

Шишки з новим варіантом будови апофізу *f. gibba* 3 становлять 17,6 % від загальної кількості шишок *f. gibba*. Вони виявлені у дерев, які походять із Волинської обл. (82 %), Костромської обл. (12,0 %), Тернопільської обл. (51,0 %), Воронежської обл. (40 %), Житомирської обл. (25,0 %), Молдови (27,0 %). Форма апофізу *f. reflexa* 4 становить 5,2 % від загальної кількості досліджених шишок *f. reflexa*, вони трапляються у дерев, які походять з Бурятської АР (10,0 %), Орловської обл. (12,0 %), Київської обл. (9,0 %), АР Кімі (9,0 %), Вологодської обл. (16,3 %), Пермської обл. (31,0 %) та Радехівського р-ну Львівської обл. (22,9 %).

Висновки. Аналіз параметричних та якісних ознак шишок сосни звичайної у географічних культурах Буцинського лісництва ДП "Старовижівське ЛГ" дає підстави стверджувати, що у будові генеративних органів рослини спостерігається значна неоднорідність, викликана просторовою мінливістю виду у межах природного та штучного ареалу. Формова різноманітність апофізу насінних лусок шишок сосни звичайної у географічних культурах представлена усіма описаними у природних популяціях варіантами, й у загальних рисах відповідає географічним тенденціям їх розподілу у межах ареалу виду, що свідчить про закріплення цих ознак на генетичному рівні.

Література

1. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. (С основами статистической обработки результатов исследований). – Изд. 4-е, перераб. и доп. – М.: Колос, 1979. – 416 с.
2. Каппер В.Г. Хвойные породы. Лесоводственная характеристика. – М.-Л.: Гослесбуиздат, 1954. – 304 с.
3. Правдин Л.Ф. Сосна обыкновенная. Изменчивость, внутривидовая систематика и селекция. – М.: Наука, 1964. – 192 с.
4. *Biologia sosny zwyczajnej*/ Pod redakcja S. Białoboka, A. Boratyńskiego i W. Bugały. – Poznań-Kórnik: Sorus, 1993. – 624 s.

УДК 582.736.3:631.53

Аспір. В.Д. Мазуренко – Уманський державний аграрний університет; ст. наук. співроб. Л.А. Колдар; ст. наук. співроб. М.В. Небиков – Національний дендропарк "Софіївка" НДІ НАН України

МОРФОГЕННИЙ РОЗВИТОК РОСЛИН *ROBINIA PSEUDOACACIA* L. ПРИ КУЛЬТИВУВАННІ В УМОВАХ *IN VITRO*

Досліджено морфогенний розвиток експлантів *Robinia pseudoacacia* L. Виконано підбір оптимальних варіантів стерилізації рослинного матеріалу та модифікацію живильних середовищ для розмноження і отримання рослин-регенерантів.

Ключові слова: *Robinia pseudoacacia*, *in vitro*, морфогенний розвиток, експланти, стерилізація, живильне середовище, рослини-регенеранти.

Post-graduate V.D. Mazurenko – Uman State Agrarian University; senior research officer L.A. Koldar; senior research officer M.V. Nebykov – National Dendrological Park "Sofiyivka"

Morphogenous development of *Robinia pseudoacacia* l. plants in case of cultivation in the conditions *in vitro*

Morphogenous development of *Robinia pseudoacacia* L. explants is explored. Selection of optimal variants of sterilizations of vegetable material and modification of nutrient medium for reproduction and receipt of regenerative plants are conducted.

Keywords: *Robinia pseudoacacia*, in vitro morphogenous development, explants, sterilization, nutrient medium, regenerative plants.

Актуальною проблемою сьогодення є раціональне використання рослинних ресурсів Землі, збагачення народного господарства України новими високопродуктивними видами, формами і сортами рослин. Серед великого різноманіття рослин, які населяють нашу планету, провідне місце посідають деревні рослини, які ростуть у різних ґрунтово-кліматичних умовах і в процесі еволюції набули низки цінних господарських, фармакологічних, декоративних особливостей тощо. Велике народногосподарське значення має збереження генофонду рослин, як ендемів так і інтродуцентів.

Значну зацікавленість у цьому плані представляють види роду *Robinia* L. (родина *Fabaceae* Lindl.), природні ареали яких розташовані у Північній і Центральній Америці. У світовій флорі відомо близько 20 видів, 6 з яких інтродуковано в Україні [1, 2]. Найбільшого поширення набув вид *Robinia pseudoacacia* L. (робінія звичайна), природний ареал якого розташований у Північній Америці. Це високодекоративне листопадне дерево до 30 м заввишки із сірувато-бурою тріщинуватою корою. Має 5-7 пар непарноперистих листочків, прилистки видозмінені з колючками. Суцвіття у вигляді довгих китиць, білі, запашні, медоносні. Відзначається щорічним цвітінням у травні-червні. Плоди – боби, дозрівають у жовтні – листопаді. Утворює схоже насіння.

R. pseudoacacia культивується в 26 пунктах, що знаходяться у всіх кліматичних зонах України, де всюди цвіте і плодоносить. У північному напрямку ближче до границі Лісостепу і далі в Поліссі – культивується рідше, що пов'язано з екологічними умовами регіону [3].

R. pseudoacacia – інтродуцент, який має велике значення для практики агролісомеліорації, степового і захисного лісорозведення. Ціниється за швидкість росту, посухо- та солевитривалість, здатність попереджати водну та повітряну ерозію ґрунту, закріплювати піски та схили ярів. Також вона цінна деревна порода для створення полезахисних лісових смуг у найбільш посушливих південних районах Лісостепу та Степу із засоленими ґрунтами. Декоративні форми, як і сама *R. pseudoacacia* перспективні для озеленення населених пунктів, вуличних насаджень, паркових алей, ажурних груп та солітерних посадок. Колючі форми придатні для створення непрохідних живих огорож. Крім зазначених властивостей, *R. pseudoacacia* – хороший медонос, а також цінна харчова та лікарська рослина. Деревину використовують у сільському господарстві, будівництві, для художньо-декоративних, столярних, токарних виробів тощо [4-6].

Відомо, що *R. pseudoacacia* має низку цінних садових декоративних форм, які різняться будовою та формою крони, формою та забарвленням листків, наявністю колючок, забарвленням квіток та тривалістю цвітіння [1, 2, 7, 8]. Розмноження щепленням та живцюванням декоративних форм є основним способом їх поширення. Темпи поширення багатьох з них мають досить сповільнений характер. Насамперед, таке становище можна пояснити: обмеженими строками заготівлі живців для укорінення і щеплення; часто відсутністю комплексу технологічних умов для успішного укорінення та приживлення; обмеженістю вихідного матеріалу, який підлягає розмноженню. Такі

форми *R. pseudoacacia*, як *R. p. 'Pendula'*, *R. p. 'Purpurea'*, *R. p. 'Argenteo-variegata'*, *R. p. 'Aurea'*, *R. p. 'Aurea-variegata'*, *R. p. 'Tortuosa'*, *R. p. 'Frisia'* часто представлені поодинокими екземплярами у приватних колекціях. Садивний матеріал, який можна використовувати у зеленому будівництві, належить зарубіжній селекції, а від цього вартість маточних рослин надзвичайно висока. Тому виникає необхідність пошуку нових, більш ефективних методів розмноження форм робінії звичайної.

Актуальним на сьогодні є розмноження цінного садивного матеріалу *R. pseudoacacia* та її формового різноманіття методом мікроклонального розмноження рослин.

Мета роботи – дослідити метод мікроклонального розмноження *R. pseudoacacia*, досягти збільшення морфогенного потенціалу рослин. Знайти оптимальні варіанти стерилізації рослинного матеріалу, здійснити підбір живильних середовищ для успішного культивування експлантів та одержання рослин-регенерантів. З огляду на це, дослідження впливу стерилізації, умов культивування експлантів та склад живильних середовищ на морфогенний розвиток рослин *R. pseudoacacia* є актуальним і має як науковий так і практичний інтерес.

Методи та матеріал досліджень. Досліди виконано у лабораторії мікроклонального розмноження Національного дендропарку "Софіївка" НАН України. Під час експерименту використано метод мікроклонального розмноження рослин у культурі *in vitro*, який базується на індукції морфогенних процесів *in vitro*, що відбуваються під дією гормонів [9, 10, 12].

Умови культивування: температура $25^{\pm 1}^{\circ}\text{C}$, фотоперіод 16 год, освітленість 3000-5000 лк, відносна вологість повітря 70 %. Посуд, матеріали, інструменти та живильні середовища готували згідно зі загальноприйнятими методиками [10-12]. Матеріалом для досліджень слугували живці, взяті з 3-5 річних рослин *R. pseudoacacia*, які ростуть на розсаднику дендропарку "Софіївка" та дослідної ділянки аграрного університету. У роботі значну увагу було приділено підбору реагентів для стерилізації рослинного матеріалу, оптимальних живильних середовищ для успішного культивування експлантів та отримання рослин-регенерантів.

Результати та обговорення. Однією з передумов успішного впровадження рослин у виробництво є розроблення методів масового розмноження і вирощування садивного матеріалу. Для використання у лісівництві, декоративному садівництві, зеленому будівництві цілком придатний садивний матеріал насінневого походження. Проте збереження генетичної однорідності декоративних садових форм потребує вегетативного розмноження. Застосовуючи класичні методи розмноження (живцюванням, щепленням), ми одержуємо відносно обмежену кількість рослин. Виникає потреба у використанні нових, більш перспективних методів розмноження. Одним із таких методів є розмноження рослин у культурі *in vitro*, який розроблено на основі біотехнології з метою отримання масового садивного матеріалу, коли за мінімальної кількості маточних рослин у короткі строки можна отримати велику кількість морфологічно вирівняного та генетичного однорідного садивного матеріалу.

Попереднім, обов'язковим етапом, для введення у культуру рослинного матеріалу є його стерилізація, яка дає змогу отримати стерильний матеріал, вивільнений від патогенів. Як вихідний матеріал було використано мікропагони з верхівковою меристемою та випробувано кілька схем стерилізації. Найвищу частку стерильних експлантів було отримано під час використання такої схеми стерилізації: проточна вода → мильний розчин → 70 % етанол (30 с) → HgCl_2 (6 хв.). Після видалення залишків стерилізатора, експланти висаджували на безгормонне живильне середовище Мурасіге і Скуга (МС) [14]. Упродовж 5-7 діб у кожному з варіантів визначали ефективність стерилізації, тобто частку стерильних та інфікованих об'єктів, а протягом 27-30 діб – життєздатність введених експлантів, яка становила 72 %. Відомо, що одним з найважливіших факторів мікроклонального розмноження є склад живильних середовищ на кожному з етапів культивування [13]. Тому одержані стерильні, життєздатні експланти висаджували на живильні середовища Мурасіге і Скуга (МС) з різним вмістом регуляторів росту, кожний з яких по-різному реагував на склад середовища (табл. 1).

Табл. 1. Гормональний склад живильних середовищ

Середовище	Цитокініни, мг/л	Ауксини мг/л
	6-БАП	α -НОК
МС-1	0,1	0,1
МС-4	0,5	–
МС-5	0,5	–
МС-6	0,5	0,1
МС-7	1,0	–
МС-8	1,0	–
МС-9	1,0	0,1

У практиці мікроклонального розмноження відомо два види морфогенезу: прямий – утворення рослин-регенерантів із експлантів шляхом активації меристем; непрямий – утворення рослин-регенерантів із первинного чи субкультивованого калюсу.

Відомо, що впродовж всього життя рослина зберігає частини меристемних тканин, які мають властивість давати початок організованим структурам – брунькам, кореням, ембріодам, рослинам, тощо. У наших дослідках було випробувано різні з'єднання фітогормонів, які відіграють основну роль у регуляції росту. Унаслідок вдалого підбору кількісного їх співвідношення, впродовж 32-48 діб у деяких варіантах спостерігали формування пагонових бруньок. Це слугувало початком прямого морфогенезу, за якого шляхом активації меристемних тканин починали формування додаткові пагони. Кількість новоутворених пагонів становила 2-5 шт. Найбільш ефективним був варіант, у якому до середовища додавали 0,5 мг/л 6-бензиламінопурину (БАП) та 0,1 мг/л α -нафтилоцтової кислоти (НОК).

Через 35-45 діб, коли новоутворені пагони *R. pseudoacacia* досягли довжини 10,0-12,0 см та мали добре сформоване центральне стебло, їх розділяли на окремі експланти. Після здійснення візуальної оцінки краще розвинені пагони пасажували на свіже живильне середовище для досягнення ризогенезу. Для цього було підібрано різні концентрації індолилоцтової кислоти (ІОК), яку додавали до середовища (табл. 2).

Табл. 2. Ефективність ризогенезу мікроклонів від *Robinia pseudoacacia* залежно від концентрації ІОК

ІОК, мг/л	Характеристика ризогенезу		
	кількість укорінених мікроклонів		середня кількість коренів у рослини-регенеранта, шт.
	шт.	%	
0	—	—	—
0,1	5	7,9	1,6 ^{±0,1}
0,5	38	73,2	4,4 ^{±0,1}
1,0	26	49,5	2,7 ^{±0,2}
1,5	15	27,7	1,7 ^{±0,1}

Позитивні результати було одержано у варіантах з додаванням ІОК 0,5 та 1,0 мг/л, де укорінення експлантів, відповідно, становило 73,2 та 49,5 %. Менш розвинені мікропагони висаджували на середовище МС з додаванням фітогормонів, для подальшого мікророзмноження з метою збільшення коефіцієнта розмноження та збільшення кількості садивного матеріалу. Тривалість пасажу в середньому сягала 5-6 тижнів і залежала від умов культивування, темпу розмноження, характеру розвитку експланта і можливостей експериментатора.

Як наслідок, через 70-80 днів після введення рослинного матеріалу у культуру *in vitro*, було одержано рослини-регенеранти, які були готові до перенесення в умови *in vivo*. Одержані рослини є матеріалом для подальшого клонування і тим самим збільшення коефіцієнта розмноження.

Література

1. **Деревья и кустарники СССР: определитель** в 6 т. / [сост. Соколов С.Я., Шепчинский Н.В.; ред. Соколов С.Я.]. – М.-Л.: АН СССР, 1958. – Т.4. – 974 с.
2. **Дендрофлора України.** Дикорослі й культивовані дерева і кущі. Покритонасінні: довідник в 2 т. / [опис. Галкін С.І.; ред. Кохно М.А.]. – К.: Фітосоціоцентр, Ч. II. – 2005. – 715 с.
3. **Генсерук С.Ф., Гайдарова Л.И., Бабич Ф.Г.** Овраги и пески: лесоразведение, экология, экономика. – К.: Наук. думка, 1986. – 143 с.
4. **Гордієнко М.І., Гордієнко Н.М.** Лісівничі властивості деревних рослин. – К.: Либідь, 2005. – 816 с.
5. **Каталог деревьев и кустарников** ботанических садов Украинской ССР/ Н.А. Кохно и др. – К.: Наук. думка, 1987. – 72 с.
6. **Деревья и кустарники** декоративных городских насаждений Полесья и Лесостепи УССР/ Под ред. Н.А. Кохно. – К.: Наук. думка, 1980. – С. 144-146.
7. **Rehder A.** Manual of cultivated trees and shrubs hardy in North America. – New York: Macmillan, 1949. – P. 508-511.
8. **Dirr M.** Manual of Woody Landscape Plants. Their identification, ornamental characteristics, culture, propagation and uses. – Champaign, Illinois, 1998. – 1187 s.
9. **Биотехнология растений:** культура клеток [пер. с англ. В.И. Негрука]. – М.: Агропромиздат, 1989. – 280 с.
10. **Калинин Ф.Л.** Методы культуры тканей в физиологии и биохимии растений / Калинин Ф.Л., Сарнацкая В.В., Полищук В.Е. – К.: Наук. думка, 1980. – 487 с.
11. **Черевченко Т.М.** Орхидеи в культуре. / Т. Черевченко, Г. Кушнір. – К.: Наук. думка, 1986. – 200 с.
12. **Кунах В.А.** Біотехнологія лікарських рослин. Генетичні та фізіолого-біохімічні основи. / Віктор Кунах. – К.: Логос, 2005. – 730 с.
13. **Використання біотехнологічних методів** розмноження декоративних інтродуцентів / А.М. Лаврентьєва // Вісник Львівського університету ім. Івана Франка: Серія біологічна. – Львів: Львівський НУ. – 2004, вип. 36. – С. 137-145.
14. **Murashige T., Skoog F.** A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures// Phusiol. Plant.. – 1962. – Vol. 15. – N 13. – P. 473-497.