

УДК 581.143.6: 581.116:633.88

Г. А. Зеленіна, асп.Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова, кафедра ботаніки,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна

МІКРОКЛОНАЛЬНЕ РОЗМНОЖЕННЯ ТА ФІЗІОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ РЕГЕНЕРАНТІВ *ARNICA FOLIOSA* NUTT.

Розроблено методику мікроклонального розмноження цінної лікарської рослини *Arnica foliosa* Nutt. Підбрано склад живильних середовищ для отримання максимальної кількості пагонів та їх вкорінювання. Встановлено, що склад живильних середовищ значно впливає на біометричні показники та вміст основних пігментів рослин-регенерантів і визначає їх життєздатність.

Ключові слова: мікроклональне розмноження, живильні середовища, регенеранти, пігменти.

Arnica foliosa Nutt. (Арніка листяна) — північноамериканський вид родини Астрових, за своїми лікарськими властивостями здатний замінювати рідкісний вид *Arnica montana* L. [1]. При інтродукції встановлено перспективність розсадного розмноження *A. foliosa* [2]. Для масового отримання розсади доцільно використовувати мікроклональне розмноження *in vitro*. Нами розроблена методика регенерації та вкорінювання пагонів в культурі *in vitro*. Для оцінки життєздатності регенерантів вивчали біометричні показники та вміст основних пігментів.

Матеріали і методи дослідження

Культивування *in vitro* провадили на агаризованих живильних середовищах Мурасіге і Скуга (МС) [3]. Експланти — вузлові сегменти стебла — вирощували на середовищах з додаванням цитокінінів та індолілоцтової кислоти (ІОК). Культивування здійснювали за таких умов: температура — 18–20 °С, освітлення — 10 000 лк, фотоперіод — 16 год. Через місяць від кожного експланта отримували до 10 пагонів. Пагони вкорінювали на середовищах з половинною концентрацією мінеральних елементів у середовищі МС та доданням активованого вугілля. Кількісне визначення пігментів у сирому матеріалі провадили на спектрофотометрі СФ-10. Пігменти екстрагували 80 %-ним ацетоном за загальноприйнятою методикою [7]. Вміст пігментів розраховували з допомогою формул Мак-Кінні та Веттштейна [7]. Отримані числові дані обробляли статистичними методами для малих вибірок [8].

Результати дослідження та їх аналіз

Для перших двох стадій культивування *in vitro* нами з'ясовано оптимальний склад живильних середовищ. Результати дослідів по підборі живильних середовищ для мікроклонального розмноження наведено у табл. 1.

Таблиця 1

Вплив вмісту цитокинінів та індолілоцтової кислоти в живильному середовищі на ефективність мікроклонального розмноження *Arnica foliosa* Nutt.

№ п/п	Варіанти компонентів живильного середовища МС	Кількість експлантів, які формують пагони, %	Кількість пагонів від одного експланта, (M±m)	Отримання пагонів від 100 експлантів, шт.
1	2 мг/л ІОК 2 мг/л БАП	50±2	5,5±0,3	495±24
2	4 мг/л БАП	100±4	4,4±0,2	400±20
3	2 мг/л ІОК 2 мг/л кінетину	83±2	6,0±0,3	500±25
4	4 мг/л кінетину	35±1	1,0±0,05	35±2

В результаті проведених дослідів підібрано оптимальну концентрацію фітогормонів у поживному середовищі МС для мікроклонального розмноження *A. foliosa* Nutt. Оптимальне середовище має вміщати по 2 мг/л 6-бензиламінопурину (БАП) та індолілоцтової кислоти (ІОК), що дає можливість отримувати максимальну кількість пагонів від кожного експланта. Відмічено, що кінетин стимулює максимальне утворення пагонів тільки у комбінації з ІОК (1:1), тоді як БАП виявляє таку реакцію самостійно, а ІОК лише посилює його дію.

Отримані пагони добре вкорінюються в культурі *in vitro* без додавання фізіологічно активних речовин, тому на другій стадії мікроклонального розмноження вивчали вплив мінеральних елементів та активованого вугілля на розвиток пагонів. За показники розвитку пагонів використовували біометричні дані та вміст пігментів. Дані про це відображені в табл. 2 і 3.

З таблиці 2 видно, що стандартна за прописом концентрація мінеральних елементів у середовищі МС пригнічує, а зменшена вдвоє — стимулює утворення кореневої системи та розвиток пагонів. Додавання активованого вугілля посилює стимулюючий ефект — збільшується кількість листків та корінців на рослині, довжина пагона зростає в 1,5 рази, а загальна довжина корінців — більш ніж удвічі. Таким чином, середовище МС з половинною концентрацією мінеральних елементів і з додаванням 1 г/л активованого вугілля є найкращим для вкорінювання та розвитку регенерантів *A. foliosa* Nutt. Аналогічно впливає зазначений склад живильного середовища і на вміст пігментів у листках рослин-регенерантів (табл. 3).

Таблиця 2

Вплив різних концентрацій мінеральних елементів та активованого вугілля в живильних середовищах на вкорінювання та розвиток регенерантів *A. foliosa* Nutt.

Варіанти живильного середовища по МС	Кількість листків на одну рослину, шт.	Довжина надземної частини, мм	Кількість коренів на одну рослину, шт.	Сумарна довжина коренів, мм	Сира маса надземної частини, мг
Повна МС	7,2±0,4	28,3±1	0	0	67,2±3
Половинна МС	10,8±0,5	71,5±3	2,5±0,2	101,8±5	150,0±7
Половинна МС + 1 г/л акт. вугілля	11,5±0,5	98,8±5	3,4±0,2	222,4±11	122,3±6

Таблиця 3

Вміст пігментів у листках регенерантів *A. foliosa* Nutt. в залежності від складу живильного середовища (мг/г сирової маси листків)

Варіанти поживного середовища	Хлорофіл "а"	Хлорофіл "в"	Хлорофіли (а+в)	Хлорофіли (а/в)	Каротиноїди	Хлорофіли (а+в)/ каротиноїди
МС	0,14±0,01	0,07±0,01	0,21± 0,01	2,0±0,1	0,09±0,01	2,3±0,1
Половинна МС	0,74±0,04	0,28±0,02	1,02± 0,05	2,6±0,1	0,36±0,02	2,8±0,1
Половинна МС + 1 г/л акт. вугілля	1,15±0,06	0,53±0,03	1,68± 0,08	2,2±0,1	0,59± 0,03	2,8±0,1

Вміст основних пігментів у листках регенерантів залежить від складу середовища, на якому культивувалися рослини. Зменшення вдвічі концентрації мінеральних солей та додання активованого вугілля збільшує цей показник майже в десять разів. Однак, при значних коливаннях абсолютних показників співвідношення хлорофілів "а" і "в" залишається в межах 2,0–2,5, що властиве рослинам з нормальним станом фізіологічних процесів [4–6].

Ця робота була виконана під керівництвом нині покійного кандидата біологічних наук, завідуючого кафедрою ботаніки, доцента Ковалев Володимира Тимофійовича.

Література

1. Аксельрод Д. М., Бережинская В. В. Культура арник и их значение для медицинской промышленности // Мед.пром-ность СССР. — 1958. — №12. — С. 19–22.
2. 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.

3. *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.
4. *Angelov B. T., Velthev V. A., Moskov I. A.* In vitro methods for research in strawberries // *Embriology and seed reproduction: XI Int. Symp., Leningrad, 1990.* — P. 11.
5. *Казакова Е. А.* Динамика некоторых фотосинтетических показателей в процессе культивирования первичного каллуса картофеля / Тр. 3-й молод. конф. ботан. Ленинграда. — Ленинград, 1990. — С. 72–82.
6. *Быков О. Д., Казакова Е. А.* Фотосинтез в культуре первичного каллуса картофеля / Фотосинтез и фотобиотехнология: Тез. докл. и сообщ. Междунар. конф. — Пущино, 1991. — С. 106–107.
7. *Фотосинтез: Методические указания к проведению спецпрактикума / Сост. Коваль В. Т.* — Одесса: ОГУ. — 1990. — 28 с.
8. *Доспехов В. А.* Методика полевого опыта. — М.: Колос. — 1979. — 417 с.

Г. А. Зеленина

Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова, кафедра ботаники,
ул. Дворянская 2, Одесса, 65026, Украина

МИКРОКЛОНАЛЬНОЕ РАЗМНОЖЕНИЕ И ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РЕГЕНЕРАНТОВ *ARNICA FOLIOSA* NUTT.

Резюме

Разработана эффективная методика микроклонального размножения ценного лекарственного растения *Arnica foliosa* Nutt. (Арника облиственная). Подобраны оптимальные составы питательных сред для получения максимального количества побегов и их укоренения. Установлено, что состав питательных сред значительно влияет на биометрические показатели и содержание пигментов, что определяет жизнеспособность регенерантов.

Ключевые слова: микроклональное размножение, питательные среды, регенеранты, пигменты.

G. A. Zelenina

Odessa I. I. Mechnikov National University, Department of Botany,
Dvoryanskaya St., 2, Odessa, 65026, Ukraine

MICROPROPAGATION AND PHYSIOLOGICAL FEATURES OF *ARNICA FOLIOSA* NUTT.

Summary

Effective method of micropropagation of valuable medicinal plants of *Arnica foliosa* Nutt. was developed. Structure of nutrient medium for micropropagation and shootrooting was carried. It is established that structure of nutrient medium considerably influence biometric parameters and pigments contents of multiple plantlets.

Keywords: micropropagation, nutrient medium, plantlets, pigments, evaporation.