної для сорту пігментації та надзвичайно малого середньомісячного приросту (0,1-0,3 мм). Для індукції ризогенезу необхідним є перенесення на ризогенне середовище експлантатів розміром не менш ніж 1,5 см. За таких умов корені починають утворюватись на 8-10-ту добу (див. рис. 2, б, в).



**Рис. 2. Культура *in vitro* троянди ефіроолейної:** а) регенерація мікропагонів шляхом активації росту меристем експлантату сорт Райдуга на середовищі Андерсона з подвійним вмістом Fe-хелату та 2,0 мг·л<sup>-1</sup> БАП; б), в) сформована коренева система і зовнішній вигляд рослин-регенерантів сорту Лань на середовищі 1/2 MS б/г

**Висновки.** Встановлено, що сорти троянди мікроклонально ефективніше розмножуються за використання у ролі експлантатів апікальних меристем вегетативних бруньок (Лада, Лань) або частин пагонів (Радуга, Лань). Для усіх сортів підібрано компоненти живильного середовища, що забезпечують масове мікроклональне розмноження, укорінення мікропагонів і отримання рослин-регенерантів. Цикли культивування рослин-регенерантів залежать від складу живильних середовищ та генотипу троянди: найкоротший (25-30 діб) фіксують у сорту Лань на живильному середовищі QL з додаванням 0,5 мг·л<sup>-1</sup> БАП, а найтриваліший у сорту Лада – 80-90 діб на середовищі Андерсона 0,5 мг·л<sup>-1</sup> БАП.

### Література

1. Калинин Ф.Л. Технология микроклонального размножения растений / Ф.Л. Калинин, Г.П. Кушнир, В.В. Сарнацкая. – К. : Изд-во "Наук. думка", 1992. – 232 с.
2. Пилунская О.А. Микро размножение розы эфиромасличной *in vitro* / О.А. Пилунская, А.М. Бугара // Бюллетень Никитского ботанического сада : зб. наук. праць. – Ялта. – 2001. – № 83. – С. 84-86.
3. Noodezh H.A. In vitro propagation of the Damask rose (*Rosa damascena* Mill.) / H. Noodezh, M. Moieni, A. Baghizadeh // In Vitro Cell Dev. Biol. Plant. – 2012. – Vol. 48, No. 6. – Pp. 530-538.
4. Ginova A. *Rosa damascena* Mill. – an overview for evaluation of propagation methods / A. Ginova, I. Tsvetkov, V. Kondakova // Bulg. J. Agric. Sci. – 2012. – № 18. – Pp. 545-556.
5. Hasegawa P.M. Factor affecting shoot and root initiation from culture rose shoot tip. / P.M. Hasegawa // Journal of American Society for Horticultural Science. – 1980. – № 115. – Pp. 216-220.
6. Salekjalali M. Phloroglucinol, BAP and NAA Enhance Axillary Shoot Proliferation and other Growth Indicators in vitro Culture of Damask Rose (*Rosa damascena* Mill.) / M. Salekjalali // Advances in Environmental Biology. – 2012. – Vol. 6(7). – Pp. 1944-1949.
7. Pati P.K. In vitro propagation of rose / S.P. Rath, M. Sharma, A. Sood and P.S. Ahuja // Biotechnol Adv. – 2006. – № 24. – Pp. 94-114.

Надійшла до редакції 04.10.2016 р.

### Олейник О.О., Клюваденко А.А., Мельничук М.Д. Оптимизация состава питательной среды для ускорения роста и развития розы эфиромасличной в культуре *in vitro*

Проведено исследование прямого морфогенеза розы эфиромасличной на сортах украинской селекции Лань, Лада и Радуга. Установлено, что исследуемые сорта микроклонально эффективнее размножаются методом активации роста меристем эксплантата (Лада), прямого морфогенеза (Радуга) и смешанного типа морфогенеза (Лань). Для избранных образцов оптимизирован состав питательных сред для ускорения роста: сорт Лань рекомендуется культивировать на питательной среде мс, или q1 без добавления гормонов роста; сорт Радуга – на среде Андерсона с двойным содержанием Fe-хелата и 2,0 мг·л<sup>-1</sup> БАП; сорт Лада – на среде Андерсона 0,5 мг·л<sup>-1</sup> БАП или WPM 1,5 мг·л<sup>-1</sup> БАП, 0,1 мг·л<sup>-1</sup> НОК.

**Ключевые слова:** роза эфиромасличная, питательная среда, культура *in vitro*, прямой морфогенез, эксплантаты.

### Oliynyk O.O., Kluvadenko A.A., Melnychuk M.D. Optimization of Culture Media Content for Acceleration of Growth and Cultivation of *Rosa Damascena* Mill. in *In Vitro* Culture

The analysis of direct morphogenesis of *Rosa damascena* Mill. was performed on varieties of Ukrainian selection of Lan', Lada and Raduga. It was established that roses microclonally propagate more effectively by using apical meristems of vegetative buds (Lada, Lan'), or by stem explants (Raduga, Lan'). For the chosen samples we optimized the contents of the nutrient media that provide growth acceleration. For Lan' variety, it is recommended to cultivate regenerated plants on MS or QL culture media, without adding growth hormones, for Raduga variety – Anderson medium with doubled quantity of Fe-chelate and 2,0 mg·l<sup>-1</sup> BAP, for lada variety – Anderson medium with addition of 0.5 mg·l<sup>-1</sup> BAP or WPM 1.5 mg·l<sup>-1</sup> BAP, 0.1 mg·l<sup>-1</sup> NAA.

**Keywords:** *Rosa damascena* Mill., culture medium, *in vitro* culture, direct morphogenesis, explant.

УДК 712.4:711.57

### КОЛОРИТ ЛАНДШАФТІВ ТЕРИТОРІЙ НАВЧАЛЬНИХ КОРПУСІВ НАЦІОНАЛЬНИХ УНІВЕРСИТЕТІВ МІСТА КИЄВА

Н.О. Олексійченко<sup>1</sup>, М.В. Крачковська<sup>2</sup>

Проведено аналіз формування колориту ландшафтів територій навчальних корпусів національних університетів Києва на основі методики оцінювання колористичних особливостей ландшафту, що передбачає аналіз архітектурно-планувальної організації територій з метою визначення домінант, основних композиційних осей, композиційних вузлів і акцентів, здійснення фотофіксації виокремлених видових точок та розподіл носіїв кольору на найбільш постійні, умовно-змінні та мінливі. Виявлено співвідношення кольорів ахроматичної та хроматичної гам у колоритах ландшафтів різних сезонів року.

**Ключові слова:** колорит ландшафту, територія навчального корпусу, носії кольору.

**Вступ.** Ділянки вищих навчальних закладів, що належать до категорії територій обмеженого користування, не завжди одразу можна ідентифікувати на фоні загального благоустрою міста. Це пов'язано насамперед з тим, що благоустрій переважної більшості територій є типовим, а складові елементи благоу-

<sup>1</sup> проф. Н.О. Олексійченко, д-р с.-г. наук – НУ біоресурсів і природокористування України, м. Київ;

<sup>2</sup> мол. наук. співроб. М.В. Крачковська – НУ біоресурсів і природокористування України, м. Київ