



УДК 57.085.2:634.13/14

## ОСОБЛИВОСТІ МІКРОКЛОНАЛЬНОГО РОЗМНОЖЕННЯ РОСЛИН АЙВИ ДОВГАСТОЇ (*Cydonia oblonga* Mill.) МС ЯК ВЕГЕТАТИВНИХ ПІДЩЕП ДЛЯ ГРУШІ ЗВИЧАЙНОЇ (*Pyrus communis* L.)

Ю.М. БУНДУК\*, молодший науковий співробітник  
І.П. ГРИГОРЮК\*\*, член-кореспондент НАН України  
В.В. ХОМ'ЯК\*, науковий співробітник

\* Українська науково-дослідна станція карантину рослин Інституту захисту рослин НААН України

\*\* Національний університет біоресурсів і природокористування України

Наведено найоптимальніші умови стерилізації експлантатів рослин айви звичайної (*Cydonia oblonga* Mill.), МС для введення їх в культуру *in vitro*. Показано стимулюючий вплив 6-бензиламінопурину і кінетину на проліферацію експлантатів рослин.

**Вступ.** Однією з найактуальніших проблем садівництва в Україні є масове закладання садів інтенсивного типу із щільністю більше 1500 шт. дерев на 1 га, однак посадковий матеріал для цієї мети повинен бути позбавлений вірусної, бактеріальної і грибною інфекцій [8]. У створенні новітніх технологій вирощування саджанців особливо важливе значення мають карликові і напівкарликові підщепи, які здатні забезпечувати формування високої продуктивності та якості плодів рослин [7].

Останнім часом у практиці розсадництва груші звичайної (*Pyrus communis* L.) використовують рослини айви довгастої (*Cydonia oblonga* Mill.) як вегетативні підщепи, що дає змогу отримувати слаборослі, скороспілі, високоврожайні і стійкі до стресових факторів навколишнього середовища дерева. Однак будь-які вегетативні підщепи вимагають ретельного

випробування в конкретних ґрунтово-кліматичних умовах, високого ступеня сумісності з прищепами і лише найвигідніші з них, згідно результатів комплексної перевірки, можуть бути рекомендовані для виробництва [6]. Чисельні дослідження засвідчують, що в процесі вегетативного розмноження рослини груші звичайної уражуються вірусними, мікоплазмовими і бактеріальними хворобами, що призводить до значної втрати врожаю плодів у розсадниках та садах. Якщо з фітопатогенними бактеріями і грибами успішно борються за допомогою хімічних засобів, то віруси і мікоплазмові інфекції є внутрішньоклітинними паразитами, що не дає можливості оздоровлювати плоди рослини традиційними методами [3].

Перспективи переходу розсадницьких господарств на вирощування безвірусного стандартного садивного матері-



алу, адаптованого до ґрунтово-кліматичних умов конкретної зони, обумовлює необхідність закладання в Україні маточних насаджень плодкових порід, створення маточно-насіньових і живцевих садів, розсадників та виробництва необхідної кількості саджанців сучасного якісного породно-сортового складу.

У США, Італії, Франції, Голландії та інших розвинутих країнах світу виробництво оздоровленого посадкового матеріалу плодкових і ягідних культур з використанням методу клонального мікророзмноження поставлено на промислову основу [9,10–12]. Технологія мікронального розмноження із використанням культури меристем дозволяє отримувати безвірусний і оздоровлений від інфекційних хвороб посадковий матеріал рослин. Разом з тим, наявні способи введення в культуру *in vitro* і умови культивування, відпрацьовані для одних видів та сортів рослин, не завжди можуть бути прийнятними для інших, оскільки індивідуальна реакція генотипів у процесі розмноження за дії екстремальних умов *in vitro*, виявляється сильніше ніж за традиційних [4,5].

Опрацювання літературних джерел показує, що в Україні розмноження плодкових культур *in vitro* залишається переважно на лабораторній стадії. Тому, на наш погляд, особливо перспективною у промислового садівництва України є розробка новітніх технологій отримання і оздоровлення базових клонів у культурі *in vitro* й наступне прискорене розмноження класичними та біотехнологічними методами. Впровадження цих методів у садівництво дасть змогу суттєво підвищити морфогенетичний потенціал маточних і промислових насаджень, а також ефективність даної галузі в цілому. З огляду на це, метою даної роботи було з'ясування особливостей клонального мікророзмноження рослин айви

довгастої МС як вегетативних підщеп для групи звичайної в умовах Південно-Західного Лісостепу України.

**Матеріали та методика досліджень.** Експерименти проводили в лабораторії біотехнології та селекційного відбору Української науково-дослідної станції карантину рослин Інституту захисту рослин НААН України в 2010–2011 рр. За помологічними ознаками, відсутністю симптомів бактеріальних і вірусних хвороб та карантинних об'єктів відбирали вихідний рослинний матеріал – айву довгасту МС англійської селекції, люб'язно надану приватним фермерським господарством "Яніс" (с. Малинці Хотинського району Чернівецької області) й рекомендовану для Лісостепової зони України. Рослини вирощували в умовах відкритого ґрунту на колекційній ділянці вказаної вище станції (с. Бояни Новоселицького району Чернівецької області).

Для введення об'єктів у культуру *in vitro* використовували апікальні та латеральні бруньки рослин айви довгастої МС без симптомів ураження вірусною інфекцією. З метою оптимізації умов одержання асептичних культур вегетативних підщеп айви застосовували поверхневу обробку матеріалу розчинами сулеми, нітрату срібла і перекису водню в різних концентраціях та експозиціях (табл.).

Експерименти виконували в умовах стерильного ламинарного боксу. Апікальні меристеми з рослин виділяли спеціальними мікрохірургічними інструментами з використанням мікроскопа MST 130, їх розмір становив 2–3 мм. Культивування апексів і мериклональних рослин айви МС здійснювали на живильних середовищах Мурашіге-Скуга, Кворіна-Лепуавра та Гамборга. В досліджах використовували стимулятори цитокінінової дії – 6-бензиламінопурин (6-БАП) та кінетин (6-фурфурілметиламінопурин) в концентраціях



ях 0,5–3,0 мг/л. Субкультивування на нові свіжоприготовлені живильні середовища проводили кожних два-три тижні. Режим культивування: температура – 25±3°С, відносна вологість повітря – 60–70 %, освітленість – 2–3 тис. лк, фотоперіод – 16 год. Ефективність введення об'єкта в культуру оцінювали за ступенем збільшення розмірів апексів (перша фаза), розкриття двох-трьох примордіїв (друга фаза) і утворення мікророслин (третья фаза). Статистичну обробку даних проводили з використанням пакету програм "Statistica 6.0".

**Результати досліджень.** Отримання асептичної культури – один із складових елементів технології вирощування рослин *in vitro*. Стерилізуюча речовина, яку використовують для асептичної культури, має знешкоджувати клітини мікроорганізмів і не пошкоджувати здорові клітини рослин. Оптимальне поєднання цих умов є неможливим, оскільки перша з них суперечить іншій [2].

Одним із інтегральних показників ефективності стерилізуючої речовини є кількість асептичних експлантатів, які в подальшому здатні інтенсивно розвиватися [1]. У проведених нами лабораторних експериментах найбільшої стериль-

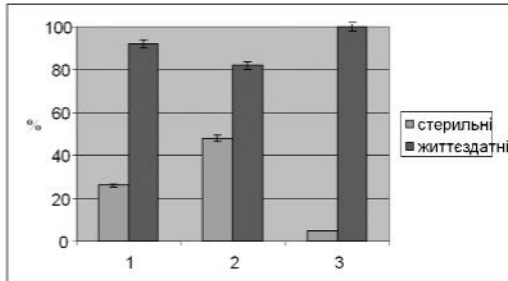
ності первинних експлантатів досягнуто у варіанті з використанням 0,6 % розчину азотнокислого срібла за експозиції 45–60 с (рис. 1). Необхідно зазначити, що кількість стерильних експлантатів, при застосуванні даного способу стерилізації, становила 92 %, а життєздатних – лише 26,1 %. Використання 0,6 % розчину сулеми сприяло отриманню 82,0 % стерильних експлантатів, 48,0 % з яких були життєздатними. Найменшу кількість стерильних експлантатів (5%) виявлено за умов стерилізації 10 % розчином перекису водню.

Надалі регенеровані мікропагони рослин айви довгастої МС культивували на найоптимальніших за гормональним і мінеральним складом живильних середовищах [8]. В умовах модельного досліду максимальну регенерацію експлантатів (45,6%) рослин визначено на живильному середовищі Мурашіге-Скуга. Після трьох місяців культивування 30,8 % експлантатів досягали третьої фази розвитку – формування мікророслин (рис. 2, 3, 4).

На живильному середовищі Гамборга нами зареєстровано підвищення активності ростових процесів у 23,8 % апексів рослин, із яких 13,3 % почали формува-

Таблиця. Умови стерилізації первинних експлантатів рослин айви довгастої МС

Варіант					
1		2		3	
Стерилізуючий агент	Експозиція	Стерилізуючий агент	Експозиція	Стерилізуючий агент	Експозиція
70 % розчин етанолу	1с	70 % розчин етанолу	1с	70 % розчин етанолу	1с
стерильна вода	10 хв	стерильна вода	10 хв	стерильна вода	10 хв
0,6 % розчин срібла азотнокислого	40 с	0,6 % розчин сулеми	40 с	10 % розчин перекису водню	5 хв
стерильна вода	10 хв	стерильна вода	10 хв	стерильна вода	10 хв

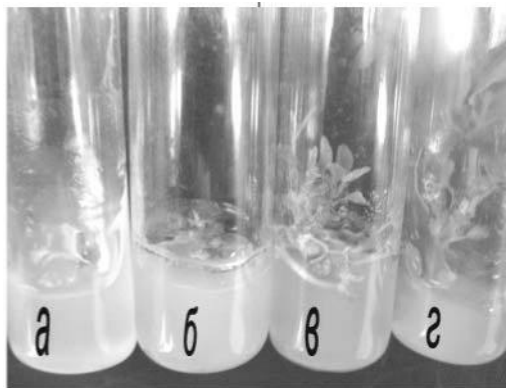


**Рис. 1.** Вихід стерильних і життєздатних експлантатів рослин айви довгастої МС залежно від стерилізації розчинами:

1 – азотнокислого срібла, 2 – сулеми, 3 – перекису водню

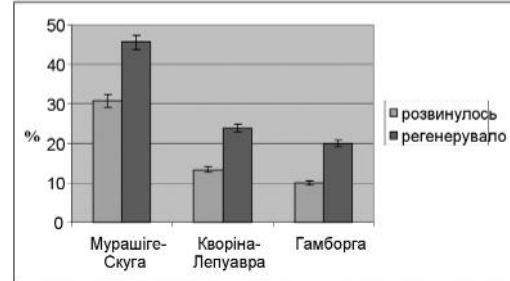
ти рослини-регенеранти. Водночас, на живильному середовищі Кворіна-Лепуавра диференціація меристематичних тканин відбувалась менш інтенсивно ніж на інших: кількість регенеруючих меристем у культурі *in vitro* складала 20,0 %, а меристем апікальних, що утворили мікророслини, – 10,0 %.

У серії експериментів нами достовірно доведено, що додавання до складу живильного середовища Мурашіге-Скуга 0,5 мг/л 6-БАП ініціювало розвиток мікропагонів айви довгастої МС в кількості 1,3 шт. на рослину (рис. 5). Одноразове внесення



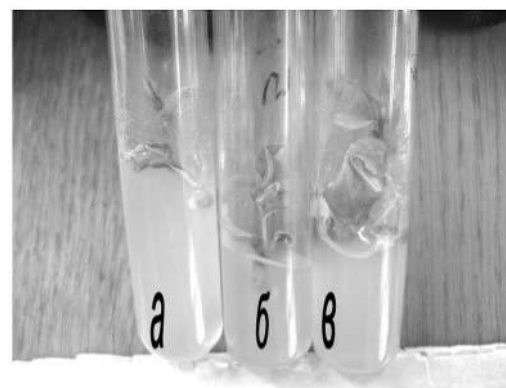
**Рис. 3.** Етапи морфогенезу рослин айви звичайної на живильному середовищі Мурашіге-Скуга. Місяці культивування:

а – перший; б – другий-третій; в – п'ятий; г – шостий-сьомий



**Рис. 2.** Розвиток меристеми рослин айви довгастої МС на живильних середовищах

в живильне середовище 6-БАП у концентрації 1,0 мг/л спричиняло також підвищення коефіцієнта розмноження мікрональних рослин айви довгастої МС до величини 2,0. Збільшення концентрації 6-БАП з 2,0 до 3,0 мг/л в живильному середовищі Мурашіге-Скуга стимулювало процес пагоноутворення в межах 5,5–6,3 шт. на рослину. Найвищий відсоток розмноження рослин айви довгастої МС нами отримано на живильних середовищах з додаванням стимулятора росту кінетину в концентрації 3,0 мг/л. За даних контрольованих умов дослідження величина коефіцієнта їх розмноження становила 6,3, як і при використанні 6-БАП в аналогічній концентрації. Проте кількість слабороз-



**Рис. 4.** Мікророслини айви довгастої МС, вирощені на живильних середовищах:

а – Гамборга, б – Кворіна-Лепуавра, в – Мурашіге-Скуга

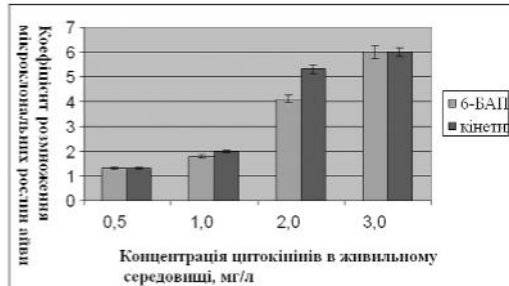


Рис. 5. Вплив цитокінінів на проліферацію експлантів рослин айви довгастої МС

винених рослин за дії кінетину була вдвічі меншою, ніж 6-БАП, яка складала 16,3 проти 32,8 %. Таким чином, 6-БАП суттєвіше прискорює процеси поділу клітин рослин айви довгастої МС в ізольованій культурі, ніж кінетин. Характерно, що на живильних середовищах із внесенням кінетину в концентраціях 0,5, 1,0 і 2,0 мг/л коефіцієнт розмноження пагонів рослин

мало відрізнявся від варіантів з 6-БАП і дорівнював 1,3, 1,6 та 1,8 відповідно.

**Висновки**

Оптимальною умовою стерилізації бруньок рослин айви довгастої МС, що забезпечує максимальне формування життєздатних експлантів (48,0 %), є їх поверхнева обробка 0,6 % розчином сулеми за експозиції 45–60 с.

Для культивування апікальних меристем рослин найпридатнішим є живильне середовище Мурашіге-Скуга, на якому інтенсивніше відбувається регенерація експлантів, ніж на живильних середовищах Кворіна-Лепуавра та Гамборга.

Для підвищення ефективності мікроклонального розмноження рослин айви довгастої МС рекомендовано використовувати живильне середовище Мурашіге-Скуга з додаванням цитокінінів 6-БАП і кінетину в концентраціях 0,5–2,0 мг/л.

**Література**

1. Ініціація культури айви звичайної *in vitro* / Бундук Ю.М., Григорюк І.П., Мельничук М.Д., Клюваденко А.А. // Вісник аграр. науки. – 2011. – №5 – С. 39–41.
2. Валиханова Г.Ж. Биотехнология растений. – Алма-Аты: Конжык, 1996. – 272 с.
3. Довгань С.В., Орлова О.М., Сядриста О.Б. Фітосанітарний моніторинг // 22.01.09. www.golvdergzahist.com.ua.
4. Калинин Ф.Л., Кушнір Г.П., Сарнацкая В.В. Технология микроклонального размножения растений. – К.: Наук. думка, 1992. – 232 с.
5. Катаева Н.В., Бутенко Р.Г. Клональное микроразмножение растений. – М.: Наука, 1983 – 97 с.
6. Клименко С.В. Айва обыкновенная. – К.: Наук. думка, 1993. – 284 с.
7. Кондратенко П.В. Результати наукових досліджень та стан забезпечення садівництва України оздоровленим садивним матеріалом плодкових і ягідних культур // Доповідь на засіданні Бюро Президії УААН, Київ, 25 жовтня 2007 р.
8. Кушнір Г.П., Сарнацкая В.В. Микроклональное размножения растений. Теория і практика. – К.: Наук. думка, 2005. – 242 с.
9. Матушкина О.В., Пронина И.Н. Будущее садов за клональным микроразмножением // Главный агроном. – 2004. – №9. – С. 27–29.
10. D'Onofrio C., Morini S. Development of adventitious shoots from *In vitro* grown *Cydonia oblonga* leaves as influenced by different cytokinins and treatment duration // Biol. Plant. – 2005. – 49, №1. – P. 17–21.
11. Dumanoglu H., Gulsen Y. *In vitro* rooting of quince A (*Cydonia oblonga* Mill.) // ISHS Acta Horticulturae: VI Intern. Symp. on Pear Growing, 1994. – P. 367.
12. Khalil M., Yolande A., Emile M. *In vitro* micropropagation of quince (*Cydonia oblonga* Mill.) // Scientia Horticulturae. – 1986. – 28. – P. 315–321.



## АННОТАЦІЯ

**Бундук Ю.М., Григорюк І.А., Хом'як В.В.**  
*Особенности микроклонального размножения растений айвы продолговатой МС как вегетативных подвоев для груши обыкновенной // Биоресурсы и природопользование. – 2012. – 4, № 3–4. – С. 5–9.*

Приведены наиболее оптимальные условия стерилизации эксплантатов растений айвы продолговатой МС для введения их в культуру *in vitro*. Показано стимулирующее влияние 6-бензиламинопурина и кинетина на пролиферацию эксплантатов растений.

## SUMMARY

**Yu. Bunduk, I. Hrygoryuk, V. Homyak**  
*Features of microclonal proliferation of Cydonia oblonga Mill. MC as vegetative seedling stock for Pyrus communis L. // Biological Resources and Nature Management. – 2012. – 4, № 3–4. – P. 5–9.*

The most optimal parameters of sterilization by explants of *Cydonia oblonga* Mill. MC for introduction them into culture *in vitro* are given. Stimulant influence of 6-benzilaminopurine and kinetin on proliferation of plants explants are determined.