

УДК 581.143.6: 581.116:633.88

Г. А. Зеленіна, мол. наук. співроб.

Південний біотехнологічний центр у рослинництві УААН,
Овідіопольська дорога, 3, м. Одеса, 65036, Україна,

МІКРОРОЗМНОЖЕННЯ ТА ОСОБЛИВОСТІ ВОДНОГО ОБМІНУ РЕГЕНЕРАНТІВ *ARNICA FOLIOSA* NUTT.

Вивчено стан водного обміну регенерантів цінної лікарської рослини *Arnica foliosa* Nutt. (арніка листяна) на послідовних етапах культивування: мікророзмноженні, акліматизації та в польових умовах. Встановлено, що стресові умови культивування *in vitro* значно впливають на вміст води, інтенсивність транспірації та ступінь розкриття продохів рослин-регенерантів, які поступово нормалізуються в процесі акліматизації в теплиці та в польових умовах.

Ключові слова: мікророзмноження, регенеранти, водний обмін, продохи, акліматизація.

Arnica foliosa Nutt. — цінна лікарська рослина родини Айстрових, перспективна для введення в промислову культуру на півдні України [1]. Для створення промислових плантацій виду доцільно збільшити коефіцієнт розмноження за допомогою методів *in vitro*. Незважаючи на сучасні досягнення в галузі біотехнології рослин, залишається багато невирішених питань, що стосуються акліматизації рослин-регенерантів до умов *in vivo*, за якими гине від 50 до 100% регенерантів [2–4]. Тому, проблема підвищення життєздатності регенерантів залишається актуальною. Раніше [5] нами запропонована методика масового отримання та вкорінювання пагонів *Arnica foliosa* в культурі *in vitro*. Враховуючи особливості рослин-регенерантів [3], для оцінки їх життєздатності в даній роботі використовували біометричні та фізіологічні показники, які є найбільш чутливими до впливу стресових умов в культурі *in vitro*, — такі як інтенсивність транспірації, вміст води в тканинах, кількість та розміри продохів регенерантів на трьох послідовних етапах культивування: I — розмноження та вкорінювання *in vitro*; II — акліматизація рослин-регенерантів в умовах теплиці; III — подальша акліматизація в польових умовах.

Матеріали і методи

Культивування *in vitro* провадили на агаризованих живильних середовищах за прописом Мурасіге і Скуга [6]. Експланти — вузлові сегменти стебла — культивували на середовищах з доданням 6-бензиламінопурина (6-БАП) та індолілоцтової кислоти (ІОК). Через 1 місяць від кожного експланту отримували пучки пагонів. Окремі пагони висаджували на безгормональне середовище з половиною конче-

нтрацією мінеральних елементів та додаванням 1 г/л активованого вугілля, де вони через 3–4 тижні вкорінювались. Отримані рослини-регенеранти переносили у торфо-перлітний субстрат (1:1) и дорощували в умовах підвищеної вологості повітря у теплиці протягом одного місяця. Після цього рослини переносили в польові умови, де вони нормально розвивалися та вже на другий рік цвіли. Інтенсивність транспірації визначали в зрізаних листках за методикою Іванова [7], ступінь розкриття продихів на фіксованому епідермісі — методом Ллойда [7], вміст води — ваговим методом [7]. Отримані числові дані обробляли статистичними методами для малих вибірок [8].

Результати дослідження та їх аналіз

Стресові умови, які складаються при культивуванні рослин *in vitro*, — такі як: водний потенціал поживних середовищ в десять разів нижчий ґрунтового, високі концентрації агару, підвищена вологість, вплив регуляторів росту — створюють особливий водний режим регенерантів, зменшуючи ефективність клонального розмноження [3, 4]. Відсутність рушійної сили транспірації — градієнта водного потенціалу між рослиною і повітрям — викликає постійно відкритий стан продихів, а при тривалому культивуванні *in vitro* призводить до втрати продихами здібності закриватися [9]. Особливий стан водного обміну регенерантів *Arnica foliosa* та його нормалізація в процесі акліматизації підтверджені в наших дослідженнях. Результати наведені в табл. 1 і на рис. 1.

Таблиця 1

Особливості водного обміну регенерантів *Arnica foliosa* Nutt. на послідовних етапах культивування

Етапи мікроклонального розмноження	Кількість продихів на одиницю площі листка, шт./см ²	Інтенсивність транспірації, мг води/см ² х год.	Вміст води в тканинах листка, % від сирої маси
Мікроклонування <i>in vitro</i>	4025 ± 87	0 360 ± 14*	98 ± 5
Акліматизація в умовах теплиці	2225 ± 48	21,0 ± 1,1	91 ± 4
Акліматизація в польових умовах	4800 ± 115	4,6 ± 0,2	75,5 ± 4,0

* — інтенсивність транспірації регенерантів через 5 хвилин після вилучення з культуральної колби

Нами показано, що ступінь розкриття продихів максимальна на етапі культивування *in vitro*. Кількість продихів на одиницю площі листка за період акліматизації в теплиці зменшується майже вдвічі, далі цей показник знову збільшується, перевищуючи рівень *in vitro*.

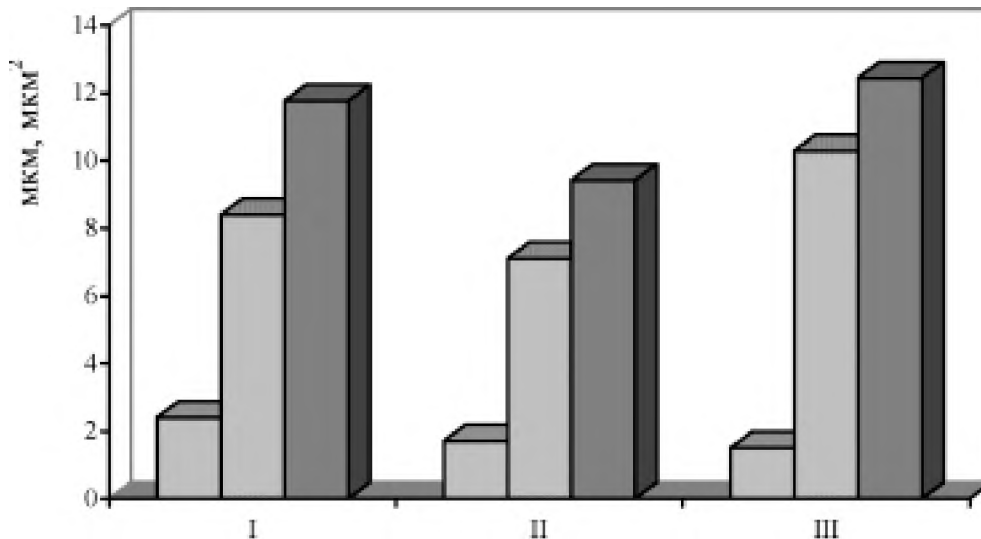


Рис. 1. Розміри продихових отворів регенерантів *Arnica foliosa* на послідовних етапах культивування:

I — мікророзмноження *in vitro*; II — акліматизація в умовах теплиці;

III — акліматизація в польових умовах;

■ — ширина; ■ — довжина; ■ — площа

Можна припустити, що таке зменшення кількості продихів на одиницю площі листка пов'язано зі значним ростом останнього на II етапі, а також із впливом накопичених в тканинах цитокінінів, які гальмують утворення продихів [10]. Аналогічна закономірність простежується і для загальної площі продихових отворів, але на I та III етапах цей показник залишається на рівні, характерному для цього виду рослин.

З'ясувалося, що при вирощуванні в умовах *in vitro* продихи регенерантів постійно відкриті, транспірація відсутня, а при різкому переміщенні рослин-регенерантів до природних умов інтенсивність транспірації сягає дуже високого рівня (табл. 1), що може привести, згідно з даними літератури [4], іноді до 100 % втрати розсади. Тому проміжний етап культивування — акліматизація при підвищеній вологості повітря в теплиці, де інтенсивність транспірації поступово знижується, є необхідним. Після акліматизації регенеранти пересаджують в польові умови, де інтенсивність транспірації остаточно нормалізується, знижуючись майже на два порядки. Поступово зменшується також і вміст води в тканинах рослин-регенерантів. На I етапі кількість води дуже висока, що узгоджується з даними літератури [3, 4]. На II та III етапах цей показник поступово нормалізується.

Таким чином, нами доведена можливість відновлення нормального водного обміну та функціонування продихового апарату рослин-регенерантів при поступовому знятті водного стресу на II етапі розмноження *in vitro* за акліматизації в теплиці.

Висновки

1. Водний обмін рослин-регенерантів *Arnica foliosa* за їх вирощування *in vitro* і *in vivo* істотно змінюється. Регенерантам *in vitro* властиві постійно відкритий стан продихів, відсутність транспірації та значний вміст води в тканинах.

2. Зміна умов вирощування регенерантів на умови *in vivo* збільшує інтенсивність транспірації майже на два порядки, що викликає необхідність акліматизації рослин у теплиці в умовах підвищеної вологості протягом одного місяця. При цьому водний обмін рослин поступово нормалізується.

Література

1. Геринг Х. Преодоление витрификации и улучшение акклиматизации растений при клональном микроразмножении // Биол. культивир. клеток и биотехнол. раст. — М.: Наука. — 1991. — С. 197–200.
2. Гиголашвили Т. С., Реуцкий В. Г., Родькин О. И. Особенности водообмена ассимиляционной ткани *Solanum* в условиях *in vitro* и *in vivo* // Физиол. и биохим. культ. раст. — 1997. — Т. 29, № 6. — С. 461–467.
3. Зеленина Г. А. Мікроклональне розмноження та фізіологічні особливості *Arnica foliosa* Nutt. // Вісник Одеського Національного Університету. — 2004. — Т. 9, Вип. 2. — С. 63–66.
4. Лакін Г. Ф. Биометрия. — М.: Высшая школа, 1990. — 352 с.
5. Koshuhova S., Zoglauer K., Goring H. Loss of function of guard cell of in-vitro-cultured plants and its restitution: avoidans of vitrification and improvement of acclimatization // Colloquia Pflanzenphysiologie "Stomata-89", Humboldt-Universitat zu Berlin. — 1989. — № 13. — P. 38–46.
6. Собко В. Г., Дубенец Т. Г. К вопросу об интродукции видов растений рода Арника // II конф. по мед. бот.: Тез. докл. — Киев, 1988. — С. 170–171.
7. Бленда В. П., Бленда А. В., Созінов О. О., Іваненко І. В. Особливості реадптації підщеп кісточкових культур, отриманих мікроклональним розмноженням, до умов відкритого ґрунту // Физиол. и биохим. культ. раст. — 1998. — Т. 30, № 3. — С. 225–229.
8. Ziv M., Schwartz A., Fleminger D. Malfunctioning stomata in vitreous leaves of carnation plants propagated in vitro: Implication for hardening // Plant Sci. — 1987. — 52. — P. 127–134.
9. Практикум по физиологии растений / Под общ. ред. Третьякова Н. Н. — М.: Агропромиздат. — 1990. — 271 с.
10. Murashige T., Skoog F. A revised medium for a rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultured // Physiol. Plant. — 1962. — № 3, ed. 15. — P. 473–497.

Г. А. Зеленина

Южный биотехнологический центр в растениеводстве УААН,
Овидиопольская дорога, 3, г. Одесса, 65036, Украина,

МИКРОРАЗМНОЖЕНИЕ И ОСОБЕННОСТИ ВОДНОГО ОБМЕНА РЕГЕНЕРАНТОВ *ARNICA FOLIOSA* NUTT.

Резюме

Проведено изучение водного обмена регенерантов ценного лекарственного растения *Arnica foliosa* Nutt. (арника облиственная). на последовательных этапах:

микроразмножения, акклиматизации и в полевых условиях. Установлено, что стрессовые условия культивирования *in vitro* значительно влияют на содержание воды, интенсивность транспирации и степень открытия устьиц растений-регенерантов, которые постепенно нормализуются в процессе акклиматизации в теплице и в полевых условиях.

Ключевые слова: микроразмножение, регенеранты, водный обмен, устьица, акклиматизация.

G. A. Zelenina

South Ukrainian Biotechnology Center
Ovidiopolskaya doroga 3, Odessa, 65036, Ukraine

MICROPROPAGATION AND THE FEATURES OF WATER EXCHANGE OF *ARNICA FOLIOSA* NUTT.

Summary

Water metabolism investigation of the regenerants of the valuable medicinal plant *Arnica foliosa* Nutt. has been conducted. It is established the stressful conditions *in vitro* considerably influence on water consistent, rate evaporation and stomata parameters of multiple plantlets, which are normalized after further acclimatization in greenhouse and field.

Keywords: micropropagation, plantlets, water exchange, stomata, acclimatization.