

канд. с.-х. наук / С. Б. Кочановский. – Минск, 1964. – 24 с.

12. Таран И. В Устойчивость рекреационных лесов / И. В. Таран, В. Н. Спиридонов. – Новосибирск : Наука, 1977. – 179 с.

Рассмотрена корненаселенность почвы в ландшафтных группах древесных растений на суглинистых почвах, в зависимости от плотности верхнего 80-сантиметрового слоя почвы, в условиях судубрав зеленой зоны г. Киева.

Ключевые слова: *корненаселенность почвы, корневая система, физиологически активные корни, плотность почвы.*

Considered root occupying soil in the landscape groups of woody plants in loamy soil, depending on the density of the upper 80-cm layer of soil conditions sudibrov green zone. Kyiv.

Key words: *root occupying soil, the root system, physiologically active roots, soil densit.*

УДК 602.6:582.5/.9:635.915

ЗАСТОСУВАННЯ МЕТОДІВ КУЛЬТУРИ КЛІТИН І ТКАНИН В УМОВАХ *IN VITRO* ДЛЯ РОЗМНОЖЕННЯ ДРІБНОКВІТКОВИХ ЛОМИНОСІВ (РІД *CLEMATIS* L.)

**Ю. В. Коломієць, кандидат біологічних наук
А. П. Пінчук, кандидат сільськогосподарських наук
І. Б. Ковалишин, аспірантка**

**Національний університет біоресурсів
і природокористування України**

**Н. Г. Вахновська, кандидат біологічних наук
Національний ботанічний сад ім. М. М. Гришка НАН України**

*Визначено оптимальні умови введення насіння та різних типів експлантатів видів і сортів дрібноквіткових ломіносів (*Clematis* L.) у культуру *in vitro* шляхом добору відповідних режимів стерилізації та вмісту гормональних компонентів у модифікаціях живильного середовища.*

Ключові слова: *клональне мікророзмноження, дрібноквіткові ломіноси, режим стерилізації, живильне середовище, *in vitro*.*

Роль зелених насаджень у планувальній структурі міст полягає у поліпшенні мезо- і мікроклімату та санітарно-гігієнічних умов середовища:

* Наковий керівник – кандидат сільськогосподарських наук, доцент А. П. Пінчук

© Ю. В. Коломієць, А. П. Пінчук,
І. Б. Ковалишин, Н. Г. Вахновська, 2015

сповільнення швидкості вітру, затримка пилу і аерозолів, поглинання газових домішок з повітря, зменшення сили звукових хвиль і, звісно, створення природного пейзажного середовища [1]. За умов існуючої щільної забудови кількість зелених насаджень можна збільшити за допомогою рослин, що нарощують потужну вегетативну масу за обмеженого об'єму поживного субстрату. До таких рослин належать представники групи дрібноквіткових ломиносів, яким притаманна стійкість до забруднення довкілля, невибагливість до умов вирощування та висока декоративність під час цвітіння й плодоношення [2].

Садивний матеріал ломиносів отримують за допомогою як вегетативного, так і генеративного розмноження. Насінням розмножують видових представників групи. Основним способом масового вегетативного розмноження форм та сортів є зелене живцювання, для невеликих масштабів виробництва – поділ куща та метод горизонтальних відводок. У селекційній роботі для розмноження нових гібридів та рідкісних сортів застосовують щеплення на корені [3].

Використання методів культури *in vitro* для отримання посадкового матеріалу застосовується дедалі ширше, оскільки має ряд переваг, порівняно з традиційними методами розмноження, а саме: дає змогу отримати необхідну кількість генетично однорідних саджанців за короткий час, а отримані таким чином рослини менше уражуються хворобами, краще адаптуються до місць постійного вирощування та мають нижчу собівартість [4].

Активація пазушних меристем, за умови усунення апікального домінування, лежить в основі найбільш поширеної технології клонального мікророзмноження рослин. Найбільш ефективним та економічно вигідним є метод непрямого морфогенезу, оскільки за сприятливих умов культивування з кожної калюсної клітини може сформуватись адвентивна брунька, що дає початок новій рослині. Проте цей спосіб доцільно використовувати лише для тих рослин, яким притаманна генетична стабільність калюсної тканини, а варіабельність між рослинами-регенерантами знаходиться в межах природної мінливості [5].

Фундаментальні дослідження з клонального мікророзмноження ломиносів провела І. В. Митрофанова. У них розглянуто питання соматичного ембріогенезу, прямого морфогенезу та створення генетичних банків великоквіткових сортів ломиноса [7, 8, 9].

Питанням збереження рідкісних видів рослин біотехнологічними методами у Волгограді (Росія) займалася група вчених Волгоградського регіонального ботанічного саду: О. О. Жолобова, О. І. Коротков, Г. М. Сафронова, А. В., Буганова, О. А. Сорокопудова. Дослідження включали 72 рідкісних види, серед яких 3 види ломиносів (*C. Integrifolia* L., *C. orientalis* L., *C. recta* L.) [10].

Оскільки серед представників роду є багато видів, які використовують як джерело біологічно активних речовин, ломиноси є об'єктом досліджень у галузі фармакології. Такі вчені, як А. М. Бугара, С. І. Чмелева, А. І. Сидякін, Д. А. Панов та В. Д. Работягов розглядали

калюс ломиноса виноградолистого як джерело трипленових глікозидів [11,12].

Питанням клонального мікророзмноження представників роду *Clematis* L. займалися румунські дослідники Elena Alina Rovină, Mirela Călinescu, Catița Plopa, Valentina Isac (прямий морфогенез *C. 'Comtesse de Bouchand'*) [13], польські – Marek Dabski, Marzena Parzymies (тип та концентрацію карбонгидратів у живильному середовищі для *Clematis integrifolia* L.) [14], індійські – Hanumanaika Raja Naika, Venkatarangaiah Krishna (соматичний ембріогенез *Clematis gouriana* Roxb.) [15].

Проте, незважаючи на широкий спектр досліджень, проведених вченими з різних країн світу, питання клонального мікророзмноження ломиносів розкриті не повністю та потребує продовження досліджень.

Мета досліджень – отримання асептичної культури дрібноквіткових ломиносів, шляхом проведення добору первинних експлантатів та встановлення умов їх введення в культуру *in vitro*.

Матеріали та методика досліджень. Як вихідний матеріал було використано насіння, вузли з вегетативними бруньками та листові пластинки видів і сортів дрібноквіткових ломиносів: *Clematis viticella* L., *C. tibetana* Kuntze., *C. 'Звездоград'* (*C. ispahanica* Boiss. 'Zvezdograd') і *C. 'Фаргезиоидес'* (*C. fargesii* Franch. 'Paul Farges'), надані відділом ландшафтного будівництва Національного ботанічного саду ім. М. М. Гришка НАН України, та *C. taxensis* Buckl. 'Princess Diana', який було висаджено на території навчально-науково-виробничого розсадника кафедри лісовідновлення та лісорозведення.

У дослідженні було застосовано такі стерилізанти: гіпохлорит натрію NaClO в концентрації 3,3 і 5 %, перекис водню H₂O₂ – 17,5 %, розчин перманганату калію KMnO₄ – 1 %, сірчану кислоту H₂SO₄ – 0,1 %. Тип стерилізанта, його концентрація та експозиція добирається індивідуально для кожного типу експлантата, щоб забезпечити знезараження та мінімально пошкодити рослинні тканини [6].

У дослідженні використано модифікації живильного середовища Мурасіге і Скуга (МС), до складу яких було додано регулятори росту: зеатин (Зеа), 6-бензиламінопурин (БАП), гіберелова (ГК) і нафтилоцтова кислота (НОК) (табл. 1).

1. Модифікації живильного середовища

Живильне середовище	Регулятори росту, мг·л ⁻¹			
	Зеа	БАП	НОК	ГК
МС1*	-	-	-	-
МС2	2	-	-	-
МС3	-	-	-	0,5
МС4	-	1	0,2	-
МСР	-	0,2	-	0,5

* - половинний вміст макро-, мікросолей та вітамінів.

Насіння до проростання та листові експлантати до початку утворення первинного калюсу утримували в темряві за температури

+25...±2 °С. Після цього, культивування продовжували при освітленні 2 клк і 16-годинному фотоперіоді за температури +24...±2 °С та 70 %-й вологості повітря. Сегменти пагонів із вегетативними бруньками від початку культивувалися при світлі.

Підготовка та введення експлантатів в культуру *in vitro* було проведено відповідно до загальноприйнятих рекомендацій, що передбачає дотримання правил асептики [5, 6].

Результати дослідження. Насіння було використано для введення в асептичну культуру видових ломиносів (*C. viticella*, *C. tibetana*). Оскільки насіння цих видів різне за розміром та формою, режими його стерилізації також відрізняються. Для ломиноса фіолетового (*C. viticella*) оптимальною виявилася стерилізація 0,1 % сірчаною кислотою H_2SO_4 протягом 5 хв. Ця операція не тільки знезаразила насіння, а й стимулювала його проростання, тоді як замочування в перманганаті калію та перекисі водню лише усувало контамінацію грибів та бактерій. Ефективним режимом стерилізації для насіння ломиноса тибетського (*C. tibetana*) є замочування на 20 хв у 17,5 %-му розчині перекису водню. Вузли з вегетативними бруньками *C. 'Звездоград'* набувають асептичність та зберігають свою життєздатність при п'ятихвилинній обробці розчином гіпохлориту натрію в концентрації 5 %. Оптимальним режимом стерилізації листових експлантатів сортів *C. 'Фаргезиоидес'* і *C. taxensis 'Princess Diana'* є застосування 3,3 %-го розчину гіпохлориту натрію впродовж 5 хв (табл. 2).

2. Оптимальні режими стерилізації експлантатів та насіння дрібноквіткових ломиносів

Вид/сорт	Тип експлантата	Стериліант	Концентрація, %	Експозиція, хв.	Кількість асептичних / життєздатних, %
<i>C. viticella</i>	Насіння	H_2SO_4	0,1	5	100 / 47±1,5
<i>C. tibetana</i>		H_2O_2	17,5	20	100 / 36±1,7
<i>C. 'Zvezdograd'</i>	Вузол	NaClO	5	5	70±3,2 / 65±2,1
<i>C. 'Princess Diana'</i>	Листові	NaClO	3,3	5	95±2,7 / 75±1,8
<i>C. 'Paul Farges'</i>	висічки	NaClO	3,3	5	80±2,5 / 60±2,2

Для пророщування насіння було використано безгормональне середовище з половинним вмістом макро-, мікросолей та вітамінів – МС1. Перші сходи ломиноса тибетського з'явилися через 25 днів культивування. Решта насіння виду продовжувала проростати протягом 60 днів. Отримані сходи було пересаджено на поживне середовище МС2 для прискорення розвитку пагонів (рис. 1).

Насіння ломиноса фіолетового (*C. viticella*) почало проростати на 60-й день культивування. Сходи було перенесено на модифікацію живильного середовища МС2.

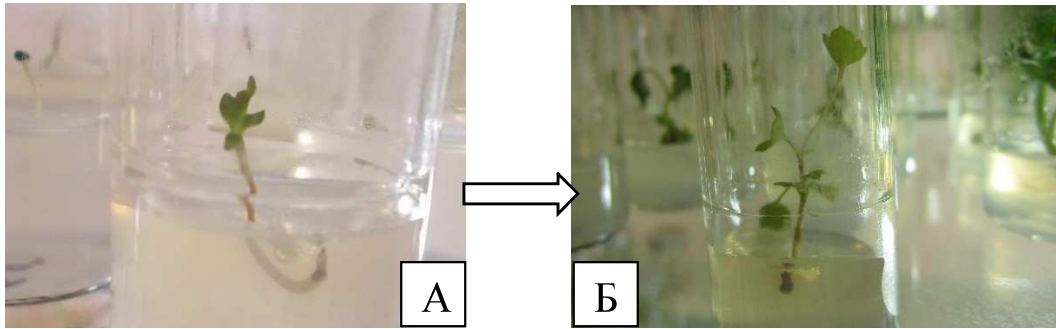


Рис.1. Розвиток ломиноса тибетського (*Clematis tibetana*) насіннєвого походження *in vitro* (А – 35-та і Б – 43-тя доба культивування)

Для активації пазушних меристем сорту С. 'Звездоград' вузли з бічними бруньками висаджували на середовища МС2 та МС3. В обох варіантах із пазушних бруньок розвивалися пагони, проте при культивуванні на МС2 (+ Зеа) тканини дедиференціювали через 15 днів культивування та перенесли на калусогенне середовище МС4, а на МС3 пагони продовжували рости у висоту (рис. 2).

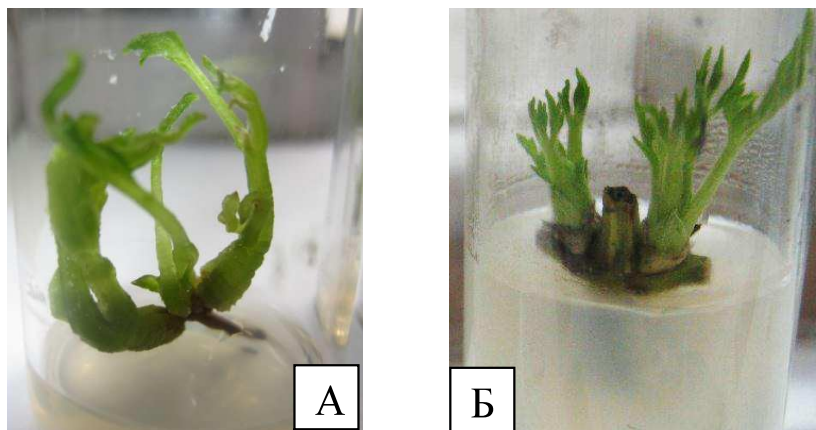


Рис. 2. Розвиток експлантів *C. ispanhanica* 'Zvezdograd' на модифікаціях живильного середовища МС2 (А) та МС3 (Б)

Для культивування листових висічок С. 'Фаргезиоидес' і С. 'Princess Diana' застосовували модифікацію середовища МС4. Після стерилізації на абаксіальну сторону сегмента листка скальпелем наносили насічки, після чого експлантати було перенесено на живильне середовище. Процес калусоутворення почався на 5-й день культивування з деформації та часткового набрякання сегментів листових пластинок. На 17–20-ту добу експлантати утворювали калусні тканини та були перенесені на світло для продовження культивування (рис. 3).

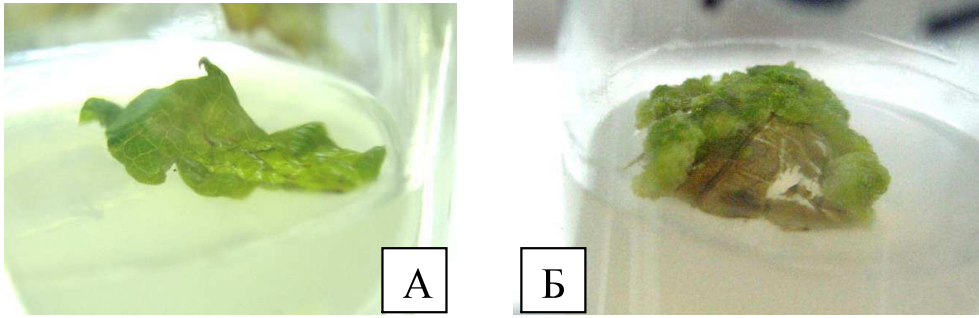


Рис. 3. Утворення калюсу на листових експлантатах *C. taxensis* 'Princess Diana' (А – 5-та і Б – 20-та доба культивування)

Пагони, отримані під час культивування всіх типів експлантів, було розділено на сегменти з парою бруньок і висаджено на регенераційне середовище МСР.

Висновки

1. Для знезараження насіння *C. tibetana* доцільно застосовувати 17,5 %-й розчин перекису водню впродовж 20 хв. Для усунення бактеріального та грибного зараження насіння *C. viticella* та прискорення його проростання ефективним є п'ятихвилинне замочування в 0,1 %-й сірчаній кислоті. Оптимальним режимом стерилізації листових експлантів *C. 'Фаргезиоидес'* і *C. 'Princess Diana'* та вузлів із вегетативними бруньками *C. 'Звездоград'* є їх замочування протягом 5 хв у розчині гіпохлориту натрію (3,3 % – для листових сегментів, 5 – для вузлів із вегетативними бруньками).

2. Паростки видових ломиносів *C. tibetana* і *C. viticella* доцільно переносити на поживне середовище, збагачене зеатином ($2 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$) для збільшення інтенсивності їх росту.

3. Культивування сегментів пагонів *C. 'Звездоград'* із вегетативними бруньками на середовищі МС із додаванням зеатину ($2 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$) призводить до дедиференціації тканин. Для розмноження сорту методом активації пазушних меристем доцільно використовувати гіберелову кислоту ($0,5 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$).

4. Для розмноження *C. 'Фаргезиоидес'* і *C. 'Princess Diana'* методом непрямого морфогенезу рекомендовано культивування листових висічок на середовищі МС, доповненому БАП ($1 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$) і НОК ($0,2 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$) у темряві впродовж 17–20 діб із наступним перенесенням на світло.

Список літератури

1. Кучерявий В. П. Озеленення населених місць / В. П. Кучерявий – Львів : Світ, 2005. – 456 с.
2. Бескаравайная М. А. Клематисы / М. А. Бескаравайная. – М., Росагропромиздат, 1991. – 189 с.
3. Вахновська Н. Г. Рекомендації з розмноження, вирощування та використання великоквіткових клематисів у м. Київ / Н. Г. Вахновська. – К. : Фітосоціоцентр, 2007. – 52 с.
4. Сидякин А. И. Индуцированный морфогенез *in vitro* и накопление трипленовых гликозидов в каллусных культурах ломоноса

виноградолистного (*Clematis vitalba* L.): дис. ... канд. биол. наук / Сидякин А. И. – Симферополь. 2011. – 217 с.

5. Современные проблемы и методы биотехнологии : электрон. учеб. пособие [Электронный ресурс] / [Н. А. Войнов, Т. Г. Волова, Н. В. Зобова и др.] ; под. науч. ред. Т. Г. Воловой. – Электрон. дан. (12 Мб). – Красноярск : ИПК СФУ, 2009.

6. Кушнір Г. П. Мікроклональне розмноження рослин. Теорія і практика / Г. П. Кушнір, В. В. Сарнацька. – К. : Наук. думка, 2005. – 272 с.

7. Спосіб депонування в умовах *in vitro* плодкових і декоративних культур : метод. рекомендації / уклад. : І. В. Митрофанова, Н. М. Іванова, О. В. Митрофанова та ін. ; Нікітський ботанічний сад – Національний науковий центр. – К. : Курбанов Д. О., 2010. – 37 с.

8. Митрофанова И. В. Соматический эмбриогенез как система *in vitro* размножения культурных растений / И. В. Митрофанова // Физиология и биохимия культурных растений / Институт фізіології і генетики рослин НАН України. – К., 2009. – Т. 41, № 6. – С. 496–508.

9. Корзіна Н. Розвиток експлантів ломоносу (*Clematis* L.) на етапі введення за умов *in vitro* / Н. Корзіна, І. Митрофанова // Вісник Львівського університету. Серія біологічна. – Львів, 2014. – Вип. 64. – С. 67–74.

10. Жолобова О. О. Сохранение редких и исчезающих видов растений при помощи методов биотехнологии / О. О. Жолобова, О. И. Коротков, Г. Н. Сафронов [и др.] // Современные проблемы науки и образования : биологические науки / Электронный научный журнал. – 2012. – № 1.

11. Сидякин А. И. Оптимизация состава питательных сред для индукции каллусообразования в культуре *in vitro* вегетативных органов ломоноса виноградолистного / А. И. Сидякин, А. М. Бугара, О. Н. Белова // Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского : серия «Биология, химия». – Симферополь, 2009. – Т. 22 (61). – С. 71–77.

12. Бугара А. М. Калюсные культуры ломоноса виноградолистного (*Clematis vitalba* L.) – продуценты тритерпеновых гликозидов / А. М. Бугара, С. И. Чмелева, А. И. Сидякин [и др.] // Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского : серия «Биология, химия». – Симферополь, 2006. – Т. 19 (58). – С. 8–13.

13. Elena Alina Rovină. *In vitro* regeneration of the ornamental varieties related to the cultural media / Elena Alina Rovină, Mirela Călinescu, Catița Plopa, Valentina Isac / Scientific Papers of the R.I.F.G. – Pitesti, 2009. – Vol. XXV. – P. 13–18.

14. Marek Dabski. The influence of type and concentration of carbohydrates on growth and branching of *Clematis integrifolia in vitro* / Marek Dabski, Marzena Parzymies / Annales Universitatis Mariae Curie-Sclodowska. – Lublin, 2007. – Vol. XVIII (2). – P. 49–54.

15. Hanumanaika RAJA NAIKA. Plant Regeneration from Callus Culture of *Clematis gouriana* Roxb. – A Rare Medicinal Plant / Hanumanaika RAJA NAIKA Venkatarangaiah KRISHNA / Turk J Biol. – Karnataka, 2008. – Vol. 32. – P. 99–103.

Определены оптимальные условия введения семян и разных типов эксплантатов видов и сортов мелкоцветковых клематисов (*Clematis L.*) в культуру *in vitro* путем отбора соответствующих режимов стерилизации и содержания гормональных компонентов в модификациях питательной среды.

Ключевые слова: клональное микроразмножение, мелкоцветковые клематисы, режим стерилизации, питательная среда, *in vitro*.

The optimal conditions for seeds and different explant types of small-flowered clematis (Clematis L.) introducing for subsequent cultivation in vitro were defined. The goal was achieved by selecting appropriate sterilization modes and maintenance of the hormonal components in medium modifications.

Key words: micropropagation, small-flowered clematis, sterilization mode, nutrient medium, *in vitro*.

УДК 630*232.412

ДО ПИТАННЯ РОЗШИРЕННЯ ТЕРМІНІВ САДІННЯ КУЛЬТУР І ПІДВИЩЕННЯ ЖИТТЄЗДАТНОСТІ ВИСАДЖЕНИХ РОСЛИН

**В. М. Маурер, А. П. Пінчук,
кандидати сільськогосподарських наук
М. Г. Борщ, студент магістратури**

Наведено результати апробації ефективності різних модифікацій складу субстрату для дорощування («оздоровлення») стандартних сіянців сосни звичайної з відкритою кореневою системою задля подовження термінів садіння культур і підвищення приживлюваності рослин, висаджених у пізньовесняні та ранньолітні строки.

Ключові слова: сосна звичайна, сіянці, субстрат, садивний матеріал, приживлюваність, лісові культури.

Сучасне ведення лісового господарства, зокрема відтворення лісів в умовах глобального потепління клімату і зумовленого ним скорочення тривалості оптимальних термінів весняної лісокультурної компанії висуває підвищені вимоги до якості садивного матеріалу. В цьому контексті для лісокультурного виробництва надзвичайно актуальною є розробка нових та удосконалення традиційних способів консервації, збереження й транспортування садивного матеріалу, які б дали змогу забезпечити розширення строків весняного садіння сіянців та саджанців,

* Наковий керівник – кандидат сільськогосподарських наук, доцент А. П. Пінчук

© В. М. Маурер, А. П. Пінчук, М. Г. Борщ, 2015