

ВПЛИВ ТИПУ СТЕРИЛІЗУЮЧИХ РЕЧОВИН НА ЕФЕКТИВНІСТЬ ПРОРОЩУВАННЯ *IN VITRO* НАСІННЯ *LIGULARIA SIBIRICA* (L.) CASS**Н. О. Пушкарьова, М. В. Кучук**

Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України, вул. Академіка Заболотного, 148, Київ, 03143, Україна

Збереження біологічного різноманіття є важливою задачею сучасності. Погіршення екологічних умов існування людства та виснаження природних ресурсів зумовлюють занепокоєність проблемою скорочення біорізноманіття у всьому світі та в Україні зокрема. Про це свідчить прийнята на Генеральній асамблеї Міжнародного союзу біологічних наук за підтримки ЮНЕСКО Міжнародна програма "DIVERSITAS" та Конвенція про біорізноманіття, ратифікована Україною у 1994 році. На основі останньої була підготовлена Загальнодержавна програма збереження біорізноманіття України на 2007-2025 роки [1].

Ligularia sibirica (L.) Cass – це багаторічна трав'яниста рослина заввишки 70-120 см, яка відноситься до сімейства Складноцвітих. Вид занесений до Червоної книги України та має статус – вразливий. В Україні поширений на території Карпат та Малого Полісся. Має базальні довгочерешкові трикутні листки, що утворюють розетки. Стеблові листки піхвові, напівсидячі. Стрункий квітконосний пагін несе 10-25, зібраних у китицю, кошиків з яскраво жовтими язичковими квітками. Цвіте у липні, плодоносить у серпні. Розмножується насінням [2]. Даний вид також є джерелом біологічно активних сполук [3], тому доцільним є проведення роботи по збереженню та відтворенню його чисельності.

Розрізняють два основні підходи до збереження рослинного біорізноманіття – збереження видів *in situ*, тобто в природних умовах, та *ex situ* – в генетичних банках (банках зародкової плазми). Найбільший спектр можливостей надають методи *ex situ*, які дають змогу застосувати різні експериментальні підходи, в тому числі і методи біотехнології. Розробка методів збереження рослин *in vitro* з подальшим перенесенням та розмноженням у природних ареалах, може скоротити кількість видів, що заносяться у червоні списки та до Червоної книги [4].

В основі збереження рослин *in vitro* лежать методи мікроклонального розмноження. Першим етапом роботи є введення матеріалу в асептичну культуру. Використання насіння в якості первинних експлантів вважається найбільш придатним, оскільки дозволяє зберегти широку генетичну базу.

Підготовку експлантів та введення їх в культуру *in vitro* проводили в асептичних умовах згідно із загальноприйнятими рекомендаціями [5]. Вивчали вплив різних стерилізуючих сполук: «Білізна» (при експозиції 13 хв), діацид (час експозиції 6 хв), 3% H_2O_2 (час експозиції 15 хв) та 15% H_2O_2 (час експозиції 8 хв). Після проведення поверхневої стерилізації насіння переносили в чашки Петрі на агаризоване живильне середовище Мурасіге-Скуга (MS) [6] та інкубували на живильному середовищі при температурі +24°C та 16-годинному фотоперіоді. Для кожної групи насіння було визначено відсоток асептичного насіння по відношенню до загального числа вихідних експлантів (ефективність стерилізації) та відсоток насіння, яке після обробки стерилізуючими сполуками утворювало проростки (ефективність проростання).

При використанні «Білізни» чистка асептичного насіння, з якого не вдалося отримати паростки, склала 13%. Аналогічні результати було отримано і при використанні 3% H_2O_2 (асептичність 17% та відсутність паростків) та 15% H_2O_2 (асептичність 33% та відсутність паростків). Але при стерилізації насіння діацидом ми отримали 92% асептичного насіння, з якого 33% утворили паростки. Також ми спробували дослідити вплив скарифікації на виживаність насіння при стерилізації діацидом та швидкість проростання паростків. Після проведення скарифікації ми застосували зазначену вище схему стерилізації насіння, скоротивши час експозиції до 3 хв. В результаті ми отримали 100% асептичного матеріалу, з якого 83% утворило життєздатні паростки. Проростання насіння відбувалось на 7-8 день після стерилізації.

Таким чином, використовуючи різні стерилізуючі сполуки, ми показали, що доцільно проводити стерилізацію насіння *Ligularia sibirica* (L.) Cass діацидом за вказаною схемою. Скарифікація зі зменшенням часу експозиції насіння у стерилізуючому розчині збільшує кількість утворених паростків більше ніж у 2 рази та в 2 рази прискорює швидкість проростання насіння.

Література

1. Сытник К. М. Биотическое разнообразие: его изучение, сохранение и обогащение / К. М. Сытник // Альгология. – 2010. – Т. 20, № 3. – С. 368-382.
2. Червона книга України. Рослинний світ [ред. Я. П. Дідух] – К.: Глобалконсалтинг, 2009. – 900 с.
3. Wiedenfeld H. Pyrrolizidine Alkaloids from *Ligularia sibirica* Cass. and *Tephrosia integrifolia* L. / [H. Wiedenfeld, S. Narantuya, M. Duma, A. Monhbaatar] // Scientia Pharmaceutica. – 2003. – V. 71. – P. 129-132.
4. Белокурова В. Б. Методи біотехнології в системі заходів зі збереження біорізноманіття рослин / В. Б. Белокурова // Цитология и генетика. – 2010. – Т. 44, № 3. – С. 58-72.
5. Кушнір Г. П. Мікроклональне розмноження рослин. Теорія і практика / Г. П. Кушнір, В. В. Сарнацька – К. : Наукова думка, 2005. – 269 с.
6. Murashige T. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures / T. Murashige, F. Skoog // Physiologia Plantarum. – 1962. – V. 15. – P. 473-497.

