

І.С. КОСЕНКО¹, А.М. ЛАВРЕНТЬЄВА²¹ Дендрологічний парк "Софіївка" НАН України
Україна, 20300 м. Умань, вул. Київська, 12а² Національний ботанічний сад ім. М.М. Гришка НАН України
Україна, 01014 м. Київ, вул. Тімірязєвська, 1

РОЗРОБКА МЕТОДУ НАСІННЕВОГО РОЗМНОЖЕННЯ ВИДІВ РОДУ *CORYLUS* L. В КУЛЬТУРІ *IN VITRO*

Наведено результати вивчення насінневого розмноження п'яти видів роду *Corylus* L.: *C. colurna* L., *C. seiboldiana* Blume, *C. maxima* Mill., *C. mandshurica* Maxim., *C. avellana* L. Встановлено, що розроблений метод значно підвищує коефіцієнт розмноження, що дає змогу отримати масовий посадковий матеріал.

Останнім часом значна увага приділяється дослідженню в культурі *in vitro* деревних порід рослин з метою скорочення тривалості їхнього життєвого циклу та отримання оздоровленого посадкового матеріалу. Особливо це стосується тих деревних видів, які важко вкорінюються. До таких культур слід віднести і види роду *Corylus* L. Розмноження їх вегетативним шляхом, зокрема живцюванням, є актуальною проблемою. Але водночас це дуже складний процес, який залежить від багатьох факторів. Вирішення цього питання може бути досягнуто за допомогою ефективного методу розмноження в культурі *in vitro* [1, 10].

У зв'язку з цим заслуговують на увагу роботи, присвячені насінневному розмноженню в культурі *in vitro* цінних господарських видів дерев, які повільно і з великими труд-

нощами розмножуються вегетативно. Так, наприклад, сіянці дуба були отримані на поживних середовищах Халупи (БТМ) та Вуді плант медіум (ВПМ) з низьким вмістом БАП (0,2–0,8 мг/л). Слід зазначити, що навіть на цих оптимальних середовищах укорінювалось 5–10% сіянців.

Після того, як сіянці підростали, їх живцювали і вкорінювали на поживних середовищах з ІМК [11–13]. Інші дослідники встановили, що морфогенна активність експлантів дуба залежить від генотипу материнської рослини [9].

Не менш важливе значення мають і умови культивування. Проростання насіння, ріст сіянців і експлантів відбувалися краще при постійному освітленні 8–10 клк [14]. З використанням цієї методики були отримані сіянці осики [8].

У літературі ми не знайшли жодних даних стосовно вирощування сіянців ліщини

в культурі *in vitro*. Зважаючи на високу декоративність і господарську цінність видів цього роду доцільним є розробка методу їх насінневого розмноження в культурі *in vitro*.

Роботи з насінневого розмноження проводили в асептичних умовах. Для стерилізації насіння використовували такий режим: насіння без твердої оболонки в марлевих мішечках послідовно занурювали спочатку у 20%-ний розчин хлористого вапна (20 хв.), а потім у 15%-ний перекис водню (15 хв.). Після кожного стерилізатора насіння 3–4 рази промивали у стерильній дистильованій воді. Для пророщування насіння використовували поживні середовища Кнудсона [7], Мурасіге-Скуга [15], Піріка [16] та їхні модифікації. Колби з насінням культивували в темряві, при температурі 25–27°C, відносній вологості повітря 70%, фотоперіоді — 16 год.

Об'єктами дослідження були *Corylus colurna L.*, *C. sieboldiana* Blume, *C. maxima* Mill., *C. mandshurica* Maxim., *C. avellana* L.

При насінневому розмноженні в культурі *in vitro* використовували насіння, зібране восени минулого року і те, що почало проростати навесні. Для цього у березні–квітні пучки горіхів викопували з ґрунту, промивали, звільняли від твердої оболонки і лише

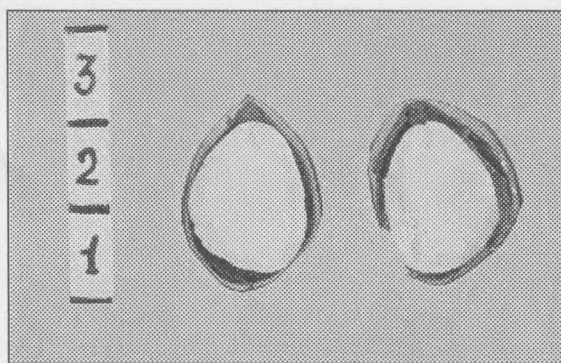


Рис. 1. Горіхи ліщини деревовидної, які використовували для розмноження (у розрізі)

потім стерилізували. Горіхи з твердою оболонкою не проростали зовсім. Слід зазначити, що горіхи, які викопували навесні, після стерилізації виявилися більш інфікованими, ніж ті, що зберігалися з осені. Горіхи, що використовували в досліджах, мали здорове ядро та зародок 3–4 мм завдовжки і 2–3 мм завширшки (рис. 1).

Спроби культивувати виділені зародки не дали позитивних результатів. Вони або не розвивались, або гинули на ранніх етапах. Стерильне насіння розміщували на поживне середовище Кнудсона з 2 мг/л аденіну і культивували в темряві. Слід зауважити, що класти горіх на поживне середовище потрібно вузьким кінцем, оскільки там розташований зародок (рис. 2).

Тривалість проростання насіння і розвитку сіянців п'яти видів роду *Corylus L.* у культурі *in vitro*, кількість днів

Фаза онтогенезу	Вид				
	<i>C. colurna</i>	<i>C. sieboldiana</i>	<i>C. maxima</i>	<i>C. avellana</i>	<i>C. mandshurica</i>
Початок проростання	3	4	10	5	7
Утворення кореня	13	15	20	15	18
Початок розвитку листків	30	35	40	32	32
Рослини з 2–3 листками та добре розвиненим корінням (довжина рослини 10 см)	60	67	72	64	68

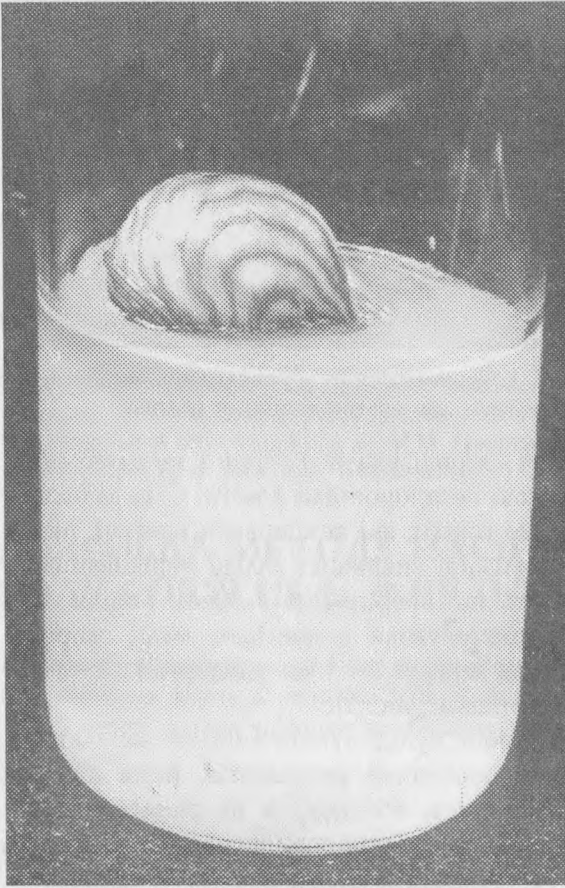


Рис. 2. Насінина (горіх) на поживному середовищі



Рис. 3. Початок проростання горіха (утворення кореня) у *Corylus avellana*

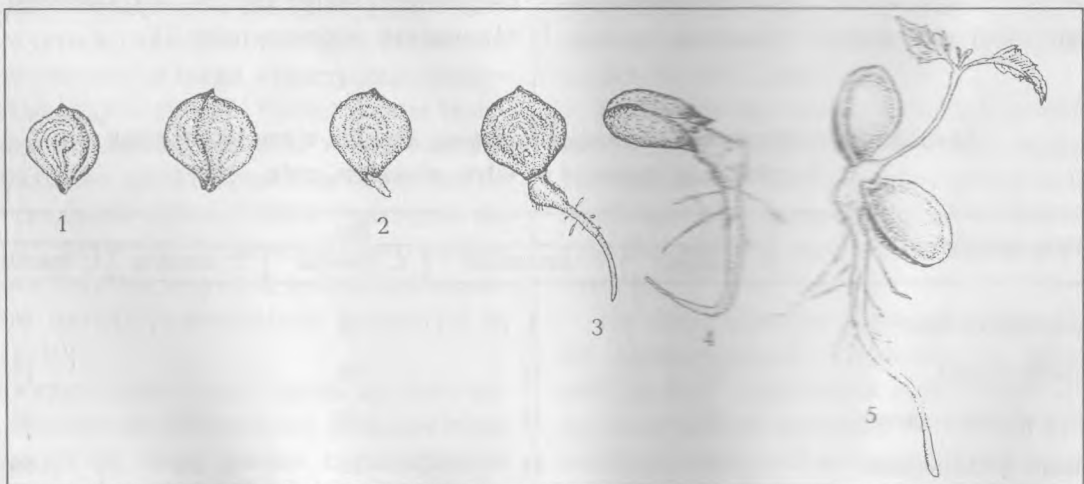


Рис. 4. Етапи проростання насіння видів роду *Corylus* в культурі *in vitro*:
1 — насінина (горіх); 2 — початок утворення кореня; — 3–4 — ріст кореня та його галуження; 5 — сіянець ліщини, готовий до висадки у субстрат

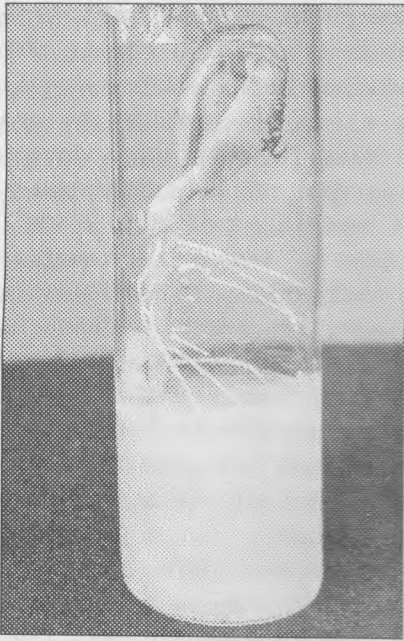


Рис. 5. Початок утворення пагона у *Corylus maxima*

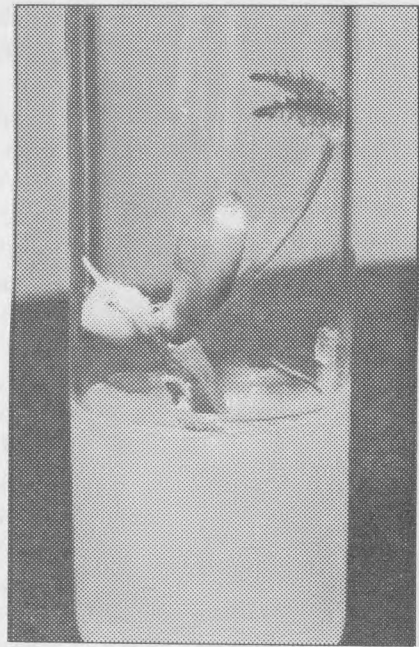


Рис. 6. Утворення пагона у *Corylus avellana*

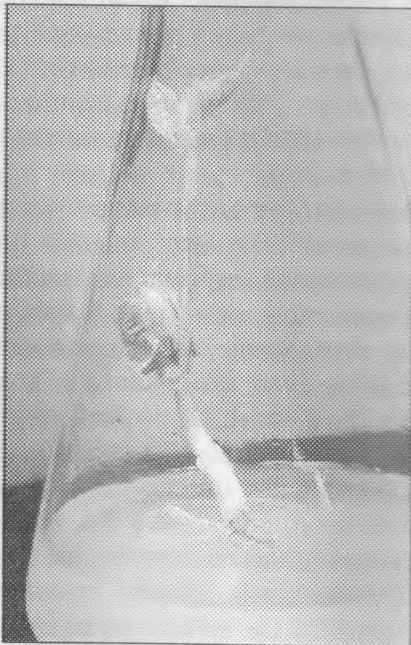


Рис. 7. Сіянець *Corylus mandshurica* на поживному середовищі (перед висадкою у субстрат)

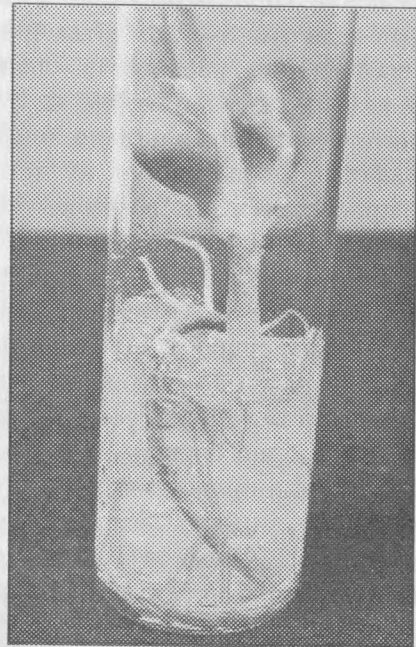


Рис. 8. Утворення пазушних пагонів у *Corylus seiboldiana*

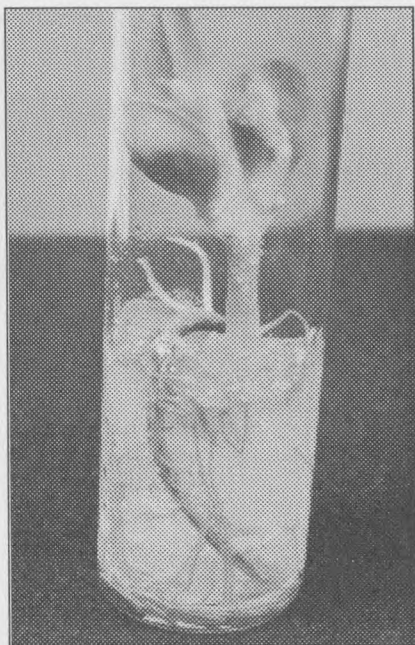


Рис. 9. Диференціація калусу на сегментах листків сіянців *Corylus avellana*

Після появи корінця пробірки з горіхами переносили ближче до світла (рис. 3). Етапи проростання насіння та сіянців в культурі *in vitro* наведено на рис. 4.

Аналізуючи отримані дані (див. таблицю), слід зазначити, що в культурі *in vitro* тривалість проростання та розвитку сіянців різних видів горіха майже однакова. Найпершим проростає насіння *C. colurna* (на 3-й день), останнім — *C. maxima* (на 10-й день). Дещо пізніше проростання *C. maxima* ми пов'язуємо не тільки з невеликими розмірами горіхів цього виду, а й з тим, що вони перебували ще у стані спокою. В той же час насіння *C. colurna* проростало значно швидше, ніж у інших видів. Ми вважаємо, що це пов'язано з найбільшими розмірами горіхів цього виду, а також з тим, що їхня тверда оболонка навесні була вже розколота, і процес проростання розпочався вже в ґрунті.

У цілому, насіння проростає впродовж 60–72 днів залежно від виду. Через 2–3 тижні утворюється корінь, який починає

інтенсивно рости, над поверхнею середовища з'являються повітряні корінці спочатку білого, а згодом коричневого кольору.

Через місяць після посіву сім'ядолі набувають зеленого забарвлення. Іноді тонка шкірка на них тріскається тільки знизу, сім'ядолі злегка розходяться, і між ними можна бачити зелені листочки пагона (рис. 5). Найчастіше сім'ядолі розходяться в різні боки, вивільнюючи молодий пагін (рис. 6). Далі, впродовж одного місяця відбувається інтенсивний ріст сіянця, з'являються корені 2-го та 3-го порядку. На цей час довжина сіянця досягає 10 см, він має 4 листочки і готовий до висадки у субстрат (рис. 7).

Було встановлено також, що підвищення вдвічі концентрації аденіну в поживному середовищі веде до активізації пазушних бруньок і утворення пагонів. Крім того, ми проводили живцювання отриманих сіянців. Це знімало апікальне домінування і сприяло активному росту пазушних меристем (рис. 8). Такими прийомами було збільшено кількість сіянців у кілька разів. Отримані сіянці укорінювали на поживному середовищі з ІОК (5 мг/л), НОК (2 мг/л) та активованим вугіллям (0,5 мг/л).

За результатами досліджень було також встановлено, що сегменти кореня, листків, стебла, сім'ядолей отриманих сіянців можуть використані як вторинні експланти. Поживне середовище, на яке висаджували ці експланти, було модифіковане додаванням 2,4-Д (2–5 мг/л). Позитивні результати отримані лише у випадку використання як експланта сегментів листків. На них вдалося індукувати калус.

Найбільша кількість калусу, як правило, проліферувала в місцях зрізу та по жилках листків (рис. 9). Це явище, на нашу думку, пояснюється високою морфогенною активністю цих зон, які містять велику кількість клітин з досить високим мітотичним потенціалом. У культурі *in vitro* вони,



очевидно, функціонують як меристематичні клітини, формуючи калус [2]. Було встановлено також, що швидкість та активність калусоутворення не залежить від видових особливостей рослин. Проліферація калусу на сегментах листків сіянців всіх видів розпочиналась через 60–65 днів після початку експерименту.

Отриманий калус відділяли та культивували на поживному середовищі Піріка для його розмноження. Вже в процесі субкультивування на ньому почали регенерувати пагони. Їх відокремлювали від калусу і переносили на інше поживне середовище для укорінення. Процес коренеутворення відбувався дуже повільно, а у деяких пагонів так і не вдалося його досягти. На нашу думку, і на думку деяких інших дослідників, це пов'язано з наявністю великої кількості фенолів у клітинах, які дуже гальмують цей процес [3–6]. Додавання активованого вугілля до поживного середовища дещо знижувало негативний вплив фенолів. Однак збільшення концентрації вугілля призводило до адсорбції ним компонентів поживного середовища. Для з'ясування цього явища потрібні подальші дослідження.

Таким чином, було розроблено метод насіннєвого розмноження видів ліщини в культурі *in vitro*, що дає змогу значно збільшити коефіцієнт розмноження та отримати додатковий посадковий матеріал цієї цінної культури.

1. Бутенко Р.Г. Биотехнология. — М.: Наука, 1984. — 380 с.

2. Бутова Г.П. Использование изолированных культур для вегетативного размножения древесных растений // Достиж. лес. генет., селекции, семеновод., интродукции и сортоиспытания. Матер. 3-й науч. конф. науч. сотр. ЦНИИ лес. генет. и селекции. — Воронеж, 1984. — С. 4–5.

3. Катаева Н.В., Бутенко Р.Г. Клональное микроразмножение растений. — М.: Наука, 1983. — 96 с.

4. Турецкая Р.Х. Физиология действия регуляторов роста при размножении растений черенками // Успехи совр. биологии. — 1955. — 40, № 1 (4). — С. 68–77.

5. Турецкая Р.Х. Физиология корнеобразования у черенков и стимуляторы роста. — М.: Изд-во АН СССР, 1961. — 280 с.

6. Турецкая Р.Х., Гуськов А.В., Блайс В. и др. Возможная роль фенольных соединений в росте и ризогенезе черенков // Физиол. раст. — 1976. — 23, № 4. — С. 760–768.

7. Черевченко Т.М., Кушнир Г.П. Орхидеи в культуре. — К.: Наук. думка, 1986. — 200 с.

8. Ahuja M.R. Somatic cell differentiation and rapid clonal propagation of aspen // Silvae genet. — 1983. — N 3–4. — P. 131–135.

9. Bennett L. Tissue culture of oaks and redbuds. Comb. Proc. Intern. Plant Propagations' Soc. — 1987. — 36. — P. 421–426.

10. Bonga J.M., Durzan D.I. Tissue culture in forestry. The Hague, Nijhoff. — 1982. — 245 p.

11. Chalupa V. Micropropagation of conifer and broad-leaved forest tree // Communicationes Inst. Forestalls — Czechosloveniae. — 1983. — 13. — P. 7–39.

12. Chalupa V. Plant tissue and cell culture application to crop improvement. — Prague: Czechosl. Acad. Sci., 1984. — 546 p.

13. Chalupa V. In vitro propagation of oak (*Quercus robur L.*) and linden (*Tilia cordata Mill.*) // Biol. plant. — 26, N 5. — P. 374–377.

14. Favre J.M., Juncker B. In vitro growth of buds taken from seedlings and adult plant material in *Quercus robur L.* // Plant Cell., tissue and organ. culture. — 1987. — 8, N 1. — P. 49–60.

15. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // Physiol. plant. — 1962. — 15, N 3. — P. 473–497.

16. Pierik R.L.M. Anthurium andreanum plantlets produced from callus tissues cultivated in vitro // Physiol. plant. — 1975. — 37. — P. 80–82.

РАЗРАБОТКА МЕТОДА СЕМЕННОГО
РАЗМНОЖЕНИЯ ВИДОВ РОДА CORYLUS L.
В КУЛЬТУРЕ IN VITRO

*I.C. Kosenko*¹, *A.N. Lavrentyeva*²

¹ Дендрологический парк "Софиевка"
НАН Украины, Украина, г. Умань

² Национальный ботанический сад им. Н.Н. Гришко
НАН Украины, Украина, г. Киев

Приведены результаты изучения семенного размножения пяти видов рода *Corylus* L.: *C. colurna* L., *C. seiboldiana* Blume, *C. maxima* Mill., *C. mandshurica* Maxim., *C. avellana* L. Установлено, что разработанный метод значительно увеличивает коэффициент размножения, что дает возможность получить массовый посадочный материал.

IN VITRO PROPAGATION OF SPECIES
OF GENUS CORYLUS L. BY SEEDS

*I.S. Kosenko*¹, *A.N. Lavrentyeva*²

¹ Dendropark *Sofiyivka*, National Academy of
Sciences of Ukraine, Ukraine, Uman

² M.M. Grishko National Botanical Gardens,
National Academy of Sciences of Ukraine,
Ukraine, Kyiv

The results of investigation on seed propagation of five species of *Corylus* L.: *C. colurna* L., *C. seiboldiana* Blume, *C. maxima* Mill., *C. mandshurica* Maxim., *C. avellana* L. are adduced. We determined that the carried out method increases the coefficient of propagation and allows to get mass planting material.