

## ОСОБЛИВОСТІ РОЗМНОЖЕННЯ В КУЛЬТУРІ *IN VITRO* *GASTERIA VERRUCOSA* (MILL.) DUV.

Л.Г. МАРГІТАЙ, кандидат біологічних наук  
Ужгородський національний університет

### Вступ

Гастерія бородавчата (*Gasteria verrucosa*) – рослина, яка належить до багаторічних листових сукулентів з родини Asphodelaceae. Батьківщиною її є Капська провінція (ПАР). В Україні зустрічається як кімнатна рослина, а також в оранжереях ботанічних садів. Є відомості про успішне застосування гастерії в народній медицині. Це плеіомонохазіальні, ортотропні рослини, стебла яких галузяться в основі, з прикореневою розеткою листків [2]. За даними М.М. Гайдаржи [1], за швидкістю росту гастерії можна охарактеризувати як рослини, які мають уповільнений або надзвичайно уповільнений ріст. Протягом року в період активного росту починають свій розвиток 3-4 листки, але досягають максимальної довжини тільки 1-2 листки, а інші продовжують свій ріст на наступний рік. У більшості видів гастерій листки з'являються по одному і досягають максимальної довжини за 200-240 діб. Традиційно рослини розмножують цілими листками. Розроблено також спосіб розмноження відрізками листків [1, 2]. Кожен живець дає 2-6 молодих рослин. Внаслідок того, що гастерії дуже повільно ростуть, весь процес від появи коріння до висаджування рослини проходить за два сезони активного росту.

На даний час багатьма дослідниками розробляються способи клонального мікророзмноження декоративних рослин [5, 7, 8, 14]. Перевагами клонального мікророзмноження рослин порівняно із традиційними методами вегетативного розмноження є: значно вищі коефіцієнти розмноження, що за розрахунками досягають  $10^5$ - $10^6$  клонів на рік, тоді як традиційно за цей самий термін від однієї рослини одержують 5-100; мініатюризація процесу, що економить площі, зайняті маточними і розмножуваними рослинами [6, 10, 12].

Тому метою наших досліджень було вивчити особливості росту *G. verrucosa* в умовах *in vitro*, а також зробити спробу її розмноження.

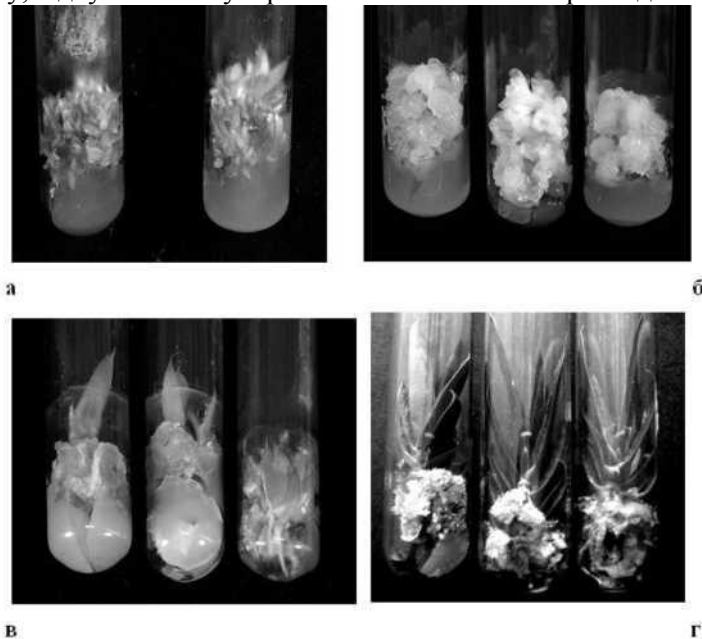
### Об'єкти та методи дослідження

Донорні рослини вирощували в умовах закритого ґрунту. Як експланти були використані однорічні дочірні пагони висотою  $22,4 \pm 3,2$  мм, з товщиною стебла  $2,5 \pm 0,6$  мм і довжиною листків  $11,2 \pm 2,3$  мм. Підготовка та стерилізація їх проводилася за такою схемою: 1) підсушування відокремлених від материнської рослини пагонів протягом трьох днів у затіненому місці при кімнатній температурі для утворення захисної плівки у місці відокремлення від материнської рослини і запобігання загніванню живців; 2) миття м'яким пензликом, змоченим у 5 %-ному розчині господарського мила; 3) промивання під сильним струменем водопровідної проточної води; 4) промивання дистильованою водою; 5) занурення на 3 секунди у 90% етиловий спирт для попередньої стерилізації; 6) промивання стерильною дистильованою водою; 7) стерилізація в 10%-ному розчині хлораміну впродовж 10 хвилин; 8) триразове промивання стерильною дистильованою водою. Операції 5-8 проводилися в ламінар-боксі. Підготовлені пагони переносили на середовище Мурасіге і Скуга (МС) [15]. При проведенні експериментальної роботи застосовували загальноприйняті в культурі ізольованих тканин рослин методи [3, 4, 9, 11, 13]. На кожному з етапів клонального мікророзмноження модифікували гормональний склад живильних середовищ відповідно до необхідного шляху морфогенезу, доповнюючи їх кінетином, бензиламінопурином (БАП), індолілоцтовою кислотою (Ю<sub>Ц</sub>К). Рослини вирощували при освітленні 4000 лк 16 годин на добу із застосуванням люмінесцентних ламп, температурі 25-26°C і відносній вологості повітря 80%. Математичну обробку результатів досліджень проводили з використанням методів математичної статистики на персональному комп'ютері за допомогою програми Excel 7.0 з пакету прикладних програм Microsoft Office для Microsoft Windows.

### Результати та обговорення

Дослідження показали, що ступінчаста стерилізація рослинного матеріалу гастерії забезпечувала вихід стерильних експлантів  $94,3 \pm 2,3\%$ , а приживлюваність складала  $89,2 \pm 3,4\%$ . Оптимальним для ініціації розвитку ростових процесів у експлантів було живильне середовище МС, доповнене кінетином (0,1 мг/л) і ІО<sub>ц</sub>К (0,2 мг/л).

Через 3 тижні експланти пересаджувалися для розмноження на середовище із підвищеним вмістом БАП (2 мг/л). Через 3-4 тижні росту спостерігалось утворення  $17 \pm 8$  бокових придаткових пагонів (рис. 1 а). Ці адвентивні пагони відокремлювали один від одного і пересаджували на нове поживне середовище. При пересаджуванні на середовище з БАП знову відбувалось утворення бокових бруньок, а при пересаджуванні на середовище з підвищеним вмістом ІО<sub>ц</sub>К (2 мг/л) стимулювався інтенсивний розвиток тільки одного пагона, тобто спостерігалось спричинене дією ІО<sub>ц</sub>К явище апікального домінування (рис. 1 в, г). Частота укорінення становила 100%. Довжина і товщина пагонів на середовищі з ауксином на 30 добу росту у 8-10 разів перевищувала довжину і товщину пагонів на середовищі з БАП. Дія ІО<sub>ц</sub>К також проявлялася в утворенні коренів. У середовищі, що містило 1 мг/л БАП та 1 мг/л ІО<sub>ц</sub>К утворювався морфогенний калюс. Протягом 4 тижнів калюс збільшувався в розмірах, а потім на ньому утворювалися зони меристематичних тканин світло-зеленого кольору (рис. 1 б). За два-три тижні вони перетворювалися на  $21 \pm 9$  добре сформованих зелених пагонів. Якщо ці пагони відокремлювали один від одного і переносили на середовище з ІО<sub>ц</sub>К (2 мг/л), то, як і в попередньому випадку, відбувалось їх укорінення та інтенсивний ріст одного пагона.



**Рис. 1. Вплив різних концентрацій і співвідношень фітогормонів на ріст і морфогенез культури *G. verrucosa*: а) БАП (2 мг/л) - стимулює ріст бічних пагонів; б) БАП (1 мг/л) + ІО<sub>ц</sub>К (1 мг/л) - стимулюють ріст морфогенного калюсу; в і г) - утворення коренів і видовження пагонів під дією ІО<sub>ц</sub>К (2 мг/л) через 20 і 40 діб культивування, відповідно.**

Для адаптації мікророслин до умов *in vivo* відбирали мікророслини з добре розвиненою кореневою системою (3-5 корінців, довжиною 1,5-2,4 см) і висаджували у касети з розміром чашечок 4x4 см. Використовували стерильний субстрат, який складався із суміші торфу, перліту і піску у співвідношенні 2:1:2. Необхідно зазначити, що при адаптації рослин *G. verrucosa* до умов *in vivo* треба уникати перезволоження субстрату. Касети розмішували під плівковим покриттям у теплиці. Через 10 діб у плівці робили отвори діаметром 1-2 см. Через 20 діб плівку знімали. Приживлюваність при цьому становила  $94,1 \pm 3,5\%$ . Далі рослини культивували в звичайних умовах.

### Висновки

Отже, ми виявили, що клональне мікророзмноження *G. verrucosa* можна здійснювати

двома методами: утворенням бічних придаткових пагонів і регенерацією рослин із калюсу. На нашу думку, більш доцільним є розмноження рослин гастерії шляхом стимуляції росту бічних пагонів за допомогою підвищеної концентрації БАП у середовищі, тому що при цьому способі розмноження відбувається швидше і меншою є ймовірність самоклональної мінливості [10].

У результаті наших досліджень показано, що методом вирощування в культурі *in vitro* можна одержувати за короткий термін велику кількість садивного матеріалу *G. verrucosa*. Метод клонального мікророзмноження можна з успіхом використовувати для створення промислової культури з метою застосування вирощених рослин в озелененні.

#### Список літератури

1. Гайдаржи М.М. Алое, гастерія, гавортія: інтродукція, біологія, екологія. – К.: Видавничо-поліграфічний центр «Київський університет», 2003. – 174 с.
2. Гайдаржи М.М. Життєві форми і онтоморфогенез сукулентних рослин: Автореф. дис. ... докт. біол. наук: 03.00.05 – ботаніка / Київський національний університет ім. Тараса Шевченка, Ботанічний сад ім. акад. О.В. Фоміна. – К., 2009. – 41 с.
3. Калинин Ф.Л., Кушнір Г.П., Сарнацкая В.В. Технология микроклонального размножения растений. – К.: Наук. думка, 1992. – 232 с.
4. Катаева Н.В., Бутенко Р.В. Клональное микроразмножение растений. – М.: Наука, 1983. – 96 с.
5. Колдар Л.А., Небиков М.В. Мікроклональне розмноження рослин *Cercis siliquastrum* L. // Інтродукція рослин. – 2007. – № 4. – С. 88-92.
6. Кушнір Г.П., Сарнацька В.В. Мікроклональне розмноження рослин. Теорія і практика. – К.: Наук. думка, 2005. – 271 с.
7. Лаврентьева А. Використання біотехнологічних методів розмноження декоративних інтродуцентів // Вісник Львівського університету. Серія біологічна. – 2004. – Вип. 36. – С. 137-145.
8. Латушкіна Т.М., Дробітько А.В. Перспективи використання та особливості розмноження в культурі *in vitro* *Lavandula angustifolia* Mill. // Вісник аграрної науки Причорномор'я. – 2007. – Вип. 2. – С. 223-227.
9. Лутова Л.А. Биотехнология высших растений. – СПб.: Изд. Санкт-Петербургск. ун-та, 2003. – 227 с.
10. Мельничук М.Д., Новак Т.В., Кунах В.А. Біотехнологія рослин: Підручник. – К.: ПоліграфКонсалтинг, 2003. – 520 с.
11. Мельничук М.Д., Новак Т.В., Левенко Б.О. Основи біотехнології рослин. – К.: Ей-Бі-Сі, 2000. – 248 с.
12. Рудишин С.Д. Основи біотехнології рослин. – Вінниця: Запал, 1998. – 224 с.
13. Сидоров В.А. Биотехнология растений. Клеточная селекция. – К.: Наук. думка, 1990. – 280 с.
14. Черевченко Т.М., Лаврентьева А.Н., Иванников Р.В. Биотехнология тропических и субтропических растений *in vitro*. – К.: Наук. думка, 2008. – 560 с.
15. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // *Physiol. Plant.* – 1962. – V. 15, № 3. – P. 473-497.

Рекомендовано к печати д.б.н. Митрофановой И.В.