

Небиков М. В.¹, Сержук О. П.^{1,2}

¹Національний дендрологічний парк «Софіївка» НАН України

²Уманський Національний університет садівництва

МОРФОГЕНЕЗ ПРЕДСТАВНИКІВ РОДУ *CRATAEGUS* L. У КУЛЬТУРИ *IN VITRO*

Представлено результати порівняльного аналізу регенераційної здатності представників роду *Crataegus* у культурі *in vitro*. Проаналізовано вплив мінеральної основи та гормонального складу живильних середовищ на морфогенні процеси.

Вступ

Однією з цінних лікарських і плодкових рослин — є рід глід (*Crataegus* L.) з родини розоцвітих (*Rosaceae* Juss.). Він широко використовується у декоративному садівництві та паркобудівництві. Збагачуючи пейзаж яскравим різнобарв'ям, представники даного роду стають важливим декоративним елементом ландшафту і одночасно мають цінні господарські і біологічні властивості. У парки, сади і сквери їх висаджують невеликими групами, а також у вигляді солітерів [1].

У природних умовах глід розмножується насінням, а в плодівництві і декоративному садівництві використовують вегетативні способи розмноження. Проте насіння проростає лише через 2–3 роки після посіву, а вегетативне розмноження не завжди дає позитивні результати [2, 4, 7].

Успішне впровадження в плодівництво і декоративне садівництво представників роду *Crataegus* залежить від ефективних методів масового розмноження і вирощування садивного матеріалу. Завдяки відпрацьованій технології культури *in vitro* можливо швидко і в потрібній кількості отримати звільнений від патогенних організмів садивний матеріал генетично ідентичний батьківській рослині.

Матеріали та методика досліджень

У дослідженні використовували експланти з 3–5 річних рослини модельних видів роду *Crataegus*: *C. almaatensis* A. Rojark., *C. arnoldiana* Sarg., *C. pentagyna* Waldst et Kit.

У роботі використовували методи культури рослинних тканин та індукції морфогенних

процесів *in vitro*, викликаних гормонами. Культивування експлантів проводили у культуральній кімнаті з кондиційованим повітрям, на скляних стелажах, при температурі 25 ± 1 °С, відносній вологості повітря 70–75 %, фотоперіоді 16 годин і штучному освітленні інтенсивністю 3–5 тис. люкс. Посуд, матеріали, інструменти та живильні середовища стерилізували згідно загальноживаних методик [3, 5].

Використання стерилізації вихідного матеріалу сприяє вивільненню його від епіфітних мікроорганізмів та грибів. Для підбору оптимальних стерилізаторів випробували водні розчини різних хімічних реагентів, зокрема 2,5 % гіпохлорид натрію, 0,1 % дихлорид ртуті та 1,0 % нітрат срібла при різних експозиціях. Найбільш ефективним для всіх видів виявилось використання 0,1 % дихлориду ртуті при експозиції 10 хв. [6].

Регенерацію мікропагонів здійснювали на різних живильних середовищах: Драйвера і Куніюки (DKW) [8], Ллойда і Мак Коуна (WPM) [9], Мурасіге–Скуга (MS) [10] з додаванням сахарози 30 г/л, агар-агару 8 г/л та стимуляторів росту. У експериментах використовували наступні фітогормони: цитокініни — 6-бензиламінопурин (БАП), ауксини — β -індолилцтова кислота (ІОК), β -індолилмасляна кислота (ІМК), α -нафтилоцтова кислота (НОК).

Результати досліджень та їх обговорення

Вивчення здатності до адвентивної регенерації різних видів глоду проводилось на шести варіантах живильних середовищ, відібраних

експериментальним шляхом, які б забезпечували коефіцієнт розмноження більше двох (табл.).

Меристематичні верхівки і бруньки, взяті як експланти, при культивуванні на штучних живильних

середовищах починали розвиватися через 10–15 діб. Пересаджування експлантів на свіже живильне середовище проводили один раз на місяць.

Вміст фітогормонів у модифікованих живильних середовищах, мг/л

Варіант середовища	Мінеральна основа	Фітогормони, мг/л	
		БАП	ауксини
I	MS	0,5	0,1 НОК
II	MS	0,75	0,3 ІМК
III	WPM	1,0	0,1 ІОК
IV	DKW	1,5	0,01 ІОК
V	MS	1,5	—
VI	MS	2,0	—

Коефіцієнт розмноження під час першого пасажу дорівнював нулю, під час другого спостерігали проліферацію адвентивних бруньок. При наступних пасажах експланти утворювали конгломерати, складовими яких були не лише бруньки, а й пагони. Для збільшення коефіцієнту розмноження у перших пасажах конгломерати бруньок і пагонів не розділяли на окремі одиниці, а переносили великими частками.

Оцінку ефективності середовищ та облік коефіцієнта розмноження проводили після четвертого пасажу. Кожен окремий вид потребував індивідуального підбору живильних середовищ (рис. 1).

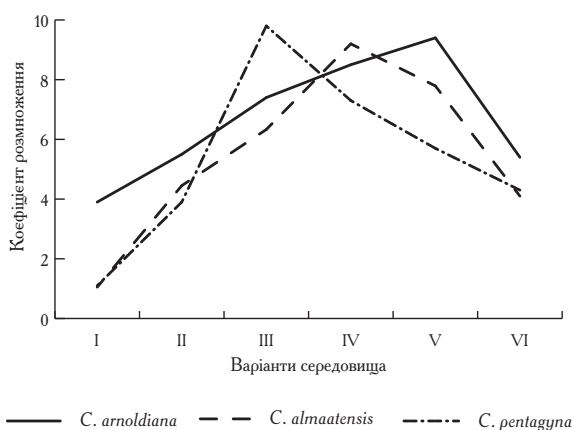


Рис. 1. Коефіцієнт розмноження представників роду *Crataegus* в залежності від вмісту фітогормонів

При культивуванні рослин на середовищі I у всіх видів коефіцієнт розмноження знаходився в межах від 1,0 до 3,9. У II варіанті спостерігали підвищення коефіцієнта розмноження до 3,9–5,5. На середовищі III у експлантів виду *C. almaatensis* було отримано найбільш високий коефіцієнт розмноження (9,8). Середовище IV сприяло збільшенню коефіцієнта розмноження у виду *C. pentagyna* до 9,2. А при культивуванні експлантів виду *C. arnoldiana* на середовищі V коефіцієнт розмноження становив 8,5. Середовище варіанту VI сприяло зниженню виходу мікроклонів у всіх досліджених видів до 4,1–5,4.

Культивування експлантів на даних середовищах забезпечило активний ріст як центрального, так і формування додаткових адвентивних пагонів на 18–24 добу (рис. 2).

Впродовж наступних 25–35 діб було сформовано від 2 до 10 пагонів.

У процесі розмноження отримані пагони мікроклонували кожних 35–50 діб, для цього експланти завдовжки 3–6 см відокремлювали від материнської рослини та розділяли на частини розміром близько 2–3 см завдовжки.

Висновки

У результаті проведених досліджень встановлено, що для успішного проходження процесів органогенезу в умовах *in vitro*, для кожного окремого виду необхідний індивідуальний підбір мінеральної основи та гормонального складу живильних середовищ.



Рис. 2. Формування адвентивних пагонів *C. pentagyna* *in vitro*.

Встановлено, що з усіх живильних середовищ ефективним для *C. almaatensis* є модифіковане середовище за базовим прописом Ллойда і Мак Коуна з додаванням БАП 1,0 мг/л та 0,1 мг/л ІОК, для *C. arnoldiana* — Мурасіге-Скуга з додаванням БАП 1,5 мг/л, а для *C. pentagyna* — Драйвера і Коніюкі, яке додаткове містило БАП 1,5 мг/л та 0,01 мг/л ІОК.

Перелік посилань

1. Біленко В. Глід червоний // Сад, виноград і вино України. — 2001. — № 8–10 — С. 63.
2. Кокоба Ю. А., Балабак А. Ф. Агротехнічні особливості розмноження глоду (*Crataegus* L.) стебловими живцями // Наук. вісник НЛТУУ. — 2005. — Вип. 15.5. — С. 74–78.
3. Кунах В. А. Біотехнологія лікарських рослин. Генетичні та фізіолого-біохімічні основи. — К.: Логос, 2005. — 730 с.
4. Меженська Л. О. Джерела господарсько цінних ознак глоду (*Crataegus* L.) як плодової

культури // Генетичні ресурси для адаптивного рослинництва: мобілізація, інвентаризація, збереження, використання: Тези доп. міжнар. наук.-практ. конф. (Оброшино, 29 червня—1 липня 2005 року). — Оброшино, 2005. — С. 149–150.

5. Калинин Ф. Л., Сарнацкая В. В., Полищук В. Е. Методы культуры тканей в физиологии и биохимии растений. — К.: Наук. думка, 1980. — 488 с.
6. Опалко О. А., Небиков М. В., Сержук О. П. Развитие эксплантов представителей рода *Crataegus* L. залежно від строків введення в культуру *in vitro* // Науковий вісник НАУ. — 2008. — Вип. 122. — С. 291–297.
7. Полетико О. М. Боярышник — *Crataegus* L. // Деревья и кустарники СССР дико-растущие, культивируемые и перспективные для интродукции. — М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1954. — Т. 3 — С. 514–577.
8. Driver J., Kuniyuki A. *In vitro* propagation of Paradox walnut rootstock // HortScience. — 1984. — Vol. 19. — P. 507–509.
9. Lloyd G., McCown B. Commercially feasible micropropagation of mountain laurel *Kalmia latifolia* by use of shoot-tip culture // Proc. Inter. Pl. Prop. Soc. — 1980. — Vol. 30. — P. 421–427.
10. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture // Physiol. Plant. — 1962. — Vol. 15. — № 13. — P. 473–497.

МОРФОГЕНЕЗ ПРЕДСТАВИ-
ТЕЛЕЙ РОДА *CRATAEGUS* L.
В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO*

Небыков М. В.¹, Сержук А. П.^{1,2}

¹Национальный дендрологический парк «Софиевка» НАН
Украины

²Уманский Национальный университет садоводства

Изучена регенерационная способность видов рода *Crataegus* L.: *C. almaatensis* A. Rojark., *C. arnoldiana* Sarg., *C. pentagyna* Waldst et Kit. в условиях *in vitro*. Установлено, что для каждого вида необходимо индивидуально экспериментально подбирать как минеральную основу, так и гормональный состав питательных сред для прохождения процессов органо-генеза у растений.

MORPHOGENESIS OF *CRATAEGUS* L.
GENUS REPRESENTATIVES IN
CULTURE *IN VITRO*

Nebykov M. V.¹, Serzhuk A. P.^{1,2}

¹National dendrological park "Sofiyivka" of NAS of Ukraine

²Uman national university gardening

The results of comparative analysis of the genus *Crataegus* L. representatives regenerative ability in the *in vitro* culture are given. An impact of mineral basis and hormonal composition of nutrient mediums on the morphogenum processes was analyzed. It was determined that need the individual mineral basis and hormonal composition for each species.