4. World Meteorological Organization. State of the Global Climate 2024. Geneva : WMO, 2025.
5. Zhao C., Liu B., Piao S., Wang X., Lobell D. B., Huang Y., Asseng S. Temperature increase reduces global yields of major crops in four independent estimates. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 2017. Vol. 114, No. 35. P. 9326–9331. DOI: 10.1073/pnas.1701762114.

УДК 581.143.6:582.683.2:581.522.4

ОСОБЛИВОСТІ ВВЕДЕННЯ В КУЛЬТУРУ *IN VITRO* РІДКІСНОГО ВИСОКОГІРНОГО КАРПАТСЬКОГО ВИДУ *PRIMULA MINIMA* L.

Гончарська М. С., Метельська І. С., Грицак Л. Р., Колісник Х. М.

Тернопільський національний педагогічний університет
імені Володимира Гнатюка
E-mail: hrytsak1972@gmail.com

Вивчення реліктових рослинних видів, які є важливою складовою генофонду природної флори західного регіону, має значну наукову та практичну цінність. Через погіршення екологічного стану довкілля та зростання антропогенного навантаження на природні фітоценози посилюється ризик зникнення окремих популяцій і зменшення чисельності багатьох видів, насамперед реліктових і тих, що знаходяться на межі свого ареалу. Такі процеси негативно впливають на стабільність і функціонування природних екосистем. Серед рідкісних декоративних рослин особливу увагу привертає *Primula minima* L. – первоцвіт дрібний. Це високогірний альпійський вид, поширений у Центральній і Південній Європі, переважно в межах альпійського та субальпійського поясів. Рослина існує в екстремальних кліматичних умовах, що сприяло формуванню у неї специфічних адаптивних механізмів. Завдяки цим особливостям *P. minima* вважають важливим індикатором стану високогірних екосистем, оскільки зміни у чисельності та життєздатності його популяцій можуть відображати трансформації навколишнього середовища під впливом

природних і антропогенних факторів [1, 2, 4].

Основними загрозами для цього виду є розвиток високогірного туризму, випас худоби та неконтрольоване збирання рослин. Рекреаційне навантаження спричиняє деградацію ґрунтів, руйнування мікробіотопів і пошкодження рослин, а випасання худоби посилює антропогенний вплив і ускладнює відновлення популяцій. Через низьку чисельність виду навіть незначне збирання рослин є небезпечним для його існування. Перспективним методом збереження рідкісних рослин є введення їх у культуру *in vitro*. Такий підхід дає змогу зберігати природні популяції, отримувати життєздатні експланти та забезпечувати стабільне розмноження рослин із низькою схожістю насіння або слабкою здатністю до вегетативного відтворення [1, 5]. Представники роду *Primula* характеризуються низькою природною схожістю насіння без стратифікації та застосування стимуляторів проростання, що значно ускладнює природне відновлення популяцій [3].

Мета нашої роботи полягала у введенні в культуру *in vitro* виду *P. minima* та підбір умов для вегетативного і мікроклонального розмноження рослин.

Введення *P. minima* у культуру *in vitro* включало два основні етапи: 1) дослідження проростання насіння та отримання стерильних проростків; 2) підбір умов для вегетативного й мікроклонального розмноження та росту рослин *in vitro*. Для одержання асептичних проростків насіння *P. minima* стерилізували у 5%-ному розчині H_2O_2 протягом 1 години. Попередньо насіння обробляли детергентом упродовж 30 хвилин, промивали проточною та дистильованою водою, після чого замочували в розчині гіберелової кислоти ($ГК_3$) концентрацією 100 мг/л і 1000 мг/л на 18–20 годин. Далі проводили поверхневу стерилізацію 96%-ним етанолом протягом 10 секунд і повторне промивання стерильною дистильованою водою. Простерилізоване насіння висаджували у чашки Петрі на агаризоване живильне середовище МС без додавання фітогормонів. Пророщування здійснювали за температури +18…+20 °С, вологості 80 % та освітлення інтенсивністю 460 мкмоль/(м²·с).

Для підбору умов вегетативного розмноження

використовували асептичні 1,5–2-місячні рослини *P. minima*, отримані з насіння. Живці довжиною 15–20 мм культивували на рідких живильних середовищах МС/2 та модифікованому МС/2мод., доповнених 0,1 мг/л кінетину. Для стимуляції інтеркалярного росту застосовували $ГК_3$. Для мікроклонального розмноження використовували живці 2–3-місячних рослин. У кожному варіанті тестували 11–12 живців. Ефективність розмноження оцінювали через 1–2 місяці за кількістю утворених мікроклонів. Усі досліди проводили у триразовій повторності.

У результаті досліджень встановлено, що оптимальним методом стерилізації насіння *P. minima* є обробка 5%-ним розчином H_2O_2 протягом 1 години з подальшим промиванням стерильною дистильованою водою. Ефективність стерилізації при цьому становила 97–99 %. Виявлено, що насіння *P. minima* здатне проростати одразу після збору. Перші проростки з'являлися на 10-й день після висіву. У вересні–жовтні проростало 32,7 % насіння, тоді як у листопаді–січні проростання не спостерігалося. Повторне підвищення схожості відзначали у квітні (28,3 %), а максимальні показники (85–90 %) – у травні–червні. Передпосівне замочування свіжозібраного насіння у розчині $ГК_3$ концентрацією 1000 мг/л підвищувало схожість до 95 %. Під час дослідження вегетативного розмноження тестували середовища МС/2 без сахарози, доповнені індолілоцтовою кислотою (ІОК), $ГК_3$ та різними концентраціями кінетину. Найефективніше розмноження спостерігалося на середовищі з 0,5 мг/л ІОК, 0,5 мг/л $ГК_3$ та 0,05 мг/л кінетину. Підвищення концентрації $ГК_3$ до 1,0 мг/л і додавання 1-нафтилоцтова кислота (НОК) пригнічувало ріст та викликало морфологічні аномалії.

Мікроклональне розмноження значною мірою залежить від типу експланта, складу живильного середовища та умов культивування, при цьому ключову роль відіграють фітогормони. У дослідах із *P. minima* на середовищі МС/2, модифікованому різними комбінаціями 6-бензиламінопурином (БАП), НОК, ІОК, $ГК_3$ та кінетину, встановлено оптимальний варіант: 0,2 мг/л ІОК, 0,7 мг/л $ГК_3$, 0,03 мг/л кінетину та 0,01 мг/л БАП. За цих умов утворювалося в середньому 2,3 мікроклони на один живець.

Отже, підібрано умови для отримання та мікроклонального

розмноження рослин виду *P. minima.* Підтверджено, що насіння *P. minima* здатне проростати одразу після збору, а найефективнішою стерилізацією є обробка 5%-ним розчином H_2O_2 протягом 1 години (ефективність 97–99%). Також встановлено, що найкращі результати вегетативного розмноження досягаються на середовищі МС/2 з додаванням 0,5 мг/л ІОК, 0,5 мг/л ГК$_3$ та 0,05 мг/л кінетину.

Список літератури

1. Baskin C. C., Baskin J. M. Seeds: ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination. *2nd ed. San Diego: Academic Press*. 2014. 1586 p.
2. Kozak O., Didukh Y. Assessment of mountain ecosystems changes under anthropogenic pressure in Latorica river basin (Transcarpathian region, Ukraine). *Ekologia*. 2014. Vol. 33, No. 4. -P. 365–379.
3. Peng D.-L., Yang L.-E., Yang J., Li Z.-M. Seed dormancy and soil seed bank of the two alpine Primula species in the Hengduan Mountains of Southwest China. *Frontiers in Plant Science*. 2021. Vol. 12. Art. 582536. DOI: https://doi.org/10.3389/fpls.2021.582536
4. Shimono Y., Kudo G. Germination requirements of alpine Primula species. *Plant Species Biology*. 2005. Vol. 20, Issue 1. P. 3–15. https://doi.org/10.1111/j.1442-1984.2005.00127.x
5. Yue W., Ming Q.L., Lin B., Rahman K., Cheng Z., Han T., Qin L.P. Medicinal plant cell suspension cultures: Pharmaceutical applications and high-yielding strategies for the desired secondary metabolites. *Critical Rev Biotechnol*. 2016. N 36 (2). 1–18.