



О. Ю. Чорнобров

ВП НУБіП України "Боярська лісова дослідна станція", м. Боярка, Україна

ЗАСТОСУВАННЯ МЕТОДІВ КУЛЬТУРИ ТКАНИН *IN VITRO* ДЛЯ РОЗМНОЖЕННЯ РОСЛИН КУЛЬТИВАРІВ *POPULUS* × *CANADENSIS* MOENCH

Розроблення ефективної технології мікроклонального розмноження рослин культурварів *Populus* × *canadensis* Moench, цінних у плантаційному аспекті, є одним із актуальних завдань сьогодення. Нині в науковій літературі відсутні протоколи розмноження *in vitro* досліджуваних рослин. Мета – розроблення методики введення в культуру *in vitro* п'яти рослин культурварів *P.* × *canadensis* для їх масового мікроклонального розмноження. Для досліджень використано фрагменти пагонів та листові пластинки, які добирали із 20-річних культурварів у весняно-літній період 2017 р. Застосовано такі методи: статистичні, культури тканин рослин *in vitro*. Установлено умови отримання значної кількості (понад 70 %) асептичних життєздатних експлантатів з використанням 0,1 % HgCl₂, 2,5 % NaClO й 1,0 % AgNO₃. Досліджено особливості калусоутворення у тканинах листових пластинок за дії регуляторів росту та різного режиму освітлення. Отримано значну кількість оздоровлених мікропагонів *in vitro* із експлантатів листового й стеблового походження на модифікованому живильному середовищі МС (Murasige і Скуга) з додаванням БАП (N⁶-бензиламінопурин), НОК (1-нафтилоцтова кислота) та ЮК (індоліл-3-оцтова кислота) за використання прямого морфогенезу. Подальші дослідження спрямовані на розроблення біотехнології масового мікроклонального розмноження досліджуваних рослин.

Ключові слова: експлантати; мікроклональне розмноження; калус; живильне середовище; мікропагони *in vitro*.

Вступ. Розроблення ефективної технології масового тиражування високоякісних оздоровлених рослин роду *Populus* L., цінних у плантаційному аспекті, є одним із актуальних завдань сьогодення. З-поміж значної кількості представників роду на особливу увагу заслуговують культурвари *Populus* × *canadensis* Moench, зокрема 'Tardif de Champagne', 'I-45/51', 'Dorskamp', 'Robusta' і 'Blanc du Poitou', які характеризуються високою продуктивністю біомаси (Fuchylo, 2011). Вегетативне розмноження видів і гібридів роду *Populus* успішно застосовують у багатьох країнах (Bogdanov, 1965; Tsarev, Pogiba & Trenin, 2002; Shimaniuk, 1967). Однак швидке розмноження ряду культурварів і форм тополі уповільнюється досить незначною ефективністю укорінення живців за традиційних методів розмноження. Біотехнологічні прийоми і підходи відкривають нові можливості для масового тиражування оздоровлених, генетично однорідних рослин упродовж року з мінімальної кількості вихідного матеріалу (Butenko, R. G., 1964; Kalinin, Sarnatchkaia & Polishhuk, 1980; Kushnir & Sarnatska, 2005). Окрім цього, рослини видів роду *Populus* є модельною системою як у біотехнології рослин, так і в генетичній інженерії. Успіх цих технологій на пряму залежить від розроблення ефективних протоколів розмноження *in vitro*. Наразі мікроклонування цінних генотипів роду *Populus* проводять як зарубіжні, так і вітчизняні автори, для деяких з них розроблені технології апробовано у

виробничих умовах (Bulycheva, Kamionskaia, & Skriabin, 2005; Khudolieieva et al., 2014; Chornobrov et al., 2012, 2013; Erst & Bakulin, 2012; Kandel et al., 2017; Gaur et al., 2016; Garay et al., 2014). Водночас результати досліджень підтверджують, що регенерація деревних рослин *in vitro* – це складний процес, тому розроблена технологія для одного генотипу не завжди успішно реалізовується на іншому (Butenko, R. G., 1964; Kalinin, Sarnatchkaia & Polishhuk, 1980; Kushnir & Sarnatska, 2005). Нині в науковій літературі відсутні протоколи мікроклонального розмноження досліджуваних рослин. Саме тому дослідження щодо генотипів передбачало: добрати умови стерилізації рослинного матеріалу, типи експлантатів і визначити їх регенераційну здатність та науково обґрунтовано встановити компоненти живильного середовища для різних етапів мікроклонального розмноження.

Мета дослідження – розробити методику введення в культуру *in vitro* рослин культурварів *P.* × *canadensis* 'Tardif de Champagne', *P.* × *canadensis* 'I-45/51', *P.* × *canadensis* 'Dorskamp', *P.* × *canadensis* 'Robusta' і *P.* × *canadensis* 'Blanc du Poitou' для їх масового мікроклонального розмноження.

Матеріали та методи дослідження. Для дослідження використано частини однорічних пагонів завдовжки 10-20 см, які добирали з 20-річних культурварів *P.* × *canadensis* 'Tardif de Champadne', *P.* × *canadensis* 'I-45/51',

Інформація про автора:

Чорнобров Оксана Юрївна, канд. с.-г. наук, завідувач науково-дослідної лабораторії біотехнології рослин.

Email: oksana_chornobrov@ukr.net

Цитування за ДСТУ: Чорнобров О. Ю. Застосування методів культури тканин *in vitro* для розмноження рослин культурварів *Populus* × *Canadensis* Moench. Науковий вісник НЛТУ України. 2017. Вип. 27(6). С. 51–54.

Citation APA: Chornobrov, O. Yu. (2017). The Application of Methods of In Vitro Tissue Culture for Propagation of Cultivars of the *Populus* × *Canadensis* Moench. *Scientific Bulletin of UNFU*, 27(6), 51–54. <https://doi.org/10.15421/40270610>

P. × canadensis 'Dorskamp', *P. × canadensis* 'Robusta' і *P. × canadensis* 'Blanc du Poitou' у маточному розсаднику ВП НУБіП України "Боярська ЛДС" у весняно-літній період 2017 р. Витримування рослинного матеріалу в лабораторних умовах до стерилізації не проводили. Як експлантати використовували: фрагменти мікропагонів з однією брунькою (експлантати I; культивували в пеніцилінових флаконах по 1 шт.) та листкові пластинки (експлантати II; на них скальпелем штучно робили насічки та культивували у лабораторному посуді по 5 шт.). Стерилізацію рослинного матеріалу проводили такими розчинами: 2,5 % NaClO, 1,0 % AgNO₃ й 0,1 % HgCl₂. Усі експлантати безпосередньо перед стерилізацією занурювали у 70 % етиловий спирт на 30-60 с. Асептичні умови створювали за методами, загальноприйнятими в біотехнології (Butenko, R. G., 1964; Kalinin, Sarnatckaia & Polishhuk, 1980; Kushnir & Sarnatska, 2005).

Культивування експлантатів I і II проводили на безгормональному живильному середовищі за прописом Мурасіге і Скуга (МС) (Murashige & Skoog, 1962). Активовані з бічних меристем мікропагони завдовжки 1,0-1,5 см відділяли від експлантатів і субкультивували на живильні середовища, модифіковані регуляторами росту: 1 – нафтилоцтовою кислотою (НОК), N⁶-бензиламінопурином (БАП), 6 – (фурфуриламіно) пурином (кінетин), β-індоліл-3-оцтової кислоти (ІОК). До них також вносили 100 мг·л⁻¹ міо-інозитулу, 30 г·л⁻¹ сахарози або 7,5 г·л⁻¹ глюкози та 6,7-7,0 г·л⁻¹ агару мікробіологічного. Показник кислотності середовища (рН) доводили до рівня 5,7-5,9. Інтенсивність та частоту калюсоутворення у експлантатів II фіксували на МС з 1,0 мг·л⁻¹ БАП і 0,5 мг·л⁻¹ НОК на 28-30-ту добу культивування. Рослинний матеріал культивували у світловому приміщенні й термостаті ТС-80 за температури 25^{±1} °С і освітлення 2,0-3,0 клк з 16-годинним фотоперіодом та відносною вологістю повітря 70-75 %. Як контроль застосовували безгормональне живильне середовище МС. Статистично експериментальні дані опрацьовували з використанням пакета аналізу MS Excel.

Результати дослідження. Для введення рослинного матеріалу в культуру *in vitro* автори використовують різні режими стерилізації залежно від типу експлантату, фенологічної фази рослини-донора, його віку, умов зростання тощо. Варіанти стерилізації фрагментів мікропагонів і листкових пластинок дослідних культиварів та отримані результати наведено в табл. 1.

Для різних генотипів рослин культиварів використовували різний спосіб стерилізації (простий та ступінчастий). Так, отримання значної частки (понад 70 %) асептичних життєздатних експлантатів I рослин культиварів *P. × canadensis* 'Dorskamp' і *P. × canadensis* 'Robusta' досягалося шляхом їх витримання впродовж 10-12 хв у 0,1 % HgCl₂ (рис. (а)). Для рослин культиварів *P. × canadensis* 'Tardif de Champagne', *P. × canadensis* 'I-45/51' і *P. × canadensis* 'Blanc du Poitou' використовували ступінчастий спосіб стерилізації: витримання впродовж 8-10 хв у 2,5 % NaClO з наступним перенесенням у 1,0 % AgNO₃. Витримання експлантатів I за режиму стерилізації № 3 недоцільне, оскільки переважна кількість була інфікованою спорами грибів і одночасно нежиттєздатною.

Табл. 1. Ефективність стерилізації різних типів експлантатів рослин культиварів *P. × canadensis in vitro*

Варіант	Режим стерилізації експлантатів	Ефективність стерилізації експлантатів (середнє значення ± стандартна помилка), %				
		'Tardif de Champagne'	'I-45/51'	'Dorskamp'	'Robusta'	'Blanc du Poitou'
Експлантати I						
1	Витримання впродовж 10-12 хв у 0,1 % HgCl ₂	56,7 ^{±8,8}	14,7 ^{±2,9}	81,0 ^{±5,9}	71,7 ^{±7,3}	34,7 ^{±7,5}
2	Стерилізація впродовж 8-10 хв у 2,5 % NaClO з наступним перенесенням у 1,0 % AgNO ₃	80,0 ^{±5,8}	73,3 ^{±8,8}	46,7 ^{±8,8}	46,7 ^{±6,7}	71,7 ^{±6,0}
3	Занурення на 18-20 хв у 2,5 % NaClO	31,7 ^{±7,3}	18,3 ^{±4,4}	41,7 ^{±7,3}	43,3 ^{±8,8}	31,7 ^{±7,3}
Експлантати II						
4	Витримання впродовж 10-12 хв у 0,1 % HgCl ₂	96,7 ^{±3,3}	84,3 ^{±8,7}	93,3 ^{±6,7}	82,0 ^{±6,1}	96,7 ^{±3,3}
5	Занурення на 8-10 хв у 2,5 % NaClO	40,0 ^{±5,8}	50,0 ^{±5,8}	46,7 ^{±8,8}	36,7 ^{±8,8}	46,7 ^{±8,8}
6	Стерилізація впродовж 8-10 хв у 1,0 % AgNO ₃	60,0 ^{±5,8}	46,7 ^{±8,8}	46,7 ^{±6,7}	46,7 ^{±6,0}	53,3 ^{±4,4}

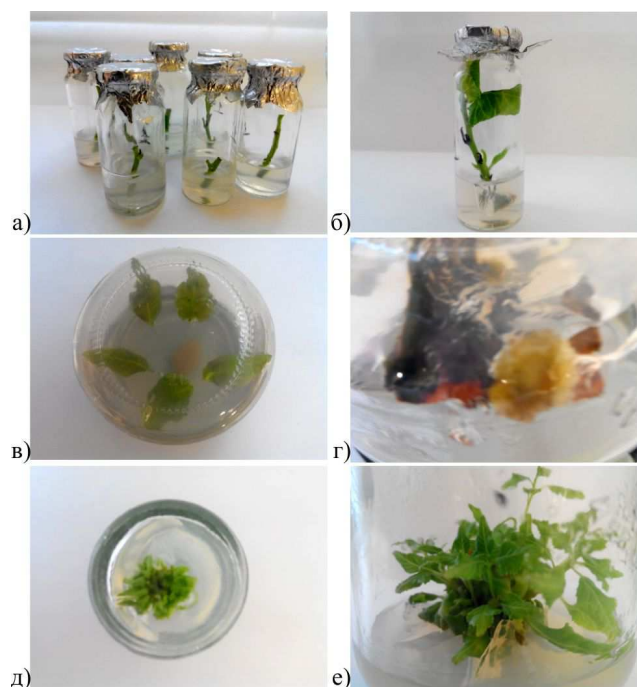


Рис. Отримання мікропагонів рослин культиварів *P. × canadensis* за використання методів культури тканин *in vitro*: а – асептичні експлантати культивару *P. × canadensis* 'Dorskamp'; б – регенераційноздатний мікропагін культивару *P. × canadensis* 'Robusta' на безгормональному МС; в – асептичні листкові пластинки культивару *P. × canadensis* 'Tardif de Champagne'; г – калюсна тканина пухкої консистенції культивару *P. × canadensis* 'Blanc du Poitou' на МС з 1,0 мг·л⁻¹ БАП і 0,5 мг·л⁻¹ НОК; д – мікропагони листкового походження культивару *P. × canadensis* 'Dorskamp'; е – мікропагони стеблового походження культивару *P. × canadensis* 'Tardif de Champagne' на МС у світловому приміщенні за контрольованих умов

Для успішної нейтралізації екзогенної мікрофлори експлантатів II усіх дослідних культиварів використовували 0,1 % HgCl₂ упродовж 10-12 хв. За таких умов отримали понад 80 % асептичних життєздатних експлантатів (рис. (в)). Частка асептичності листових пластинок у разі застосування № 5 і 6 режиму стерилізації становила 30-70 %.

Асептичні життєздатні листові пластинки, отримані на безгормональному МС, на 3-4-ту добу культивування перенесли на живильне середовище з додаванням 1,0 мг·л⁻¹ БАП і 0,5 мг·л⁻¹ НОК. Результати дії гормональних чинників та режиму освітлення на інтенсивність й частоту калусоутворення в експлантатах зазначено в табл. 2.

Табл. 2. Дія регуляторів росту й режиму освітлення на індукцію калусоутворення в експлантатах рослин культиварів *P. × canadensis*

Культивар	Умови культивування			
	світлове приміщення (2,0-3,0 клк)		термостат (без освітлення)	
	частка калусоутворення (середнє значення ± стандартна помилка), %	інтенсивність калусоутворення ¹	частота калусоутворення (середнє значення ± стандартна помилка), %	інтенсивність калусоутворення ¹
'Tardif de Champagne'	10,0 ^{±2,9}	+	90,0 ^{±5,8}	++
'I-45/51'	6,7 ^{±1,7}	+	6,7 ^{±1,7}	+
'Dorskamp'	13,3 ^{±3,3}	+	96,7 ^{±3,3}	+++
'Robusta'	93,3 ^{±3,3}	+++	0	-
'Blanc du Poitou'	0	-	93,3 ^{±6,7}	++

Примітка 1: інтенсивність калусоутворення: (-) – відсутність калусоутворення, (+) – низька, (++) – середня, (+++) – активна

Високу частку калусоутворення (понад 90 %) експлантатів культиварів *P. × canadensis* 'Tardif de Champadne', *P. × canadensis* 'Dorskamp' і *P. × canadensis* 'Blanc du Poitou' з наступною проліферацією тканини отримали на МС з 1,0 мг·л⁻¹ БАП і 0,5 мг·л⁻¹ НОК за умови культивування у термостаті без освітлення. Унаслідок отримали калус пухкої консистенції різної пігментації (від світло-солом'яної до темно-жовтої) на 28-30-ту добу культивування (рис. (г)). Культивування згаданих вище експлантатів культиварів за освітлення зумовлювало потовщення черешка листка з наступним закладанням адвентивних бруньок та численним формуванням мікропагонів (рис. (д)).

Для листових пластинок культивару *P. × canadensis* 'Robusta' активний ріст калусної тканини та численне закладання адвентивних бруньок фіксували на живильному середовищі за освітлення 2,0-3,0 клк. Витримування експлантатів культивару *P. × canadensis* 'I-45/51' на аналогічному середовищі за освітлення або в термостаті недоцільне, оскільки тільки незначна їх кількість дедиференціювалась; у більшості дослідів процес калусоутворення завершувався деформацією листової пластинки з наступною зміною пігментації.

Асептичні активні ростучі мікропагони рослин культиварів (рис. (б)) субкультивували на модифіковані регуляторами росту цитокінінового й ауксинового типу дії живильні середовища. Достатньо активне мікропагоноутворення шляхом прямого морфогенезу із експлантатів стеблового походження *P. × canadensis* 'Tardif de

Champagne' фіксували на МС з 0,1 мг·л⁻¹ БАП й 1,0 мг·л⁻¹ ІОК та 7,5 г·л⁻¹ глюкози. На запропонованому живильному середовищі отримали значну кількість мікропагонів завдовжки 0,5-2,5 см з характерною пігментацією на 50-60-ту добу (рис. (е)). Культивування експлантатів усіх дослідних рослин на МС з 0,25 мг·л⁻¹ кінетину та МС з 0,5 мг·л⁻¹ БАП й кінетину не ефективно: спричиняло пожовтіння мікропагонів та відмирання бруньок на 25-30-ту добу.

Отже, отримано оздоровлені мікропагони *in vitro* п'яти рослин культиварів *P. × canadensis*. Подальші дослідження спрямовані на розроблення біотехнології масового мікроклонального розмноження досліджуваних рослин.

Висновки

1. Розроблено і відпрацьовано методику введення у культуру *in vitro* п'яти рослин культиварів *Populus × canadensis* Moench з використанням як вихідних експлантатів фрагментів мікропагонів та листових пластинок.
2. Ефективної стерилізації (понад 70 %) фрагментів пагонів рослин культиварів *P. × canadensis* 'Dorskamp' і *P. × canadensis* 'Robusta' досягнуто шляхом їх ізоляції у весняно-літній період із застосуванням 0,1 % HgCl₂ упродовж 10-12 хв. Для мікропагонів культиварів *P. × canadensis* 'Tardif de Champagne', *P. × canadensis* 'I-45/51' і *P. × canadensis* 'Blanc du Poitou' оптимальним було витримування у 2,5 % NaClO упродовж 8-10 хв з наступним перенесенням в 1,0 % AgNO₃. Значну частку асептичності (понад 80 %) листових пластинок дослідних рослин отримано шляхом стерилізації у 0,1 % HgCl₂ упродовж 10-12 хв.
3. Підібрано компоненти живильного середовища (МС базове безгормональне) на етапі введення експлантатів у культуру *in vitro*, що дало змогу отримати регенераційноздатні мікропагони.
4. Оптимальні умови індукції калусоутворення у тканинах листових пластинок рослин культиварів *P. × canadensis* 'Tardif de Champadne', *P. × canadensis* 'Dorskamp' і *P. × canadensis* 'Blanc du Poitou' (частота понад 90 % та активний ріст тканин) створено на живильному середовищі МС з додаванням 1,0 мг·л⁻¹ БАП і 0,5 мг·л⁻¹ НОК за культивування у термостаті без освітлення.
5. Активне мікропагоноутворення шляхом прямого морфогенезу в тканинах листових пластинок рослин культиварів *P. × canadensis* 'Tardif de Champadne', *P. × canadensis* 'I-45/51', *P. × canadensis* 'Dorskamp' і *P. × canadensis* 'Robusta' зафіксовано на МС з 1,0 мг·л⁻¹ БАП і 0,5 мг·л⁻¹ НОК за режиму освітлення 2,0-3,0 клк.
6. Отримано активні ростучі мікропагони стеблового походження рослин культивару *P. × canadensis* 'Tardif de Champadne' на МС із внесенням 0,1 мг·л⁻¹ БАП й 1,0 мг·л⁻¹ ІОК та 7,5 г·л⁻¹ глюкози.

Перелік використаних джерел

- Bogdanov, P. L. (1965). *Topolia i ikh kultura*. Moscow: Lesnaia promyshlennost. 102 p. [in Russian].
- Bulycheva, N. V., Kamionskaia, A. M., & Skriabin, K. G. (2005). Izuchenie vliianiia sochetanii fitogormonov na kallusoobrazovanie i regenerativnuiu sposobnost topolia *Populus populus* spp.. Biotehnologiya: sostoianie i perspektivy razvitiia. Mezhdunar. Moskovsk. Tret. kongr., 14-18 marta 2005 g.: tezisy dokl, Part 1, 234 p. Moscow. [in Russian].
- Butenko, R. G. (1964). *Kultura izolirovannykh tkanei i fiziologiya morfogeneza rastenii*. Moscow: Nauka. 272 p. [in Russian].
- Chornobrov, O. Yu., Kliuvadenko, A. A., Maurer, V. M., & Melnychuk, M. D. (2013). Adaptatsiia ozdorovlenykh bioener-

- hetychnykh roslyn. *Karantyn i zakhyst roslyn*, 3, 17–19. [in Ukrainian].
- Chornobrov, O. Yu., Kliuvadenko, A. A., Melnychuk, M. D., & Hryhoriuk, I. P. (2012). Biotekhnolohiia nepriamoho morfohenezu *in vitro* hibrýda topolia chorna × topolia balzamichna (*Populus nigra* L. × *Populus balsamifera* L.). *Ahroekolohichnyi zhurnal*, 1, 75–80. [in Ukrainian].
- Erst, A. A., & Bakulin, V. T. (2012). Effektivnyi spòsòb regeneratsii pobegov topolia iz pochek i listev. *Nauchnye vedomosti, seriia estestvennye nauki*, 21(140), 53–58. [in Russian].
- Fuchylo, Ya. D. (2011). Plantatsiine lisovyroshchuvannia: teoriia, praktyka, perspektyvy. Kyiv: Lohos. 463 p. [in Ukrainian].
- Garay, A. G., López, B. P., Corbi, J. M. G., & Pérez, Á. B. (2014). Micropropagación de *Populus Tremula* L.. *Reduca (Biologia. Serie Botánica*, 7(2), 1–11.
- Gaur, A., Kumar, P., Thakur, A. K., & Srivastava, D. K. (2016). In vitro Plant Regeneration Studies and Their Potential Applications in *Populus* spp.: a review. *Israel journal of plant sciences*, 63(2), 77–84. <https://doi.org/10.1080/07929978.2015.1076982>
- Kalinin, F. L., Samatkaia, V. V., & Polishhuk, V. E. (1980). *Metody kultury tkanei v fiziologii i biokhímii rastenii*. Kyiv: Naukova dumka. 488 p. [in Russian].
- Kandel, S. L., Firrincieli, A., Joubert, P. M., Okubara, P. A., Leston, N. D., McGeorge, K. M., Mugnozsa, G. S., Harfouche, A., Kim, S., & Doty, S. L. (2017). An *in vitro* Study of Bio-control and Plant Growth Promotion Potential of Salicaceae Endophytes. *Front Microbiol*, 8(386), 1–16. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00386>
- Khudolieieva, L. V., Kutsokon, N. K., Nesterenko, O. H., Rudas, V. A., Rashydov, N. M., Hrodzynskiy, D. M., & Duhan, O. M. (2014). Mikroklonalne rozmnozheniia dlia stvorennia plantatsii shvydkoroslykh topol dlia potreb alternatyvnoi enerhetyky v Ukraini. *Visnyk Ukr. tov-va henetykiv i seleksioneriv*, 12(2), 226–233. [in Ukrainian].
- Kushnir, H. P., & Samatska, V. V. (2005). *Mikroklonalne rozmnozheniia roslyn: teoriia i praktyka*. Kyiv: Naukova dumka. 269 p. [in Ukrainian].
- Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A Revised Medium for Rapid, Growth and Bioassays with Tobacco Tissue Cultures. *Physiol. Plantarum*, 15(3), 473. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>
- Shimaniuk, A. P. (1967). *Dendrologiia*. Moscow: Lesnaia promyshlennost. [in Russian].
- Tcarev, A. P., Pogiba, S. P., & Trenin, V. V. (2002). *Selektsiia i reproduktsiia lesnykh drevesnykh porod*. Moscow: Logos. 504 p. [in Russian].

О. Ю. Чернобров

ПП НУБіП України "Боярская лесная опытная станция", г. Боярка, Украина

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДОВ КУЛЬТУРЫ ТКАНЕЙ *IN VITRO* ДЛЯ РАЗМНОЖЕНИЯ РАСТЕНИЙ КУЛЬТИВАРОВ *POPULUS* × *CANADENSIS* MOENCH

В настоящее время разработка эффективной технологии микрклонального размножения растений культиваров *Populus* × *canadensis* Moench, ценных в плантационном аспекте, является одной из актуальных задач. В научной литературе отсутствуют протоколы размножения *in vitro* исследуемых растений. Цель – разработка методики введения в культуру *in vitro* пяти растений культиваров *P.* × *canadensis* для массового микрклонального размножения. Для исследований использованы фрагменты побегов и листовые пластинки с 20-летних культиваров в весенне-летний период 2017 г. Применены следующие методы: статистические, культуры тканей растений *in vitro*. Установлены условия получения значительного количества (более 70 %) асептических жизнеспособных эксплантатов с использованием 0,1 % HgCl₂, 2,5 % NaClO и 1,0 % AgNO₃. Исследованы особенности каллусообразования в тканях листовых пластинок при действии регуляторов роста и разного режима освещения. Получено значительное количество оздоровленных микропобегов *in vitro* с эксплантатов листового и стеблевого происхождения на модифицированной питательной среде МС (Мурасиге и Скуга) с добавлением БАП (N⁶-бензиламинопурин), НУК (1-нафтилуксусная кислота) и ИУК (индолил-3-уксусная кислота) при использовании прямого морфогенеза. Дальнейшие исследования направлены на разработку биотехнологии массового микрклонального размножения исследуемых растений.

Ключевые слова: эксплантаты; микрклональное размножение; каллус; питательная среда; микропобеги *in vitro*.

O. Yu. Chornobrov

Separate Subdivision of National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine "Boyarka Forestry Experimental Station", Boyarka, Ukraine

THE APPLICATION OF METHODS OF *IN VITRO* TISSUE CULTURE FOR PROPAGATION OF CULTIVARS OF THE *POPULUS* × *CANADENSIS* MOENCH

The development of an effective technology of mass reproduction of fungal and bacterial diseases-free plants of the cultivars *Populus* × *canadensis* Moench, valuable in the plantation aspect, is one of the urgent tasks of today. At present, microcloning of valuable genotypes of genus *Populus* L. is carried out both by foreign and domestic scientists. Currently, the scientific literature does not contain protocols on micropropagation of investigated plants. The aim of the study was to develop a method of introduction of the cultivars *P.* × *canadensis* 'Tardif de Champagne', *P.* × *canadensis* 'I-45/51', *P.* × *canadensis* 'Dorskamp', *P.* × *canadensis* 'Robusta' and *P.* × *canadensis* 'Blanc du Poitou' to *in vitro* culture for their mass microclonal reproduction. The parts of one-year shoots 10-20 cm long harvested from 20-year-old cultivars in the spring-summer period of 2017 were used for research. The following methods were used: statistical, *in vitro* plant tissue culture. The conditions for obtaining a significant number of aseptic viable explants in the spring-summer period have been established. The optimal conditions for induction of callus formation in leaf blade tissues of cultivars *P.* × *canadensis* 'Tardif de Champagne', *P.* × *canadensis* 'Dorskamp' and *P.* × *canadensis* 'Blanc du Poitou' with a frequency of more than 90 % and active growth of tissues were created on MS medium with the addition of 1.0 mg·L⁻¹ BAP and 0.5 mg·L⁻¹ NAA and during the cultivation in a thermostat without light. An active microshoots formation by direct morphogenesis in the tissues of leaf blades of cultivars *P.* × *canadensis* 'Tardif de Champagne', *P.* × *canadensis* 'I-45/51', *P.* × *canadensis* 'Dorskamp', *P.* × *canadensis* 'Robusta' was fixed on MS medium modified with 1.0 mg·L⁻¹ BAP and 0.5 mg·L⁻¹ NAA in bright light mode. An actively growing microshoots of stem origin of the cultivar *P.* × *canadensis* 'Tardif de Champagne' were obtained on MS medium with 0.1 mg·L⁻¹ BAP and 1.0 mg·L⁻¹ IAA and 7.5 mg·L⁻¹ glucose. The further studies are aimed at obtaining stably growing *in vitro* cultures of cultivars *P.* × *canadensis* 'Tardif de Champagne', *P.* × *canadensis* 'I-45/51', *P.* × *canadensis* 'Dorskamp', *P.* × *canadensis* 'Robusta' and *P.* × *canadensis* 'Blanc du Poitou' on modified basic nutrient medium for mass microclonal propagation with the following adaptation to the conditions *in vitro*.

Keywords: explants; microclonal propagation; callus; culture medium; shoots *in vitro*.