

3. Гриник О.М. Особливості вікової структури ценопопуляцій *Allium ursinum* L. та їхні потенційні біологічні запаси у різних типах лісорослинних умов Передкарпаття / О.М. Гриник, І.Я. Тимочко, Ю.А. Мельник, Т.Б. Скробач // Стан природних ресурсів, перспективи їх збереження та відновлення : матер. III Міжнар. наук.-практ. конф., 12-14 жовтня 2016 р., м. Дрогобич, Україна. – Дрогобич: РВВ Дрогобицького ДПУ ім. Івана Франка, 2016. – С. 21-23.

4. Зайцев Г.Н. Математическая статистика в экспериментальной ботанике / Г.Н. Зайцев. – М.: Изд-во "Наука", 1984. – 424 с.

5. Заугольнова Л.Б. Типы функционирования популяций редких видов растений / Л.Б. Заугольнова, С.В. Никитина, Л.В. Денисова // Бюллетень МОИП. Отд. Биол. – 1992. – Т. 97. – Вып. 3. – С. 80-91.

6. Заугольнова Л.Б. Подходы к оценке состояния ценопопуляций растений / Л.Б. Заугольнова, Л.В. Денисова, С.В. Никитина // Бюллетень МОИП. Отд. Биол. – 1993. – Т. 98. – Вып. 5. – С. 100-108.

7. Злобин Ю.А. Принципы и методы изучения ценопопуляций растений / Ю.А. Злобин. – Казань: Изд-во КГУ, 1989. – 147 с.

8. Злобин Ю.А. Теория и практика оценки виталитетного состава ценопопуляций растений / Ю.А. Злобин // Ботанический журнал : зб. наук. праць. – 1989. – Т. 74, № 6. – С. 769-781.

9. Крічфалушій В.В. Популяційна біологія рослин / В.В. Крічфалушій, Г.М. Мезев-Крічфалушій. – Ужгород: Вид-во Ужгород. ун-т, 1994. – 80 с.

10. Кучерява Л.Ф. Особливості онтогенезу та стан ценопопуляцій *Allium ursinum* L. у заказнику "Лісники" / Л.Ф. Кучерява, О.В. Ткаченко // Вивчення онтогенезу рослин природних та культурних флор у ботанічних закладах Європи. – К.-Львів, 1994. – С. 118-20.

11. Мельник Ю.А. Вікова структура ценопопуляцій *Allium ursinum* L. басейну ріки Свічі (Горгани) / Ю.А. Мельник, І.Я. Тимочко, О.М. Гриник // Науковий вісник НЛТУ України : зб. наук.-техн. праць. – Сер.: Актуальні проблеми лісового та садово-паркового господарства. – Львів: РВВ НЛТУ України. – 2013. – Вип. 23.6. – С. 300-303.

12. Нормативно-довідкові матеріали з недревної продукції лісу / за ред. В.П. Рябчука. – Львів: Вид-во ВМС, 2000. – 130 с.

13. Работнов Т.А. Вопросы изучения состава популяций для целей фитоценологии / Т.А. Работнов // Проблемы ботаники. – 1950. – Т. 1. – С. 465-483.

14. Работнов Т.А. Жизненный цикл многолетних травянистых растений у луговых ценозах / Т.А. Работнов // Труды Ботанического института АН СССР. – Сер. 3. Геоботаника. – 1950. – Вып. 6. – С. 7-204.

15. Рябчук В.П. Рациональное використання недревних ресурсів як засіб підвищення продуктивності лісу / В.П. Рябчук, В.Я. Заячук // Науковий вісник НЛТУ України : зб. наук.-техн. праць. – Львів: РВВ НЛТУ України. – 2004. – Вип. 14.5. – С. 254-260.

16. Рябчук В.П. Современный растительный покров Внешних Горган Украинских Карпат / В.П. Рябчук, Ю.А. Мельник, И.Я. Тимочко // Устойчивое управление лесами и рациональное лесопользование : матер. Междунар. науч.-практ. конф., Минск, 18-21 мая 2010 г. – У 2-ох кн. – Мн.: Изд-во БГТУ. – 2010. – Кн. 2. – С. 580-584.

17. Соломаха В.А. Синтаксономія рослинності України / В.А. Соломаха // Український фітоцен. зб. – К., 1996. – Сер.: А. – Вип. 4 (5). – 119 с.

18. Уранов А.А. Онтогенез и возрастной состав популяций // Онтогенез и возрастной состав популяций цветковых растений / А.А. Уранов. – М.: Изд-во "Наука", 1967. – С. 3-8.

19. Смирнова О.В. Ценопопуляции растений (основные понятия и структура) / О.В. Смирнова, Л.Б. Заугольнова, И.М. Ермакова и др. – М.: Изд-во "Наука", 1976. – 217 с.

Надійшла до редакції 23.10.2016 р.

Тимочко І.Я., Гриник Е.Н., Мельник Ю.А., Скробач Т.Б. Возрастная структура ценопопуляций *Allium ursinum* L. и их потенциальные биологические запасы в различных типах леса в условиях Предкарпатья

Исследованы особенности возрастной структуры ценопопуляций *Allium ursinum* L. в различных типах леса с учетом относительной полноты древостоя. По полученным значениям плотности растений на единицу площади и рассчитанными индексами восстановления установлены типы ценопопуляций. По результатам исследований морфометрических показателей определена средняя масса надземной части одного растения в свежесобранном состоянии в зависимости от типа лесорастительных условий и относитель-

ной полноты древостоев. Разработаны таблицы биологического запаса в условиях влажных сугруда и гряда (C₃ и D₃) и относительных полнот древостоев из расчета на 1 га.

Ключевые слова: лук медвежий, лесоводственно-экологические особенности, тип леса, биологический запас.

Tymochko I.Ya., Hrynyk O.M., Melnyk Yu.A., Skrobach T.B. The Age Structure of Cenotic Populations of *Allium Ursinum* L. and Their Potential Biological Reserves in Different Forest Types in Terms of the Precarpathians

The features of the age structure of populations of *Allium ursinum* L. in different forest types on the basis of relative normality are studied. According to the values of density of plants per area unit and the recovery due to the calculated indices the types of populations are estimated. According to the research of morpho-metric indicators we defined average weight of above-ground parts of a plant in the state of freshly depending on site conditions and relative normality. We have developed a table for biological reserve in conditions of moist hardwood forest and moist mixed hardwood forest (C₃ and D₃) and relative stocking at the rate of 1 ha.

Keywords: *Allium ursinum* L., forestry and environmental characteristics, type of forest biological reserve.

УДК 57.085.2:582.623.2

БІОТЕХНОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ МІКРОКЛОНАЛЬНОГО РОЗМНОЖЕННЯ РОСЛИН РОДУ *SALIX* L.

О.Ю. Чорнобров¹

Установлено умови отримання асептичних життєздатних експлантатів трьох видів і одного культивара рослин роду *Salix* L., ізольованих із рослин-донорів у різні фенофази. Підібрано оптимальний склад живильних середовищ для мікроклонального розмноження, укорінення та отримання рослин-регенерантів. Розроблено біотехнологію мікроклонального розмноження рослин, яка охоплює добір компонентів живильних середовищ для різних генотипів, етапів і типів експлантатів. Отримано значну кількість оздоровлених рослин-регенерантів *in vitro* за використання активації росту наявних меристем експлантатів, прямого й непрямого морфогенезу для різного цільового використання.

Ключові слова: *Salix* L., культура *in vitro*, експлантати, мікроклональне розмноження, каліос, живильне середовище, рослини-регенеранти.

Рослини роду Верба (*Salix* L.) у більшості регіонів України мають вагоме значення для господарства: плантаційного вирощування, озеленення населених пунктів, агролісомеліорації та фіторе mediaції ґрунтів. Вони є джерелом деревини та лікарської сировини, чудові медоноси і кормові рослини, матеріал для селекційних і гібридизаційних робіт тощо. З-поміж значної кількості представників роду на особливу увагу заслуговують верба біла (*Salix alba* L.), верба ламка (*Salix fragilis* L.), верба вавилонська (*Salix babilonica* L.) і верба матсудана 'Тортуоза' (*Salix matsudana* 'Tortuosa') [5, 6]. Традиційно верби розмножують генеративним і вегетативним способами. Недоліком насінневого розмноження є неможливість закріпити і зберегти цінні особливості окремих дерев та швидка втрата життєздатності насіння [2]. Верби розмножуються також зеленими (літніми) та здерев'янілими (зимовими) стебловими живцями, відсадками, поділом кущів,

¹ зав. наук.-дослідн. лаб. біотехнології рослин О.Ю. Чорнобров, канд. с.-г. наук – ВП НУБіП України "Боярська лісова дослідна станція"

щепленням, колами тощо [2, 5, 6]. Як сучасна альтернатива традиційним методам є розмноження рослин в умовах *in vitro*, що дає змогу отримати потрібну кількість генетично однорідного оздоровленого садивного матеріалу упродовж року незалежно від вегетаційного періоду [1, 3, 4]. Хоча технологію мікроклонального розмноження для багатьох рослин роду *Salix* розроблено досить добре [7, 8, 10], однак результатів дослідження, які дали б змогу сформувати увесь процес розмноження *S. alba*, *S. fragilis*, *S. babylonica*, *S. matsudana* 'Tortuosa', недостатньо або вони взагалі відсутні. Тому потрібно індивідуально для кожного генотипу здійснити добір умов стерилізації рослинного матеріалу, типів експлантатів, компонентів живильного середовища для різних типів мікроклонального розмноження та удосконалити окремі етапи біотехнологічного процесу.

Мета дослідження – розробити біотехнологію мікроклонального розмноження рослин *S. alba*, *S. fragilis*, *S. babylonica*, *S. matsudana* 'Tortuosa' та отримати оздоровлені рослини-регенеранти з наступним цільовим використанням.

Матеріали та методика дослідження. Для дослідження використано частини однорічних пагонів завдовжки 10-15 см, які ізолювали з 2-10-річних рослин-донорів *S. alba*, *S. fragilis*, *S. babylonica* й *S. matsudana* 'Tortuosa'. Як експлантати I використовували мікропагони завдовжки 10-15 мм, отримані шляхом штучної активації меристем у лабораторних умовах у лютому; експлантати II – ізолювані у квітні-червні із природних умов. Стерилізацію рослинного матеріалу проводили такими розчинами: 70 % етиловим спиртом (1 хв 2,5 % NaClO (10-20 хв), 1 % AgNO₃ (10-20 хв), 0,1 % HgCl₂ (5-10 хв)). Асептичні умови створювали за методами, загальноприйнятими в біотехнології [1, 3, 4].

Уведення експлантатів рослин у культуру *in vitro* проводили на безгормональне живильне середовище за прописом Мурасіге і Скуга (МС) [9]. Активовані з бічних меристем мікропагони завдовжки 1,0-1,5 см відділяли від експлантатів і субкультивували на живильні середовища, модифіковані регуляторами росту: ІОК (β-індоліл-3-оцтова кислота), НОК (α-нафтилоцтова кислота), 2,4-Д (2,4-дихлорфеноксоцтова кислота), БАП (6-бензиламінопурин), кінетин. До них також вносили 100 мг·л⁻¹ мезоінозитулу, 30 г·л⁻¹ сахарози, 2 г·л⁻¹ активованого вугілля та 6,7-7,0 г·л⁻¹ агару мікробіологічного. Показник кислотності середовища (рН) доводили до рівня 5,7-5,9. Мікропагони й рослини-регенеранти культивували у світловому приміщенні за температури 25^{±1} °C і освітлення 2,0-3,0 клк із 16-годинним фотоперіодом та відносної вологості повітря 70-75 %. У кінці кожного циклу культивування рослинного матеріалу визначали морфометричні показники: довжину мікропагона і кореневої системи, коефіцієнт розмноження.

Калюсну тканину отримали зі стерильних листкових пластинок (0,40-0,50 см²) і частин мікропагонів (0,5-0,8 см). На експлантатах скальпелем штучно робили насічки. Рослинний матеріал культивували у чашках Петрі по 10 шт. на поверхні живильного середовища у термостаті ТС-80 без освітлення за температури 25^{±1} °C та відносної вологості повітря 70-75 % упродовж 25-35 діб. Для інтенсивного закладання бруньок у морфогенних зонах калюсу першого пасажу листового та стеблового походження його культивували у світловому приміщенні (2,0-3,0 клк) упродовж 25-30 діб. У таблицях наведено середні арифметичні значення та їх стандартні похибки.

Результати дослідження. Важливою умовою отримання асептичних життєздатних культур *Salix* є правильний добір ефективних способів стерилізації рослинного матеріалу. Для цього використано широкий спектр стерилізаційних речовин з різними експозиціями оброблення експлантатів (табл. 1).

Табл. 1. Ефективність стерилізації експлантатів рослин роду *Salix in vitro*

Варіант	Режим стерилізації експлантатів	Ефективність стерилізації рослин, %	
		експлантати I	експлантати II
1	2,5 % NaClO упродовж 10 хв	70,0 ^{±10,4}	14,3 ^{±4,7}
2	2,5 % NaClO упродовж 20 хв	0	50,0 ^{±10,4}
3	1 % AgNO ₃ упродовж 10 хв	80,0 ^{±8,7}	21,7 ^{±4,4}
4	1 % AgNO ₃ упродовж 20 хв	0	35,0 ^{±8,7}
5	1 % AgNO ₃ упродовж 10 хв з наступним витриманням у 2,5 % NaClO	0	90,0 ^{±7,6}
6	0,1 % HgCl ₂ упродовж 5 хв	86,7 ^{±8,3}	11,7 ^{±4,4}
7	0,1 % HgCl ₂ упродовж 10 хв	23,3 ^{±7,3}	71,7 ^{±11,7}

Оскільки експлантати I відрізняються від експлантати II особливостями анатомічної будови пагонів, тому й режими стерилізації різні. Так, для експлантатів I недоцільно використовувати кілька стерилізаційних речовин (варіант 5), препарати, що містять дихлорид ртуті (варіант 7), срібло (варіант 4) та хлор (варіант 2) з експозиціями понад 10 хв, оскільки в цих процедурах ефективність стерилізації була надзвичайно малою.

За використання 2,5 % NaClO упродовж 10 хв (варіант 1) ефективність стерилізації експлантатів I становила близько 70 %. Загалом високий досліджуваний показник отримали за використання 1 % AgNO₃ упродовж 10 хв (варіант 3). Доволі значна частка ефективності стерилізації (понад 80 %) експлантатів I рослин *S. alba*, *S. fragilis*, *S. babylonica* й *S. matsudana* 'Tortuosa' отримали за умови використання 0,1 % розчину HgCl₂ з експозицією 5 хв (варіант 6).

Для успішної нейтралізації екзогенної мікрофлори експлантатів II (понад 90 %) доцільно використовувати ступінчастий спосіб стерилізації, який полягає у почерговому витриманні у 1 % AgNO₃ упродовж 10 хв з наступним перенесенням у 2,5 % NaClO (варіант 5) (рис. (а)).

Результати апробації безгормонального базового живильного середовища за МС на придатність для регенерації асептичних експлантатів рослин *S. alba*, *S. fragilis*, *S. babylonica*, *S. matsudana* 'Tortuosa' у травні наведено в табл. 2.

Табл. 2. Початок настання регенераційних процесів у експлантатів рослин роду *Salix in vitro*

Вид/культivar	Виявлення ознак життєздатності, доба	Регенерація бічних бруньок, доба	Коренеутворення, доба
<i>S. fragilis</i>	6-13	11-18	20-29
<i>S. alba</i>	8-10	12-20	19-35
<i>S. matsudana</i> 'Tortuosa'	10-15	16-22	–
<i>S. babylonica</i>	15-20	21-35	–

Примітка: (–) – наявність коренеутворення не фіксували

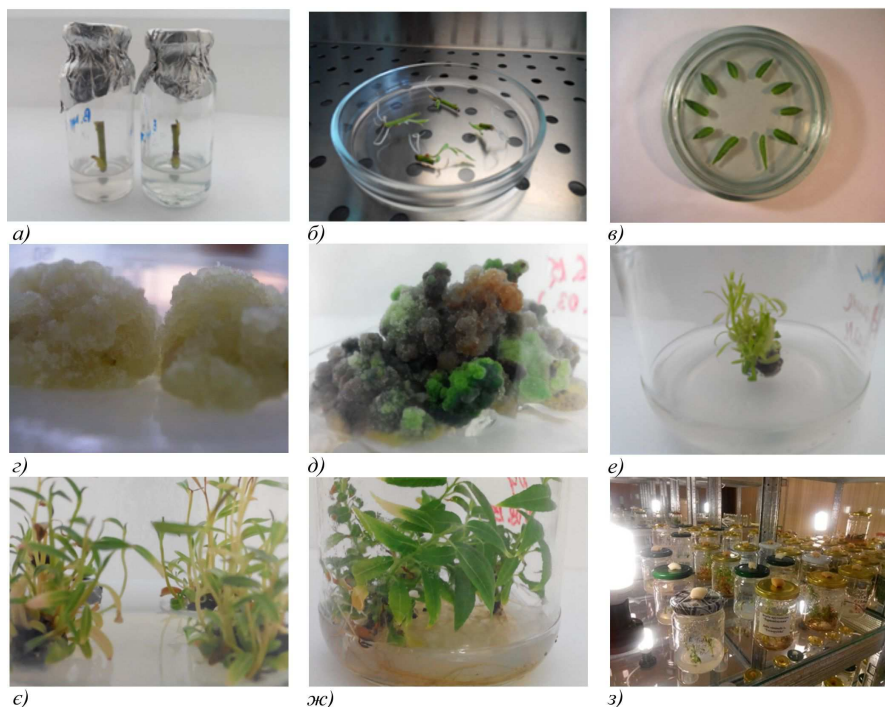


Рис. Отримання рослин-регенерантів роду *Salix* за використання методу культури ізольованих тканин *in vitro*: а) асептичні життєздатні експлантати *S. babylonica*; б) мікропагони *S. fragilis* із кореневою системою, МС, 25 доба культивування; в) листові пластинки *S. matsudana* 'Tortuosa' як експлантати; г) тушка з оводненими клітинами калюсна тканина рослин *S. babylonica*, МС з 0,5 мг·л⁻¹ 2,4-Д і 1,0 мг·л⁻¹ ІОК; д) морфогенна калюсна тканина рослин *S. babylonica*, МС з 2,0 мг·л⁻¹ БАП; е) мікропагони рослин *S. alba*, регенеровані з калюсної тканини стеблового походження, МС з 0,5 мг·л⁻¹ БАП й кінетину; ж) мікропагони рослин *S. fragilis*, отримані шляхом прямого морфогенезу, МС з 0,5 мг·л⁻¹ БАП й кінетину, 30 діб у культурі *in vitro*; з) рослини-регенеранти *S. fragilis* на МС б/г; з) рослини *in vitro* у світловому приміщенні за контрольованих умов

Інтенсивність регенерації експлантатів рослин залежала від генотипових особливостей і проявлялася загалом на 11-35-ту добу культивування (найшвидше активація відбувалася у *S. fragilis* на 11-18-ту добу, а найповільніше – у *S. babylonica* на 21-35 добу). Окрім цього, в експлантатів рослин *S. fragilis* й *S. alba* фіксували утворення кореневої системи на 20-29-ту добу й 19-35-ту добу культивування, відповідно (рис. (б)). Дослідженні рослини *Salix* можуть бути розміщені в порядку зниження інтенсивності регенерації *in vitro*: *S. fragilis* > *S. alba* > *S. matsudana* 'Tortuosa' > *S. babylonica*. Експлантати перших двох видів, ймовірно, володіють широкою нормою реакції генотипу, і тому інтенсивність регенерації достатньо висока навіть на безгормональному живильному середовищі МС. І навпаки, для інтенсифікації регенераційних процесів рослин *S. matsudana*

'Tortuosa' й *S. babylonica* потрібно застосовувати регулятори росту, оскільки на безгормональному середовищі МС не фіксували ризогенезу.

У наших дослідженнях як індуктори дедиференціації, диференціації та морфогенезу в культурі ізольованих тканин рослин роду *Salix in vitro* використовували БАП, кінетин, 2,4-Д, НОК й ІОК та визначали їх вплив на регенерацію мікропагонів, тип мікроклонального розмноження, коефіцієнт розмноження, тривалість циклу культивування й отримання рослин-регенерантів (табл. 3).

Табл. 3. Мікроклональне розмноження рослин роду *Salix*

Варіант	Живильне середовище	Морфометричний показник мікропагонів <i>in vitro</i>			Тривалість циклу культивування, діб	Тип мікроклонального розмноження	Призначення живильного середовища
		довжина мікропагона, см,	довжина кореневої системи, см	коефіцієнт розмноження			
1	2	3	4	5	6	7	8
<i>S. alba</i>							
1	МС б/г ¹⁰	2,1 ^{±0,2}	0,7 ^{±0,2}	0	21–25	–	уведення у культуру <i>in vitro</i>
2	МС з 0,25 мг·л ⁻¹ кінетину	4,1 ^{±0,5}	3,5 ^{±0,6}	10 ^{±1}	40–45	а. р. м. е. ²	мкр. ⁷ , отрим. р.-р. ⁸
3	МС з 0,5 мг·л ⁻¹ БАП й кінетину	0,4 ^{±0,1}	0	4 ^{±1}	40–45	п.м. ³	мкр. ⁷
4	МС з 3,0 мг·л ⁻¹ 2,4-Д й 0,5 мг·л ⁻¹ БАП	–	–	–	25–35	–	к.к.л.п. ⁴
5	МС з 2,0 мг·л ⁻¹ 2,4-Д й 0,2 мг·л ⁻¹ БАП	–	–	–	25–35	–	к.к.с.п. ⁵
6	МС з 0,5 мг·л ⁻¹ БАП й кінетину	0,8 ^{±0,2}	0	6 ^{±1}	25–30	н.м. ⁶	мкр. ⁷ , отрим. м.п. ⁹ із к.к.с.п. ⁵
7	МС з 0,5 мг·л ⁻¹ БАП й кінетину	0,6 ^{±0,1}	0	3 ^{±1}	25–30	н.м. ⁶	мкр. ⁷ , отрим. м.п. ⁹ із к.к.л.п. ⁴
<i>S. fragilis</i>							
1	МС б/г ¹⁰	4,6 ^{±0,5}	4,7 ^{±0,6}	8 ^{±1}	40–45	а. р. м. е. ²	уведення у культуру <i>in vitro</i> , мкр. ⁷ , отрим. р.-р. ⁸
2	МС з 0,5 мг·л ⁻¹ БАП й кінетину	1,3 ^{±0,3}	0	6 ^{±1}	30–35	п.м. ³	мкр. ⁷
3	МС з 2,0 мг·л ⁻¹ 2,4-Д	–	–	–	25–35	–	к.к.л.п. ⁴ , к.к.с.п. ⁵
4	МС з 0,2 мг·л ⁻¹ БАП	0,7 ^{±0,1}	0	6 ^{±1}	25–30	н.м. ⁶	мкр. ⁷ , отрим. м.п. ⁹ із к.к.с.п. ⁵
5	МС з 0,2 мг·л ⁻¹ БАП	0,5 ^{±0,1}	0	4 ^{±1}	25–30	н.м. ⁶	мкр. ⁷ , отрим. м.п. ⁹ із к.к.л.п. ⁴
<i>S. babylonica</i>							
1	МС б/г ¹⁰	1,4 ^{±0,2}	0	0	36–41	–	уведення у культуру <i>in vitro</i>
2	МС з 0,25 мг·л ⁻¹ кінетину й 2 г·л ⁻¹ а.в. ¹	3,7 ^{±0,3}	2,4 ^{±0,5}	5 ^{±1}	40–45	а. р. м. е. ²	мкр. ⁷ , отрим. р.-р. ⁸

3	МС з 0,1 мг·л ⁻¹ БАП й 1,0 мг·л ⁻¹ ІОК	1,6 ^{±0,5}	0,4 ^{±0,1}	5 ^{±1}	40–45	п.м. ³	мкр. ⁷
4	МС з 0,5 мг·л ⁻¹ 2,4-Д й 1,0 мг·л ⁻¹ ІОК	–	–	–	25–35	–	к.к.л.п. ⁴ , к.к.с.п. ⁵
5	МС з 2,0 мг·л ⁻¹ БАП	0,8 ^{±0,1}	0	5 ^{±1}	25–30	н.м. ⁶	мкр. ⁷ , отрим. м.п. ⁹ із к.к.с.п. ⁵
6	МС з 2,0 мг·л ⁻¹ БАП	0,7 ^{±0,1}	0	2 ^{±1}	25–30	н.м. ⁶	мкр. ⁷ , отрим. м.п. ⁹ із к.к.л.п. ⁴
<i>S. matsudana</i> 'Tortuosa'							
1	МС б/г ¹⁰	2,0 ^{±0,2}	0	0	23–30	–	уведення у культуру <i>in vitro</i>
2	МС з 0,25 мг·л ⁻¹ кінетину й 2 г·л ⁻¹ а.в. ¹	3,3 ^{±0,6}	2,1 ^{±0,3}	4 ^{±1}	40–45	а. р. м. е. ²	мкр. ⁷ , отрим. р.-р. ⁸
3	0,1 мг·л ⁻¹ БАП і 1,0 мг·л ⁻¹ ІОК	0,7 ^{±0,1}	0,5 ^{±0,1}	4 ^{±1}	40–45	п.м. ³	мкр. ⁷
4	МС з 0,5 мг·л ⁻¹ БАП й кінетину	1,0 ^{±0,2}	0	6 ^{±1}	25–30	п.м. ³	мкр. ⁷
5	МС з 2,0 мг·л ⁻¹ 2,4-Д й 0,2 мг·л ⁻¹ БАП	–	–	–	25–35	–	к.к.л.п. ⁴
6	МС з 2,0 мг·л ⁻¹ 2,4-Д	–	–	–	25–35	–	к.к.с.п. ⁵
7	МС з 1,0 мг·л ⁻¹ БАП й 0,3 НОК	0,8 ^{±0,1}	0	5 ^{±1}	25–30	н.м. ⁶	мкр. ⁷ , отрим. м.п. ⁹ із к.к.с.п. ⁵
8	МС з 1,0 мг·л ⁻¹ БАП й 0,3 НОК	0,6 ^{±0,1}	0	2 ^{±1}	25–30	н.м. ⁶	мкр. ⁷ , отрим. м.п. ⁹ із к.к.л.п. ⁴

Примітки: 1. Активоване вугілля (а. в.). 2. Активізація росту меристем експлантату (а. р. м. е.). 3. Прямий морфогенез (п. м.). 4. Культура калюсу листового походження (к.к.л.п.). 5. Культура калюсу стеблового походження (к.к.с.п.). 6. Непрямий морфогенез (н.м.). 7. Мікроклональне розмноження (мкр.). 8. Отримання рослин-регенерантів (отрим. р.-р.). 9. Отримання мікропагонів (отрим. м.п.). 10. Живильне середовище МС безгормональне (МС б/г). (–) – наявність досліджуваного показника не фіксували

Унаслідок проведених досліджень встановлено склад живильного середовища для введення експлантатів досліджуваних рослин *Salix* у культуру *in vitro*. Експлантати рослин *S. alba*, *S. fragilis*, *S. babilonica*, й *S. matsudana* 'Tortuosa' потрібно упродовж 21-45-ти днів культивувати на безгормональному живильному середовищі МС для отримання регенерованих із бруньок мікропагонів завдовжки 1,0-2,5 см із характерною пігментацією. Досліджувані рослини мікроклонально розмножені за використання різних типів мікроклонального розмноження (рис. (з)): активації росту меристем експлантата (рис. (ж)), прямого (рис. (є)) та непрямого морфогенезу (рис. (е)). Модифіковано склад живильного середовища МС для різних генотипів, типів експлантатів і морфогенезу. Для таких рослин, як *S. alba* (варіант 2), *S. fragilis* (варіант 1, див. рис. (ж)), *S. babilonica* (варіант 2) й *S. matsudana* 'Tortuosa' (варіант 2) підібрано компоненти живильного середовища, що забезпечують упродовж одного циклу культивування (без субкультивування) мікроклональне розмноження, вкорінення мікропагонів і отримання рослин-регенерантів.

Для мікроклонального розмноження рослин роду *Salix* L. шляхом непрямого морфогенезу досліджували процеси індукції, інтенсивність формування й регенераційну здатність калюсу. Отримано калюсні тканини *S. alba*, *S. fragilis*, *S. babilonica* й *S. matsudana* 'Tortuosa' із листових пластинок (рис. (в)) і фрагмен-

тів мікропагонів із достатньо високою частотою калюсоутворення (понад 90 %) й активним ростом на живильних середовищах за умов використання регуляторів росту ауксинового та цитокінінового типів дії. Неморфогенні калюсні тканини, отримані з різних генотипів досліджуваних рослин та типів експлантатів, не відрізнялися за пігментацією та консистенцією: були світло-жовті й пухкі (рис. (г)). Перехід неспеціалізованих калюсних тканин у морфогенні тверді консистенції спричинялися гормональними (збільшенням концентрацій цитокінінів, внесенням двох цитокінінів, виключенням ауксинів неіндоліної природи) та фізичними чинниками (освітлення 2,0-3,0 клк) (рис. (д)). Показано, що кількість мікропагонів, отриманих із калюсу стеблового походження (рис. (е)), достовірно більша, порівняно із листовим (відмінність статистично значуща, $F_{\text{розр}} > F_{\text{крит}}$ за $\alpha = 0,05$) у всіх досліджуваних генотипів.

Для мікропагонів *in vitro* кожного генотипу з'ясовано найефективніший тип мікроклонального розмноження, який дає змогу впродовж стислого терміну отримувати значну кількість оздоровлених рослин-регенерантів. Так, рослини *S. alba* й *S. fragilis* доцільно мікроклонально розмножувати шляхом мікроживцювання стеблової культури (варіант 2 і 1, коефіцієнти розмноження 10^{±1} і 8^{±1} відповідно), *S. babilonica* – непрямым морфогенезом (варіант 5, к.р. 5^{±1}), а *S. matsudana* 'Tortuosa' – прямим морфогенезом (варіант 4, к.р. 6^{±1}).

Експериментально встановлено, що тривалість циклів культивування мікропагонів залежала від складу живильних середовищ і генотипів *Salix*: найкоротший становив 21-25 днів (*S. alba* на безгормональному МС), а найтриваліший – 40-45 днів (*S. babilonica* на МС з 0,25 мг·л⁻¹ кінетину й 2 г·л⁻¹ активованого вугілля). Отже, розроблена біотехнологія мікроклонального розмноження досліджуваних рослин *Salix* дала змогу отримати значну кількість оздоровлених рослин-регенерантів різного цільового використання.

Висновки:

- Ефективної стерилізації (понад 80 %) експлантатів рослин *S. alba*, *S. fragilis*, *S. babilonica* й *S. matsudana* 'Tortuosa' досягнуто шляхом їх ізоляції у квітні-червні із застосуванням 1 % AgNO₃ упродовж 10 хв з наступним перенесенням у 2,5 % NaClO. Експлантати, отримані шляхом штучної активації меристем у лабораторних умовах у лютому, доцільно витримувати у 0,1 % розчині HgCl₂ упродовж 5 хв.
- Підбрано оптимальний склад живильних середовищ для мікроклонального розмноження, укорінення та отримання рослин-регенерантів *S. alba* (МС з 0,25 мг·л⁻¹ кінетину), *S. fragilis* (МС безгормональне), *S. babilonica* й *S. matsudana* 'Tortuosa' (МС з 0,25 мг·л⁻¹ кінетину й 2 г·л⁻¹ активованого вугілля) за використання активації росту наявних меристем експлантатів.
- Оптимальні умови для індукції калюсоутворення у тканинах листових пластинок рослин *S. matsudana* 'Tortuosa' (частота понад 90 % та активний ріст тканин) створено на живильному середовищі МС з додаванням 2,0 мг·л⁻¹ 2,4-Д і 0,2 мг·л⁻¹ БАП; для фрагментів мікропагонів – 2,0 мг·л⁻¹ 2,4-Д. Для тканин листових пластинок *S. alba* оптимальним для калюсоутворення було середовище МС, модифіковане 3,0 мг·л⁻¹ 2,4-Д і 0,5 мг·л⁻¹ БАП, а для фрагментів мікропагонів – 2,0 мг·л⁻¹ 2,4-Д і 0,2 мг·л⁻¹ БАП. Для *S. fragilis* та *S. babilonica* доцільно використовувати середовища із внесенням, відповідно, 2,0 мг·л⁻¹ 2,4-Д та 0,5 мг·л⁻¹ 2,4-Д, 1,0 мг·л⁻¹ ІОК (для обох типів експлантатів).

4. Отримано мікропагони рослин за використання прямого й непрямого морфогенезу рослин. Кількість мікропагонів, отриманих із калюсу стеблового походження, достовірно більша порівняно із листовим.
5. Установлено, що рослини *in vitro* *S. alba* й *S. fragilis* доцільно мікроклонально розмножувати шляхом мікроживцювання стеблової культури (коефіцієнт розмноження – $10^{\pm 1}$ й $8^{\pm 1}$, відповідно), *S. babylonica* – непрямим морфогенезом (коефіцієнт розмноження – $5^{\pm 1}$), а *S. matsudana* "Tortuosa" – прямим морфогенезом (коефіцієнт розмноження – $6^{\pm 1}$).
6. Розроблено біотехнологію мікроклонального розмноження рослин, яка охоплює різні типи індукованого морфогенезу *in vitro* та дає змогу отримувати значну кількість оздоровлених рослин-регенерантів різного цільового використання.

Література

1. Бутенко Р.Г. Культура изолированных тканей и физиология морфогенеза растений : учеб. пособ. / Р.Г. Бутенко. – М. : Изд-во "Наука", 1964. – 272 с.
2. Гордієнко М.І. Чагарникові верби рівнинної частини України (біологія, екологія, використання) / М.І. Гордієнко, Я.Д. Фучило, А.Ф. Гойчук. – К. : Вид-во Ін-ту аграрної економіки УААН, 2002. – 172 с.
3. Калинин Ф.Л. Методы культуры тканей в физиологии и биохимии растений / Ф.Л. Калинин, В.В. Сарнацкая, В.Е. Полищук. – К. : Вид-во "Наук. думка", 1980. – 488 с.
4. Кушнір Г.П. Мікроклональне розмноження рослин: теорія і практика : монографія / Г.П. Кушнір, В.В. Сарнацка. – К. : Вид-во "Наук. думка", 2005. – 269 с.
5. Царев А.П. Селекция и репродукция лесных древесных пород / А.П. Царев, С.П. Погиба, В.В. Тренин. – М. : Вид-во "Логос", 2002. – 504 с.
6. Шиманюк А.П. Дендрология / А.П. Шиманюк. – М. : Изд-во "Лесн. пром-сть", 1967. – С. 208-235.
7. Khan I.Md. The Role of Cytokinins on *in vitro* Shoot Production in *Salix tetrasperma* Roxb.: a Tree of Ecological Importance / Md.I. Khan, N. Ahmad, M. Anis // Tree – Structure and Function. – 2011. – Vol. 25, № 4. – Pp. 577–584.
8. Lyuira S. *In vitro* Propagation of *Salix nigra* from Adventitious Shoot / S. Lyuira, A. Lima, S.A. Merkle // Tree Physiology. – 2006. – Vol. 26. – Pp. 969–975.
9. Murashige T. A Revised Medium for Rapid, Growth and Bioassays with Tobacco Tissue Cultures / T. Murashige, F. Skoog // Physiol. Plantarum. – 1962. – Vol. 15. – N. 3. – Pp. 473.
10. Read E.P. *In vitro* Rejuvenation of Woody Species. Protocols for Micropropagation of Selected Economically – Important Horticultural Plants / P.E. Read, C.M. Bavoogian // Methods in Molecular Biology. – 2013. – Vol. 994. – Pp. 383–395.

Надійшла до редакції 24.10.2016 р.

Чорнобров О.Ю. Биотехнологические аспекты микроклонального размножения растений рода *Salix* L.

Установлены условия получения асептических жизнеспособных эксплантатов трех видов и одного культивара растений рода *Salix* L., изолированных из растений-доноров в разные фенофазы. Подобран оптимальный состав питательных сред для микроклонального размножения, укоренения и получения растений-регенерантов. Разработана биотехнология микроклонального размножения растений, которая включает отбор компонентов питательных сред для различных генотипов, этапов и типов эксплантатов. Получено значительное количество оздоровленных растений-регенерантов *in vitro* при использовании активации роста имеющихся меристем эксплантатов, прямого и непрямого морфогенеза для различного целевого использования.

Ключевые слова: *Salix* L., культура *in vitro*, эксплантаты, микроклональное размножение, каллус, питательная среда, растения-регенеранты.

Chornobrov O.Yu. Biotechnological Aspects of Micropropagation of Plants of the Genus *Salix* L.

The aseptic conditions for obtaining viable explants of three species and one cultivar of the genus *Salix* L. isolated from donor plants in different phenophase were established. The optimum composition of the culture media for microclonal propagation, rooting and receiving regenerant plants was selected. The biotechnology of microclonal propagation of above-mentioned plants, including the selection of the culture media components for various genotypes, stages and explants types, was developed. A significant number of *in vitro* regenerants for a different purposeful use were obtained by using activation of growth of existing explants meristem and by means of direct and indirect morphogenesis.

Keywords: *Salix* L., culture *in vitro*, explants, micropropagation, callus, basal medium, regenerant plants.

УДК 630*[44+17]:582.832.1(477.42)

БАКТЕРІАЛЬНІ ХВОРОБИ БЕРЕЗОВИХ НАСАДЖЕНЬ В УКРАЇНІ ТА СВІТІ (ТЕОРЕТИКО-ПРИКЛАДНІ ОСОБЛИВОСТІ)

М.В. Швець^{1,2}

Здійснено порівняння патогенної дії бактеріозу в широких діапазонах екологічних ареалів у різних лісорослинних умовах – зокрема на території України, Казахстану, республіки Білорусь, Адігеї, Татарстану, європейської частини Російської Федерації, Кавказу, Сибіру, В'єтнаму, Чехії, США. Наведено власні результати виділення фітопатогенних бактерій з уражених бактеріальною водяною зразків берези повислої. Ступінь виявлення інфекції під час штучного зараження чітко виражена штамом бактерій *E. nitipressuralis*. Як показали лабораторні дослідження, бактерії уражали луб, камбій та судинну систему берези. Описано культурально-морфологічні та біохімічні властивості збудника бактеріальної водянки березових насаджень.

Ключові слова: березові насадження, бактеріальна хвороба, історія досліджень, фітопатогенні бактерії, збудник бактеріозу, штам, патологія, властивості збудника.

Вступ. Явища масового всихання лісів як у світі, так і в Україні, відомі ще з XIX ст. і спостерігаються тепер. Всихання лісових насаджень відбувається з певною циклічністю, яка пов'язана з періодичними впливами несприятливих факторів на рослини. Наразі всихання березових насаджень прирівнюється до екологічної загрози, яка надалі може набути норциркумполярного характеру.

В Україні перший спалах всихання берези зафіксовано в 1994 р. Найбільші площі всихання березових насаджень охопили Житомирське та Чернігівське Полісся – 122 та 114 га відповідно. У 2002-2003 рр. у Житомирському Поліссі всихання беріз набуло епіфітотійного характеру площею 1156 га, тоді як у Рівненському Поліссі – 700 га. На Житомирщині значно зменшились патологічні процеси в 2006 р. – 133 га, тоді як на Волині площі відпаду беріз становили 1038 га. У 2015-2016 рр. лісівники виявили масовий відпад берези в регіоні Житомирського Полісся. Площа сухостійних беріз у 2015 р. досягла 1327 га і спричинила серйозне занепокоєння працівників лісового господарства. Як виявилось, першочергово до таких наслідків призводить згубна дія комплексу фітопатогенних бактерій. На сьогодні бактеріозу лісу є недостатньо вивченими. Результат – інтенсивне ослаблення, а згодом – і втрата значних площ надзвичайно цінного "зеленого золота".

¹ аспір. М.В. Швець – НУ біоресурсів і природокористування України, м. Київ
² наук. керівник: проф. А.Ф. Гойчук, д-р с.-г. наук – НУБіП України, м. Київ