

## ОТРИМАННЯ І ВИРОЩУВАННЯ *IN VITRO* КУЛЬТУРИ ТКАНИН ТА ОРГАНІВ *DESCHAMPSIA ANTARCTICA* E. DESV.

Єдиним представником злаків та однією з двох судинних рослин, що адаптувалися до жорстких кліматичних умов Антарктики, а саме до існування в умовах низьких температур та високого рівня ультрафіолетового випромінювання, є *Deschampsia antarctica* E. Desv. [3, 4]. Тому, можна припустити, що ця рослина володіє підвищеною стійкістю до абіотичних стресових чинників. *Deschampsia antarctica* є унікальним біологічним об'єктом для різнопланових наукових досліджень. При дослідженні рослин, які зростають в Антарктиці, виникають труднощі, пов'язані зі складністю збору достатньої кількості рослинного матеріалу, несприятливістю природних умов для проведення експериментів і значними фінансовими затратами, необхідними для збору і транспортування рослин. У таких випадках використовують штучно змодельовану систему, зокрема культивування рослин *in vitro*. Отримання достатньої кількості рослинного матеріалу шляхом мікроклонування, а також підбір умов для неорганізованого росту культури тканин *D. antarctica* є сьогодні важливим і актуальним. Перевагами культивованих *in vitro* рослин цього виду є: можливість уникнути надзвичайно затратного процесу щорічного транспортування живих рослин з Антарктики, що, в свою чергу, дозволяє звести до мінімуму навантаження на природні популяції, що відповідає вимогам міжнародних угод щодо антарктичного довкілля; можливість у контрольованих лабораторних умовах моделювати дію певних абіотичних стресових факторів [1]. Крім того мікроклональне розмноження дозволяє за короткий час отримати велику кількість рослин генетично-однорідних з вихідною батьківською формою. Калюсна культура використовується для отримання нових рослин. Утворення пагонів чи коренів з недиференційованих клітин регулюється співвідношенням і концентрацією регуляторів росту.

Тому метою роботи було отримання та вивчення культури тканин та органів *D. antarctica*.

### Матеріали і методи

У роботі ми використали 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 °C) та гібереловою кислотою (ГК<sub>3</sub>) (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 [5] і В<sub>5</sub> [2], доповнених кінетином (Кін) або 1-нафтилоцтовою кислотою (НОК). Для індукції калюсоутворення використовували кореневі і пагонові експланти *D. antarctica*, висаджуючи їх на живильні середовища: МС, МС/2, ШХ, В<sub>5</sub> та середовище В<sub>5</sub>/2 (В<sub>5</sub> з половинним вмістом макро- та мікросолей), доповнені різними концентраціями 2,4-дихлорфеноксіцтової кислоти (2,4-Д; 0,5–1 мг/л) і 6-бензиламінопурину (БАП; 0,09–2 мг/л). Частоту калюсогенезу визначали через 3 тижні культивування за відношенням кількості експлантатів з калюсом до їхньої загальної кількості.

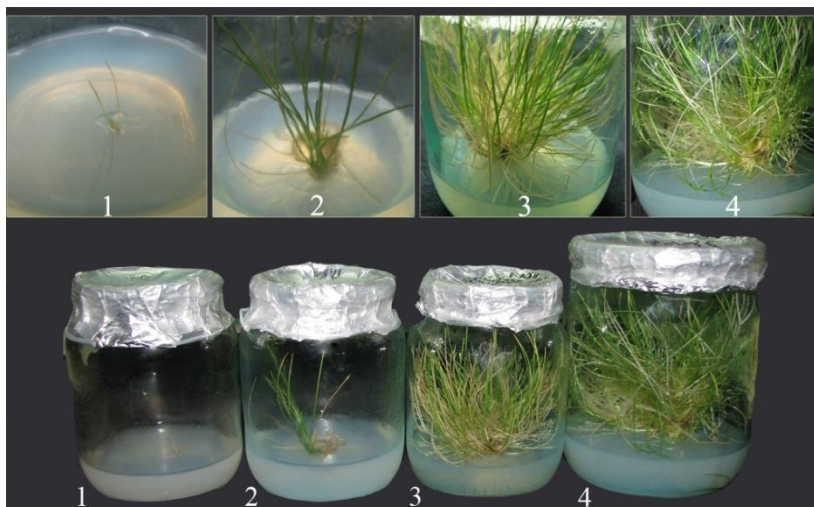


Рис. 1. Динаміка росту мікроклонально розмноженої рослини *D. antarctica* в умовах *in vitro* на живильному середовищі В<sub>5</sub> з 0,2 мг/л Кін:

1 – двотижнева рослина; 2 – 1,5-місячна рослина; 3 – 3-4 місячна рослина; 4 – 6-місячна рослина.

### Результати дослідження та їх обговорення

Встановлено, що для мікроклонального розмноження *D. antarctica* доцільним було доповнення

живильних середовищ МС та В5 Кін або НОК. На 16–20 добу отримані мікроклони вкорінювалися на середовищі МС з 0,1 мг/л Кін; ефективність вкорінення складала 80 %. Проте, інтенсивніший ріст рослин спостерігали на агаризованому живильному середовищі В5 з 0,2 мг/л Кін. Вкорінення рослин на ньому відбувалося на 6 – 10 діб раніше, порівняно з іншими протестованими варіантами середовищ і досягало 95 %.

Через два тижні вирощування рослин на живильному середовищі В5 з 0,2 мг/л Кін (рис. 1) висота висаджених мікроклонів становила 3–4 см, формувалися 2–3 нових пагони висотою 3–5 мм. Через місяць культивування кількість пагонів збільшувалася до 5–6, висота їх становила 5–6 см, а довжина коренів – 25–28 мм.

Через 3–4 місяці з часу висаджування мікроклонів спостерігали формування дернини з 8–12 пагонів, при цьому висота рослини досягала 7–8 см, а довжина коренів – становила 42 мм. Через 5–6 місяців культивування, розростаючись, рослина заповняла вегетативною масою усю культивацийну посудину (висота рослин досягала 12–13 см, а довжина коренів – до 50 мм). Через 4–5 місяців культивування на цьому середовищі рослини формували дернину, що дозволяло проводити мікроклонування шляхом відокремлення утворених на дернині пагонів.

Підбираючи умови калюсогенезу, виявили, що ефективність утворення та проліферації калюсу залежить від місця зростання рослини-донора експланта та типу експлантата, мінерального складу живильного середовища, співвідношення і концентрації регуляторів росту (рис. 2 – 3). Найбільшу інтенсивність калюсоутворення було виявлено при тестуванні кореневих і пагонових експлантів рослин з о. Галіндез (32,3 %) та мису Расмуссен (30,7 %). Експланти від рослин з о. Великий Ялур та о. Лехіл характеризувалися нижчою калюсогенною активністю (29,7 % і 27,5 % відповідно). Найменшу здатність до калюсоутворення виявили у рослин з островів Скуа (22,3 %) і Дарбо (19 %).

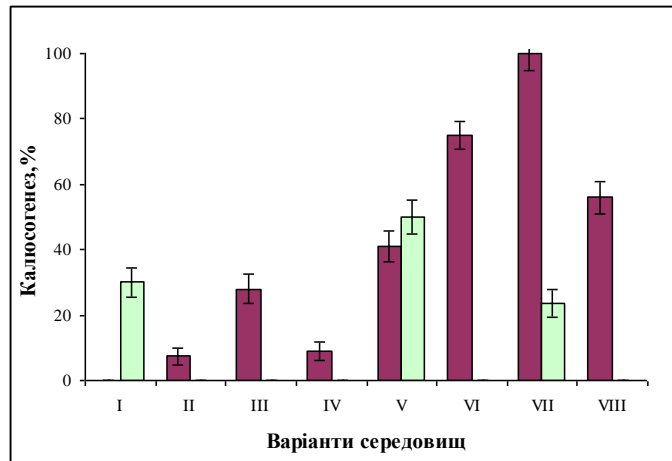


Рис. 2. Частота калюсоутворення (%) з корневих і пагонових експлантів рослин *D. antarctica* з о. Галіндез на різних варіантах живильних середовищ:

I – МС з 1 мг/л 2,4-Д і 0,1 мг/л БАП; II – В5 з 0,5 мг/л 2,4-Д і 0,1 мг/л БАП; III – В5/2 з 0,5 мг/л 2,4-Д і 0,1 мг/л БАП; IV – В5 з 1 мг/л 2,4-Д і 0,2 мг/л БАП; V – В5 з 0,9 мг/л 2,4-Д і 0,09 мг/л БАП; VI – В5/2 з 0,9 мг/л 2,4-Д і 0,09 мг/л БАП; VII – В5 з 1 мг/л 2,4-Д і 0,1 мг/л БАП, VIII – В5 з 2 мг/л НОК і 0,1 мг/л БАП;

■ – кореневі експланти;                      □ – пагонові експланти.

Використання середовища В5 виявилося найбільш ефективним для індукції калюсоутворення, оскільки формування калюсу на ньому відбувалося через 7–10 діб з корневих та пагонових експлантів; відсоток калюсогенезу у деяких випадках досягав 100, сформований калюс мав світло-жовте забарвлення та характеризувався пухкою консистенцією.

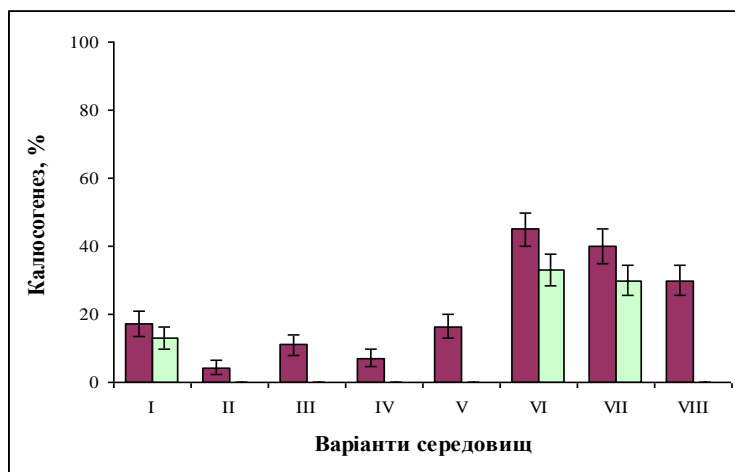


Рис. 3. Частота калюсоутворення (%) з корневих і пагонових експлантів рослин *D. antarctica* з о. Дарбо на різних варіантах живильних середовищ:

I – МС з 1 мг/л 2,4-Д і 0,1 мг/л БАП; II – В5 з 0,5 мг/л 2,4-Д і 0,1 мг/л БАП; III – В5/2 з 0,5 мг/л 2,4-Д і 0,1 мг/л БАП; IV – В5 з 0,5 мг/л 2,4-Д і 0,2 мг/л БАП; V – В5/2 з 0,9 мг/л 2,4-Д і 0,09 мг/л БАП; VI – В5 з 1 мг/л 2,4-Д і 0,2 мг/л БАП; VII – ШХ з 0,5 мг/л 2,4-Д і 0,1 мг/л БАП, VIII – В5 з 1 мг/л НОК і 0,1 мг/л БАП;

■ – кореневі експланти;    □ – пагонові експланти.

Відсоток калюсогенезу з корневих експлантів становив від 4,3 % (о. Дарбо) до 100 % (о. Галіндез). Формування калюсу пагонового походження було менш інтенсивним: відсоток калюсогенезу коливався в межах 13–65 %. 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. Більша підтримуюча здатність середовища В5 для калюсогенезу *D. antarctica*, очевидно, обумовлена меншим, порівняно з іншими варіантами протестованих середовищ, вмістом у ньому компонентів. У природі цей вид росте в умовах нестачі елементів живлення, тому серед протестованих середовищ В5, очевидно, найбільшою мірою відповідає його трофічним потребам [1].

**Висновок.** Отже, нами отримано культуру тканин і органів *D. antarctica* та досліджено особливості її росту *in vitro* *D. antarctica*. Розроблено умови для мікроклонального розмноження цієї рослини, а також для індукції та проліферації калюсу з різних типів її експлантів. Оптимальним, серед протестованих, для вкорінення отриманих з насіння проростків виявилось середовище В5 з 0,2 мг/л Кін, а для мікроклонального розмноження і росту рослин *in vitro* було середовище В5, доповнене 0,1–0,2 мг/л Кін або НОК. 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.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Калюсогенез та регенерація рослин *Deschampsia antarctica* Desv. (Poaceae) в культурі *in vitro* / О.М. Загричук, А.І. Герц, Н.М. Дробик [та ін.] // *Biotechnologia Acta*. – 2013. – Vol. 6. – P. 77–85.
2. 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.
3. Gielwanowska I. Biologiczne przystosowania roślin kwiatowych do warunków klimatycznych Antarktyki morskiej / I. Gielwanowska // *Kosmos. Problemy nauk biologicznych* – 2013. – Т. 62. – P. 381–391.
4. 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.
5. 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.

Форись О.

Науковий керівник – доц. Конончук О. Б.

#### ПРОДУКТИВНІСТЬ СОЇ КУЛЬТУРНОЇ ЗА ДІЇ МІКРОБІОЛОГІЧНОГО ДОБРИВА ЕМ-1

Соя є однією з головних культур світового землеробства, її вирощують близько 40 країн світу, на площі понад 50 млн. га. Значне поширення сої пов'язане із її використанням як цінної технічної, продовольчої і кормової культури. Насіння є унікальним за вмістом мінеральних та органічних речовин. Воно містить у середньому 39% білків, 20% напіввисихаючої олії, 24% вуглеводів, 5% зольних елементів (з переважним