

Сучасні проблеми генетики, екології та біотехнології

мг/л KIN та 0,01 мг/л NAA відбувся розвиток коренів на листових експлантах, регенерації пагонів не відбувалося. На середовищі, яке містило BAP 0,5 мг/л спостерігали утворення коричневого рихлого калюсу без утворення пагонів. При поєднанні BAP 1мг/л з 0,05 мг/л NAA відбувалося утворення зеленого пухкого калюсу на якому відбувалася регенерація пагонів. Частота регенерації становила 61%, а її ефективність 4-5 рослин на експлант.

Таким чином в результаті роботи нами було введено рослини *Xanthium strumarium* в культуру *in vitro* та запропоновано методику їх регенерації на агаризованому середовищі МС з додаванням 1мг/л BAP у поєднанні 0,05 мг/л NAA. В подальшому запропонована методика буде використана, як основа для генетичної трансформації.

Література

1. *Murashige T.* A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // *Physiol Plant.* – 1962. – Vol. 15. – P. 473–497.
2. *Talakal T.S., Sharma S.R.* In vitro and in vivo antitrypanosomal activity of *Xanthium strumarium* leaves // *Journal of Ethnopharmacology* –1996. —Vol. 49. – P.141-145.

УДК 582.542.11:57.086.83

ОСОБЛИВОСТІ КУЛЬТИВУВАННЯ *IN VITRO* РОСЛИН *DESCHAMPSIA ANTARCTICA* E. DESV.

Семенюк Д.М.¹, Загричук О.М.², Дробик Н.М.¹

¹ Тернопільський національний педагогічний університет
ім. Володимира Гнатюка

² ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет
імені І.Я. Горбачевського МОЗ України»

E-mail: darina.semenjuk@gmail.com

Deschampsia antarctica E. Desv. – єдиний представник злаків і одна із двох судинних рослин, які адаптувалися до жорстких кліматичних умов Антарктики, зокрема існування в умовах низьких температур та високого рівня ультрафіолетового

випромінювання [2, 3]. Це дозволяє припустити, що цей вид характеризується загальною підвищеною стійкістю до різних абіотичних стресових чинників. Ця рослина є унікальним біологічним об'єктом для різнопланових наукових досліджень. Наявність рослин *D. antarctica* в колекції *in vitro* дозволить зменшити вплив на антарктичні природні популяції виду та дасть можливість круглорічно, в контрольованих лабораторних умовах моделювати дію різних абіотичних стресових факторів і визначати їх вплив на фізіологічні, біохімічні та генетичні параметри, що практично неможливо в умовах Антарктики. Тому метою роботи було отримання та вивчення культури тканин та органів *D. antarctica*.

У роботі використовували насіння, зібране під час експедицій, організованих Національним антарктичним науковим центром України на західному узбережжі Антарктичного півострова: о-ви Галіндез, Скуа, Барселот, Дарбо, Великий Ялур, Лехіл та мисі Расмуссен протягом 2005–2011 років. Для стимулювання проростання на насіння *D. antarctica* діяли низькими позитивними температурами (4–5 °С) та гібереловою кислотою (ГК₃) (100–600 мг/л) протягом 12–24 діб. Для мікроклонального розмноження використовували рослини *D. antarctica*, отримані шляхом пророщування насіння. Ріст та вкорінення проростків проводили на живильних середовищах МС [4] і В5 [1], доповнених кінетином (Кін) або 1-нафтилоцтовою кислотою (НОК). Для індукції калусоутворення використовували кореневі і пагонові експланти *D. antarctica*, висаджуючи їх на живильні середовища: МС, МС/2, В₅ та середовище В₅/2 (В₅ з половиною вмістом макро- та мікросолей), доповнені різними концентраціями 2,4-дихлорфеноксіоцтової кислоти (2,4-Д; 0,5–1 мг/л) і 6-бензиламінопурину (БАП; 0,09–2 мг/л). Частоту калусогенезу визначали через 3 тижні культивування за відношенням кількості експлантатів з калусом до їхньої загальної кількості.

Встановлено, що для мікроклонального розмноження *D. antarctica* доцільним було доповнення живильних середовищ МС та В5 Кін або НОК. Отримані мікроклони на середовищі МС з 0,1 мг/л Кін вкорінювалися на 16–20 добу; ефективність вкорінення

Сучасні проблеми генетики, екології та біотехнології

складала 80 %. Оптимальним серед протестованих виявилось середовище В5 з 0,2 мг/л Кін, на якому спостерігали інтенсивніший ріст рослин, а їхнє вкорінення відбувалося на 6–10 діб швидше, порівняно з іншими протестованими варіантами, і досягало 95 %. Через 4–5 місяців культивування на цьому середовищі рослини формували дернину. Мікроклонування проводили шляхом відокремлення утворених на дернині пагонів.

Підбираючи умови калюсогенезу, виявили залежність ефективності утворення та проліферації калюсу від мінерального складу живильного середовища, співвідношення і концентрації регуляторів росту, місця зростання рослини-донора експланта та типу експлантата. Найбільшу інтенсивність калюсоутворення було виявлено при тестуванні корневих і пагонових експлантів рослин з о. Галіндез (32,3 %) та мису Расмуссен (30,7 %). Дещо нижчою калюсогенною активністю характеризувалися експланти від рослин з о. Великий Ялур (29,7 %) та о. Лехіл (27,5 %). Найменшу здатність до калюсоутворення проявляли рослини з островів Скуа і Дарбо (22,3 % і 19 % відповідно). Найбільш ефективним для індукції калюсоутворення виявилось використання середовища В5. На ньому формування калюсу відбувалося з корневих та пагонових експлантів через 7–10 діб; відсоток калюсогенезу у деяких випадках досягав 100, сформований калюс характеризувався пухкою консистенцією та світло-жовтим забарвленням. На калюсогенез значний вплив мало співвідношення регуляторів росту 2,4-Д, НОК і БАП. Серед усіх протестованих варіантів оптимальною виявилася комбінація 0,9–1,0 мл/л 2,4-Д та 0,09–0,1 мл/л БАП. За таких умов відбувалося формування калюсу як на корневих, так і на пагонових експлантах. При цьому відсоток калюсогенезу усіх досліджених зразків *D. antarctica* коливався від 13 % (експланти рослин з о. Дарбо) до 100 % (з о. Галіндез). Відсоток калюсогенезу з корневих експлантів варіював від 4,3 % (о. Дарбо) до 100 % (о. Галіндез). Формування калюсу пагонового походження було менш інтенсивним: відсоток калюсогенезу коливався в межах 13–65 %. Найбільшою здатністю до калюсоутворення характеризувалися пагонові експланти від рослин з о. Великий Ялур і найменшою – з о. Дарбо.

Сучасні проблеми генетики, екології та біотехнології

Інтенсивність утворення калюсу була найвищою на середовищі В5 з додаванням 0,9–1 мг/л 2,4-Д і 0,09–0,1 мг/л БАП. Калюсогенна активність із корневих експлантів перевищувала таку з пагонів: середнє значення відсотка калюсогенезу з корневих експлантів складало 46,7 %, із пагонових – 22,7 %. Оптимальним із протестованих середовищ для проліферації калюсу як кореневого, так і пагонового походження, було В5 з 1,0 мг/л 2,4-Д і 0,1 мг/л БАП.

Отже, нами з'ясовано особливості культивування *in vitro* *D. antarctica*. Розроблено умови для мікроклонального розмноження цієї рослини, а також для індукції та проліферації калюсу з різних типів її експлантів.

Література

1. *Gamborg O.L.* Culture methods and detection of glucanases in cultures of wheat and barley / O.L. Gamborg, D.E. Eveleigh // *Can. J. Biochem.* – 1968. – Vol. 46, №5. – P. 417–421.
2. *Gielwanowska I.* Biologiczne przystosowania roślin kwiatowych do warunków klimatycznych Antarktyki morskiej / I. Gielwanowska // *Kosmos. Problemy nauk biologicznych* – 2013. – T. 62. – P. 381–391.
3. *Mechanisms of Antarctic vascular plant adaptation to abiotic environmental factors* / I.P. Ozheredova, I.Yu. Parnikoza, O.O. Poronnik [et al.] // *Cytology and Genetics.* – 2015. – Vol. 49, N 2. – P. 139–145.
4. *Murashige T., Skoog F.* A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures / T. Murashige, F. Skoog // *Phys. Plant.* – 1962. – Vol.15, N 3. – P. 473–497.