

Список літератури

1. Голубець М.А. Сучасні проблеми лісознавства, лісівництва та лісового господарства / М.А. Голубець // Наукові праці ЛАНУ. – Львів: НУ „Львівська Політехніка”, 2003 – Вип. 2. – С.20 – 26.
2. Дебринюк Ю.М. Всихання смерекових лісів: причини та наслідки / Ю.М. Дебринюк // Науковий вісник НЛТУ України. – 2011. – Вип. 21.16. – С.32 – 38.
3. Кальной П.Г. К вопросу о причинах усыхания дуба черешчатого в зеленой зоне г. Киева / В.М. Маурер, П.Г. Кальной // Лесной журнал. – 1978. – №5. – С.4.
4. Маурер В.М. Повышение биолого-экологической устойчивости насаждений дуба черешчатого в зеленой зоне г. Киева лесокультурными методами: автореф. дис. на соискание ученой степени канд. с.-г. наук: 06.03.01 / В. М. Маурер. – К., 1980 – 26 с.
5. Мешкова В. Л. Сезонное развитие хвоелистогрызущих насекомых / В. Л. Мешкова. – Х.: Новое слово, 2009. – 396 с.
6. Морозов Г.Ф. О лесоводственных устоях / Г.Ф.Морозов – М.: Гослесбумиздат, 1962. – 28 с.

Рассмотрены причины массового усыхания ельников НПП «Синевир», охарактеризованы особенности их патогенеза, предложены пути повышения биологической устойчивости восстанавливаемых ценозов ели в регионе.

Массовое усыхание деревьев, этиология, патогенез, ельники, санитарно-оздоровительные мероприятия, санитарные рубки.

The causes of mass drying of spruce forests NNP "Sinevir", characterized by features of their pathogenesis and propose ways increase the biological stability restored cenoses spruce in the region.

Mass drying trees, etiology, pathogenesis, spruce, sanitary measures, snitarnye cutting.

УДК 602.4:561.47

ОСОБЛИВОСТІ ОТРИМАННЯ АСЕПТИЧНОЇ КУЛЬТУРИ *ARAUKARIA HETEROPHYLLA* (SALISB.) FRANCO.

**А.П. Пінчук, кандидат сільськогосподарських наук
О. В. Романенко, студентка магістратури***

Охарактеризовано особливості отримання асептичної культури Араукарії різнолистої. Запропоновано ефективну методику стерилізації експлантів.

Мікроклональне розмноження, експлантат, живильне середовище, рослина-регенерант, in vitro.

* Науковий керівник – кандидат сільськогосподарських наук, доцент А.П. Пінчук

© А.П. Пінчук, О.В. Романенко, 2014

Араукарія різнолиста є однією із найперспективніших рослин в озелененні інтер'єрів. Вона не тільки має гарний декоративний вигляд, але й виділяє фітонциди, чим оздоровлює життєвий простір людини.

Араукарія різнолиста (*A. heterophylla*) широко відома як кімнатна рослина в садівництві і під іншою назвою – Араукарія висока (*A. excelsa*). Її часто називають також «Норфолкською ялиною». Це гігантські дерева, що досягають 70-метрової висоти при діаметрі стовбура 1,5 – 2,0 м. Крона вузько-пірамідальна або широко-циліндрична.

Листя двох типів: голкоподібне – у молодих рослин і густо черешчасто розташовані, лусковидні – у дорослих (30 - 40 років і старше). Зміна наряду голкоподібного листя на лусковидне разюче позначається на зовнішньому вигляді цієї араукарії, що в дорослому стані її зазвичай не впізнають. У дорослих дерев стовбур майже до половини без гілок. Кора смолиста, темна. Батьківщина араукарії – о. Норфолк у Тихому океані. Гілки розташовані правильними горизонтальними ярусами, що відходять від стовбура майже під прямим кутом. Чоловічі шишки циліндричні 2,5 – 7,6 см у довжину; насіння утворюються всередині в майже сферичних жіночих шишках 7,6 – 12,7 см [8,9].

Араукарію різнолисту розмножують як насінням, так і живцями. Особливістю є те, що з живців, узятих із бокових гілок, не утворюється вертикального стебла і пагони ростуть тільки в горизонтальній площині [8].

Іноді для розмноження використовують щеплення. Найкращим періодом для цього є весна-літо. Насіння араукарії швидко втрачає схожість, тому для розмноження використовується, як правило, свіжезібране насіння.

Традиційні методи розмноження не завжди повною мірою забезпечують збереження цінних властивостей материнської особини. Тому, актуальним є впровадження новітніх технологій, за допомогою яких отримують високоякісний, оздоровлений вихідний садивний матеріал. Провідне місце серед них займає мікроклональне розмноження (МКР).

Мета досліджень – розробка методики отримання добре ростучої асептичної культури Араукарії різнолистої *Araucaria heterophylla*, яка враховує видоспецифічні морфологічні та біологічні особливості виду.

Матеріали та методика досліджень. Маточна рослина – семирічне дерево Араукарії різнолистої *Araucaria heterophylla* як об'єкт МКР мало ряд особливостей, що були враховані під час підбору методів стерилізації. Вихідними експлантатами у Араукарії різнолистої було взято бокові та верхівкові пагони довжиною близько 1,0 – 1,5 см.

Стерилізацію рослинного матеріалу здійснювали за загальноприйнятими методиками в авторській модифікації [5,6]. Перед стерилізацією живці промивали під проточною водою, а потім видаляли смолисту речовину, яка утворилася на місці зрізів. Далі вихідний матеріал відмивався протягом 15 хв. у мильному розчині і під проточною водою, упродовж 15 хв. Живці поміщали в завчасно простерилізовані марлеві мішечки. Це робилося задля спрощення маніпуляцій з живцями під час їх витримування у стерилізуючих розчинах. Всі подальші операції проводилися в ламінарному боксі.

Першим етапом було занурення живців у 96 %-ний розчин етанолу на 10 с. Початкова обробка етанолом підсилює дію стерилізуючих речовин та знімає шар воскоподібної речовини, що захищає хвою. Ефективність стерилізації можна підвищити додаванням дергентів (твін 80) чи звичайних миючих засобів (пральний порошок або мило). Для стерилізації було використано комерційний розчин гіпохлориту натрію у трьох концентраціях з різними експозиціями обробки.

Стерилізацію проводили у стерильних хімічних стаканах, які накривали чашками Петрі. Очищений та промитий матеріал у ламінарному боксі занурювали на декілька секунд в етанол, а після виймання переносили в стерилізаційний розчин. Простерилізований рослинний матеріал висушували за допомогою фільтрувального паперу і зберігали у закритих чашках Петрі.

Частини рослин, які мали безпосередній контакт із папером зрізалися з метою зменшення ризику зараження. Відібрані експлантати висаджували на модифіковане нами живильне середовище Мурасіге-Скуга (МС) [7].

Для індукції процесів росту та розвитку використано для: калюсоутворення – ІОК (індоліл-3-оцтова кислота), укорінення експлантатів – НОК (α-нафтилоцтова кислота) та ІМК (індолілмасляна кислота), утворення суспензійної культури – 2,4Д (2,4-дихлорфеноксіоцтова кислота).

Культивувалися рослинні експлантанти при освітленні 4 клк люмінесцентними лампами, за температури +25°C та відносній вологості повітря 70 %.

Результати досліджень. У процесі введення в асептичну культуру особлива роль належить добору стерилізаційного розчину та його параметрів (складу, концентрації тощо). Вибираючи його нами були враховано рекомендації щодо ефективності розчинів стериліантів [1,3,4]. З урахуванням біологічних особливостей Араукарії різнолистої *Araucaria heterophylla* L стерилізуючим реагентом вибрано гіпохлориту натрію, розчини якого різної концентрації і були використані в експерименті. У таблиці наведено результати, які характеризують ефективність апробованих варіантів стерилізації експлантатів.

Ефективність різних варіантів стерилізації експлантатів Араукарії різнолистої *Araucaria heterophylla* L.

Стериліант	Концентрація розчину, %	Експозиція, хв	Кількість життєздатних експлантатів, %		
			Через 5 днів	Через 7 днів	Через 9 днів
Гіпохлорит натрію	1,25	15	60	40	15
		20	75	50	30
	1,75	15	85	70	50
		20	90	75	65
	2,5	15	95	85	80
		20	100	100	100

Як видно за даними таблиці, при концентрації розчину 1,25 на дев'ятий день культивування життєздатними залишилися тільки 15 % і 30 % експлантів, відповідно до часу експозиції. При концентрації розчину 1,75 на дев'ятий день культивування життєздатними залишилися 50 % і 65 % експлантів. Найкращі показники були отримані при використанні розчину з концентрацією 2,5 %, по якому на дев'ятий день культивування життєздатними залишилися 80 % і 100 % експлантів відповідно (див. рисунок).

На нашу думку, це зумовлено сильнішим впливом більш концентрованого стерилізуючого розчину на епіфітну мікрофлору. Проте, як можна помітити за даними таблиці, є потреба в досить ретельному та обережному підборі концентрації розчину для стерилізації та часу експозиції матеріалу в ньому. Зменшення концентрації стерилізаційного розчину призводить до збільшення ураження, яке часто призводило до повної загибелі експлантів.

Необхідно зазначити, що збільшення часу експозиції з 15 до 20 хв за рівних інших умов, призводило до отримання більшої кількості життєздатних експлантів.

При використанні розчину гіпохлориту натрію з концентрацією 1,25 % мало місце ураження фітопагенами. Окрім того, у варіанті з найменшою концентрацією стерилізаційного розчину нерідко спостерігалось і бактеріальне ураження

При більшій концентрації (1,75 %) відмічалось тільки грибкове або бактеріальне ураження експлантів.



Життєздатний асептичний експлантат *Araucaria heterophylla* L.

Дослідження дозволили уточнити методику отримання асептичної культури Араукарії, яка враховує морфологічні та біологічні особливості

Висновки

Результати проведених дослідів зі стерилізації експлантатів Араукарії різнолистої *Araucaria heterophylla* L. дозволяють зробити такі висновки:

- найефективнішим для стерилізації є комерційний розчин гіпохлориту натрію при концентрації 2,5%;
- достатньою за тривалістю є стерилізація експлантатів з експозицією 20 хв;

Апробована методика отримання стерильної культури *A. heterophylla* враховує її видоспецифічні особливості і дозволить суттєво підвищити ефективність мікроклонального розмноження та покращити якість вихідного матеріалу для одержання рослин-регенерантів дослідного виду. Це вкрай важливо не лише з точки зору покращення забезпеченості садивним матеріалом робіт з озеленення інтер'єрів, а і для розвитку декоративного садівництва загалом.

Список літератури

1. Бутенко Р. Г. Культура изолированных тканей и физиология морфогенеза растений / Р. Г. Бутенко. – М.: Наука, 1964. – 272 с.
2. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований) / Б. А. Доспехов. – [5-е изд., доп. и перераб.]. – М.: Агропромиздат, 1985. – 351 с.
3. Калинин Ф. Л. Методы культуры тканей в физиологии и биохимии растений / Калинин Ф.Л., Сарнацкая В.В., Полищук В.Е. – К.: Наук. думка, 1980. – 488 с.
4. Катаева Н.В. Клональное микроразмножение растений / Н.В. Катаева, Р.Г. Бутенко. – М.: Наука, 1983. – 96 с.
5. Кушнір Г.П. Мікроклональне розмноження рослин : теорія і практика / Г. П. Кушнір, В. В. Сарнацька. – К.: Наук. думка; Ін-т фізіології рослин і генетики, 2005. – 269 с.
6. Мельничук М. Д. Біотехнологія рослин : підр. [для студ. агробіол. та біол. спец., наук., викл., асп.] / Мельничук М.Д., Новак Т.В., Кунах В.А.. – К.: Поліграфконсалтинг, 2003. – 520 с.
7. Murashige T. A revised medium for rapid growth bioassays with tobacco tissue cultures / T. Murashige, F. Scoog / *Physiol. Plant.* – 1962. – 15, № 3. – P. 473–497.
8. Фарт. Араукарія, догляд [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://www.phart.ru/plants/43/>
9. Floralworld.ru – мир растений. Араукарія [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://www.floralworld.ru/encyclopedia/plants/Araucaria.html>

Охарактеризованы особенности получения асептической культуры Араукарии разнолистой. Предложена эффективная методика стерилизации эксплантатов.

Микроклональное размножение, эксплантат, питательная среда, растение-регенерант, in vitro.

Features of receiving aseptic culture Araucaria Araucaria heterophylla L. An efficient method of sterilization of explants.

Microclonal reproduction, explant, culture medium, plant-regenerants, in vitro.