

УДК 602 : 57.085.2 : 582.926.3

**РЕГЕНЕРАЦІЙНА ЗДАТНІСТЬ ТКАНИН РОСЛИН БЕРЕЗИ ПОВИСЛОЇ
(*BETULA PENDULA* ROTH) В УМОВАХ IN VITRO**

О. Ю. Чорнобров, кандидат сільськогосподарських наук

*Відокремлений підрозділ Національного університету біоресурсів і
природокористування України «Боярська лісова дослідна станція»*

О. Ю. Чорнобров

Національний природний парк «Голосіївський»

М. О. Зінов'єва, учениця

Боярський академічний ліцей «Лідер»

E-mails: oksana_chornobrov@ukr.net, oleksandr.chornobrov@ukr.net

Анотація. Одержання високоякісного садивного матеріалу рослин берези повислої (*Betula pendula* Roth) – одне із актуальних завдань сьогодення. Метод культури ізольованих тканин і органів рослин *in vitro*, на противагу традиційним способам розмноження, дає змогу одержувати оздоровлені, генетично однорідні рослини упродовж року з мінімальної кількості донорського матеріалу. Значна кількість зарубіжних біотехнологічних досліджень зосереджені на рослинах *B. pendula*, які мають різноманітне цільове використання. У той же час відомо, що органогенез тканин деревних рослин *in vitro* залежить від комплексу внутрішніх і зовнішніх чинників, що зумовлює необхідність добору оптимальних умов культивування для їх тиражування *in vitro*. Мета дослідження – визначення регенераційної здатності тканин рослин *B. pendula in vitro* за дії компонентів живильного середовища для мікроклонального розмноження. Для досліджень використовували фрагменти пагонів рослин *B. pendula*, які добирали із 20-річних донорів на стадії активної вегетації 2018–2019 рр. Застосовували біотехнологічні і статистичні методи досліджень. Установлено умови одержання значної кількості (понад 80 %) асептичних життєздатних експлантатів *B. pendula in vitro* за використання AgNO_3 . Значною регенераційною здатністю (понад 90 %) характеризувалися фрагменти пагонів *in vitro*, культивовані на базовому середовищі за прописом MS (Murashige & Skoog, 1962). Одержано в стислі строки значну кількість оздоровлених рослин-регенерантів, оптимізовано умови їх культивування та мультипліковано *in vitro* на MS із додаванням кінетину (6-фурфуріламінопурин) і НОК (1-нафтилоцтова кислота). Подальші дослідження спрямовано на

встановлення особливостей диференціації клітин у калюсній культурі *B. pendula* за умов індукованого морфогенезу *in vitro*.

Ключові слова: береза повисла (*Betula pendula* Roth), культура ізольованих тканин рослин *in vitro*, експлантати, регенераційна здатність мікропагонів *in vitro*, живильне середовище, мікроклональне розмноження.

Актуальність. Береза повисла (*Betula pendula* Roth) – цінна лісова, лісомеліоративна, декоративна та лікарська рослина, природний ареал якої охоплює Європу, Малу Азію, Кавказ, Західний Сибір та Алтай. В Україні *B. pendula* – аборигенний вид, рослини якого формують як чисті, так і змішані сосново-березові й сосново-березово-дубові насадження [1]. Рослини традиційно розмножуються насінням [1]. Незважаючи на широку екологічну амплітуду, рослини *B. pendula* дуже чутливі до різних систематичних і функціональних груп міко-, і мікроорганізмів. Зокрема, за результатами лісопатологічних обстежень виявлено інфекційні патології бактеріального та грибного походження на вегетативних і генеративних органах рослин (мікоз, іржа й плямистість листків, гнилі, бактеріальна водянка тощо) [2; 3; 4]. Водночас, довготривале вирощування рослин зумовлює нагромадження та поширення низки захворювань вірусного, бактеріального та грибного походження, які в подальшому пригнічують ріст і знижують продуктивність. Окрім того, традиційне розмноження унеможливорює одержання оздоровлених рослин. Одним із методів одержання оздоровлених рослин від низки грибних, бактеріальних, нематодних і вірусних захворювань є мікроклональне розмноження, яке на противагу традиційним способам розмноження й за умови розроблення ефективного й оптимізованого протоколу *in vitro* дає змогу одержувати високоякісні рослини упродовж року [5; 6; 7].

Аналіз останніх досліджень та публікацій. У світовій практиці асептичні культури рослин роду *Betula* L. одержують для довготривалого депонування господарсько цінних форм у колекціях *in vitro*, створення лісових плантацій, генетичної паспортизації, генотипування, проведення молекулярно-генетичного аналізу соматоклональних генотипів рослин тощо (Pekkinen et al., 2005; Gaidamashvili et al., 2015; Ricki Rathwell, 2015; Баранов и др., 2015;

Гродецкая и др., 2018) [8–14]. Зокрема, білоруськими вченими із відділу генетики, селекції і біотехнології Інституту лісу НАН Білорусії [9] розроблено ефективний протокол *in vitro* для міжвидового триплоїдного гібриду *Betula pendula* × *pubescens*. Клон було введено у культуру *in vitro* листовими експлантатами шляхом непрямого морфогенезу. Культивування регенерантів після відділення від калюсу здійснювали на живильному середовищі WPM без регуляторів росту (McCown & Lloyd, 1981) [15]. Для одержання культур тканин *B. pendula* і *B. pubescens* застосовували середовище MS (Murashige & Skoog, 1962) з додаванням 5,0 мг·л⁻¹ 6-бензиламінопурину (БАП) і 4-окси-3-метил-транс-2-бутеніламінопурину (зеатин), а також вносили 0,4 мг·л⁻¹ 3-індолілмасляної кислоти (ІМК). Для підтвердження соматоклональної природи мінливості регенерантів *Betula* і створення генетичних паспортів використовували метод RAPD (вибірково ампліфікована поліморфна ДНК) [9]. Інші вчені для мікроклонального розмноження рослин *Betula* (*Betula medwedewii* Regel, *Betula megrelica* Sosn., *Betula raddeana* Trautv.) використовували тверде живильне середовище MS з додаванням 7,5 мМ (1,7 мг·л⁻¹) 6-БАП і 1,0 мМ (0,3 мг·л⁻¹) гіберелової кислоти для активного мікропагоноутворення [11]. В Україні відсутні публікації щодо мікроклонального розмноження рослин роду *Betula*. Однак, незважаючи на цілу низку зарубіжних біотехнологічних досліджень у цій галузі, актуальним є дослідження регенераційної здатності тканин деревних рослин *in vitro*. Регенерація залежить від комплексу внутрішніх і зовнішніх чинників експлантатів, що визначає необхідність ретельного вибору умов культивування для їхнього мікроклонального розмноження.

Мета дослідження – визначення регенераційної здатності тканин рослин *B. pendula in vitro* за дії компонентів живильного середовища для мікроклонального розмноження.

Матеріали і методи дослідження. Для досліджень використовували 10–15 см пагони рослин *B. pendula*, які добирали із 20-річних донорів на стадії активної вегетації 2018–2019 рр. Як експлантати застосовували фрагменти

пагонів завдовжки 1,0–2,0 см із бічною брунькою. Стерилізація рослинного матеріалу полягала у витримуванні у мильному розчині (15–20 хв) і проточній воді (15–20 хв), споліскуванні дистильованою водою (1–2 хв), обробці 70 % етиловим спиртом (30–60 сек), зануренні в стерилізуючий розчин і 3-разовому промиванні в стерильній дистильованій воді (по 10 хв у кожній порції). Як стерилізуючі агенти використовували: 70,0 % етиловий спирт, 35,0 % H_2O_2 , 2,5 % NaClO , 1,0–2,0 % AgNO_3 . На етапі ініціації експлантатів використовували живильне середовище за прописом MS (Murashige & Skoog, 1962) [16], яке модифікували додаванням $1,0\text{--}2,0\text{ г}\cdot\text{л}^{-1}$ активованого вугілля, $30,0\text{ г}\cdot\text{л}^{-1}$ сахарози і $7,0\text{--}7,3\text{ г}\cdot\text{л}^{-1}$ агару мікробіологічного. Регенераційну здатність тканин рослин *in vitro* досліджували на базовому MS на 25 добу культивування з додаванням 3-індолілмасляної кислоти (ІМК), 1-нафтилоцтової кислоти (НОК), β -індоліл-3-оцтової кислоти (ІОК), 6-фурфуріламінопурину (кінетин), N-ізопентеніламінопурину (2-іП), 6-бензиламінопурину (БАП). У деякі варіанти живильного середовища додавали полівінілпіролідон (ПВП). Показник кислотності середовища (рН) доводили до рівня 5,7–5,9. Рослинний матеріал культивували за загальноприйнятою методикою [17; 18; 19; 20; 21] у світловому приміщенні за температури $24\pm 1^\circ\text{C}$ і освітлення 2,0–3,0 клк із 16-годинним фотоперіодом та відносною вологістю повітря 70–75 %. Для досліджень використовували біотехнологічні (культура тканин рослин *in vitro*, мікроклональне розмноження) й статистичні (середнє арифметичне, стандартна похибка, однофакторний дисперсійний аналіз) методи. Статистично експериментальні дані опрацьовували за загальноприйнятими методами [22] з використанням пакета аналізу MS Excel. Дослідження проведено в науково-дослідній лабораторії біотехнології рослин ВП НУБіП України «Боярська ЛДС».

Результати дослідження та їх обговорення. Одержання значної кількості асептичних життєздатних експлантатів рослин – основне завдання початкового етапу мікроклонального розмноження. Режим стерилізації експлантатів деревних рослин підбирається експериментально до кожного

об'єкта з урахуванням низки чинників (фізіологічний стан рослини, вік донора, тип експлантату, анатомо-морфологічні особливості тощо) (табл. 1).

У разі використання 35,0% H_2O_2 (14–15 хв) одержали незначний відсоток ефективності стерилізації експлантатів ($25,0 \pm 1,9$ %) та фіксували некроз покривних тканин на 2–4 добу культивування. За умов оброблення рослинного матеріалу в 1,0 % $AgNO_3$ (9–10 хв) і 2,5 % $NaClO$ (9–10 хв) частка асептичного життєздатного рослинного матеріалу становила, відповідно, $36,0 \pm 1,7$ % і $45,0 \pm 1,8$ %. При цьому інфікування міцелієм грибів фіксували на 3-добу культивування (рис. 1, а).

1. Ефективність стерилізації фрагментів пагонів рослин *B. pendula* в умовах *in vitro*

Варіант	Режим стерилізації експлантатів	Ефективність стерилізації фрагментів пагонів рослин (середнє значення $\pm$ стандартна похибка), %
1	2,5 % $NaClO$ упродовж 9–10 хв	$45,0 \pm 1,8$
2	1,0 % $AgNO_3$ упродовж 9–10 хв	$36,0 \pm 1,7$
3	2,0 % $AgNO_3$ упродовж 9–10 хв	$88,6 \pm 2,4$
4	35,0% H_2O_2 упродовж 14–15 хв	$25,0 \pm 1,9$
5	2,5 % $NaClO$ упродовж 7–8 хв з наступним перенесенням у 1,0 % $AgNO_3$	$54,6 \pm 1,7$

Ефективної стерилізації ($88,6 \pm 2,4$ %) досягли шляхом застосування ступінчастого способу, який полягав у витримуванні рослинного матеріалу в 70,0 % етиловому спирті (30–60 с) із подальшим перенесенням у розчин 2,0 % $AgNO_3$ (9–10 хв). За таких умов одержали життєздатні мікропагони із характерною пігментацією без ознак вітрифікації та некротизації (див. рис 1, б). З рівнем надійності 0,05 можна стверджувати, що вплив режиму стерилізації експлантатів на асептичність є статистично значущим ($F = 154,9022$, $F_{\text{крит.}} = 2,8661$; $F > F_{\text{крит.}}$) (табл. 2).

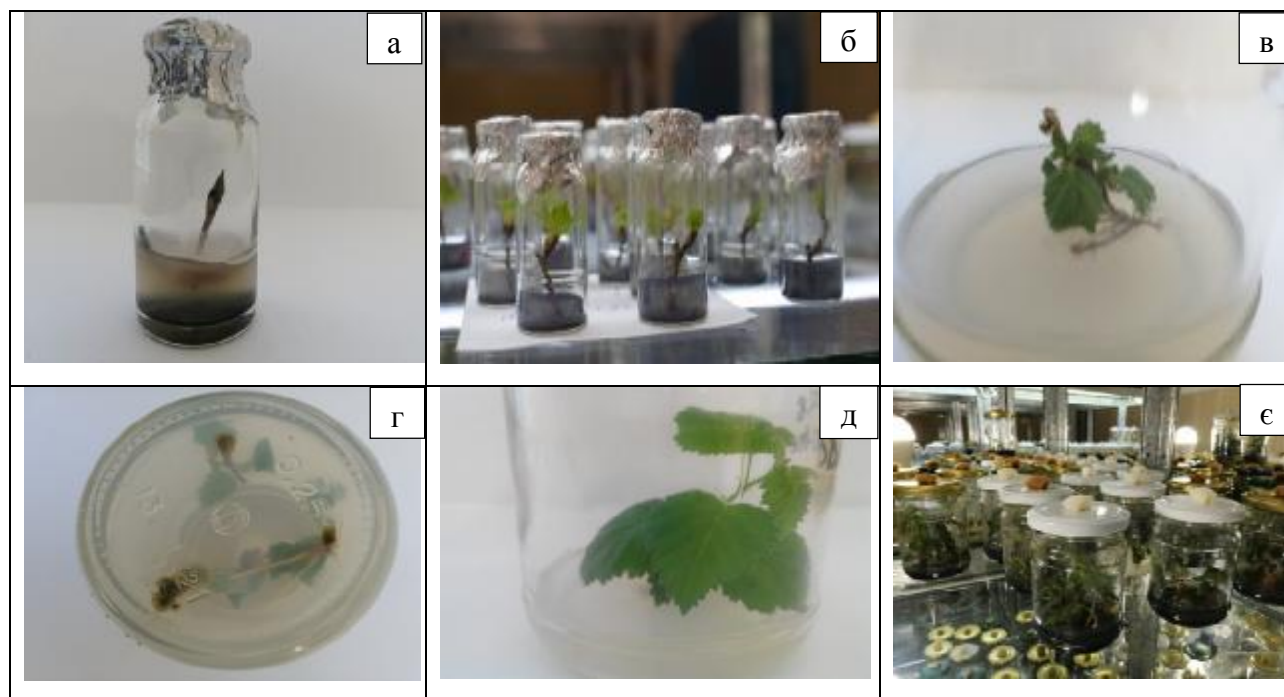


Рис. 1. Етапи мікроклонального розмноження рослин *V. pendula* *in vitro*: а) експлантати інфіковані міцелієм грибів на 3-добу культивування; б) асептичні життєздатні мікропагони на 20-добу культивування; в) мікропагони на живильному середовищі MS на 20 добу культивування; г) калусоутворення та ризогенез у 20-добових мікропагонів; д) і є) рослини-регенеранти на MS із кінетином і активованим вугіллем в культуральному приміщенні.

2. Підсумкові результати однофакторного дисперсійного аналізу

Дисперсійний аналіз						
Джерело варіації	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P</i> - значення	<i>F</i> критичне
Між групами	11785	4	2946.24	154.9022	9.5504	2.8661
В середині груп	380	20	19.02			
Разом	12165	24				
де: <i>SS</i> – сума квадратів; <i>df</i> – число степенів свободи; <i>MS</i> – дисперсії; <i>F</i> – розрахункове значення критерію Фішера; <i>P</i> - значення – розрахункове значення мінімальної значущості; <i>F</i> _{крит.} – критичне значення критерію Фішера						

Регенерація тканин деревних рослин в умовах *in vitro* зумовлена впливом низки чинників (генетичні, фізіологічні, гормональні, фізичні). На реалізацію морфогенетичного потенціалу експлантатів суттєво впливають компоненти живильного середовища, зокрема мінерально-вітамінний склад та регулятори росту. Для культивування тканин рослин *V. pendula* використовували базове живильне середовище за прописом MS в авторській модифікації (табл. 3).

На усіх варіантах модифікованого середовища регенерація експлантатів *B. pendula* відбувалася шляхом активації росту наявних меристем. Інтенсивність регенерації експлантатів рослин достовірно залежала від складу модифікованого живильного середовища (проявлялася на 3–10 добу культивування). У разі застосування живильного середовища з $0,25 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$ кінетину активацію росту бруньок фіксували на 3–5 добу, на $0,5 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$ БАП і кінетину – на 8–10 добу. Здебільшого ризогенезу передувало розшарування основи стебла з подальшим формуванням калюсної тканини твердої консистенції. Концентрація регуляторів росту достовірно впливала на частку укорінених мікропагонів, довжину кореня та їх кількість. Значна проліферація мікропагонів і кореневої системи відбувалася на MS із додаванням $1,0 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$ кінетину, $1,0 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$ НОК та застосування $1/6$ Fe-хелату (на 1 експлантат/8–10 коренів за циклу культивування 25 діб (табл. 3, варіант 5). Аналогічні результати отримали зарубіжні автори [9] під час культивування тканин рослин *B. pendula* і *B. pubescens* на MS із цитокінінами й ауксинами. Інші вчені [11] для посилення регенерації тканин, окрім БАП додавали гіберелову кислоту. Активацію наявних меристем експлантата, розвиток мікропагонів і формування кореневої системи фіксували на оптимально-збалансованому MS із додаванням $0,25 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$ кінетину / $0,25 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$ кінетину з $2,0 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ активованого вугілля (див. табл. 3, варіант 2, 4, рис. 1, г, д). За такого режиму культивування одержали рослини-регенеранти з характерною пігментацією, без ознак хлорозу та вітрифікації (див. рис. 1, є).

Висновки і перспективи. Ефективної стерилізації ($88,6 \pm 2,4 \%$) фрагментів пагонів *B. pendula* досягли шляхом їх ізоляції на стадії активної вегетації донорів із наступним витримуванням в 70,0% етиловому спирті (30–60 с) та 2,0 % AgNO_3 (9–10 хв). Визначено дію стерилізуючих агентів на експлантати рослин *B. pendula* та одержано асептичні життєздатні мікропагони *in vitro*. Для ініціації експлантатів доцільно використовувати живильне середовище MS із додаванням $1,0\text{--}2,0 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ активованого вугілля. Активну проліферацію експлантатів шляхом активації росту наявних меристем,

формування кореневої системи мікропагонів та одержання рослин-регенерантів зафіксовано на MS із додаванням $0,25 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$ кінетину / $1,0 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$ кінетину, $1,0 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$ НОК та застосування 1/6 Fe-хелату. Одержано в стислі строки значну кількість оздоровлених рослин-регенерантів, оптимізовано умови культивування та мультипліковано *in vitro*. Визначено регенераційну здатність тканин рослин *B. pendula* за дії компонентів живильного середовища *in vitro* та підібрано оптимальне для мікроклонального розмноження. Подальші дослідження спрямовано на встановлення особливостей диференціації клітин у калюсній культурі *B. pendula* за умов індукованого морфогенезу *in vitro*.

Список використаних джерел

1. Флора УРСР. Рід Береза. Київ : АН УРСР, 1952. Т. 4. С. 102–113.
2. Гвоздяк Р. И., Яковлева Л. М. Бактериальные болезни лесных древесных пород., Київ : Наукова думка, 1979. 244 с.
3. Швець М. В. Інфекційні хвороби *Betula pendula* в насадженнях Житомирського Полісся України. *Науковий вісник Національного лісотехнічного університету України*. 2016. Вип. 26.4. С. 156–163.
4. Щербин-Парфененко А. Л. Бактериальные заболевания лесных пород. Москва : Гослесбумиздат, 1963. 148 с.
5. Кушнір Г. П., Сарнацька В. В. Мікроклональне розмноження рослин: теорія і практика. Київ : Наукова думка, 2005. 242 с.
6. Мельничук М. Д., Новак Т. В., Кунах В. А. Біотехнологія рослин : підруч. Київ : ПоліграфКонсалтинг, 2003. 520 с. : іл.
7. Катаева Н. В., Бутенко Р. Г. Клональное микроразмножение растений. Москва : Наука, 1983. 96 с.
8. Константинов А. В. Анализ морфологических параметров посадочного материала соматоклональных генотипов межвидового гибрида *Betula pendula* × *pubescens*. *Труды БГТУ. Лесное хозяйство*. 2014. № 1 (165). С. 139–141.
9. Константинов А. В., Пантелеев С. В. Молекулярно-генетический анализ линий соматоклональных генотипов березы повислой и гибридной. *Сибирский лесной журнал*. № 4. 2014. С. 75–78.
10. Genome / Pekkinen M., Varvio S., Kulju K. Vol. 48. Iss. 4. 2005. P. 619–625. DOI: 10.1007/s11032-016-0450-6.
11. Micropropagation of Threatened *Betula* Species for *in vitro* Conservation / Mariam Gaidamashvili, Eka Khurtsidze, Tinatin Barblishvili. *International Conference on Plant, Marine MES-2015*). 2015. Jan. 1–2. P. 12–15. Available at: <http://iicbe.org/upload/7805C0115056.pdf>
12. Rathwell Ricki. *In Vitro* Propagation and Preservation of Cherry Birch (*Betula lenta* L.). Guelph, Ontario, Canada, 2015. 117 pp.

13. Молекулярно-генетическое изучение видового разнообразия лесных древесных растений (на примере ботанических коллекций родов *Betula* L. и *Pinus* L.) / Баранов О. Ю., Пантелеев С. В., Гончарова Л. В., Спиридович Е. В., Тарасевич А. В. *Проблемы сохранения биологического разнообразия и использования биологических ресурсов*: материалы III международной конференции, посвященной 110-летию со дня рождения академика Н.В. Смольского, 7–9 октября 2015 г. Минск, Беларусь, 2015. С. 255–258.

14. Идентификация генотипов *Betula pendula* Roth. var. *carelica* и *Betula pubescens* Ehrh. с использованием микросателлитных маркеров / Т. А. Гродецкая, С. Г. Ржевский, Т. П. Федулова, Т. М. Табацкая, О. С. Машкина. *Вестник ВГУ, серия: Химия. Биология. Фармация*. 2018. № 3. С. 121–128.

15. McCown B. H. Lloyd G. Woody Plant Medium (WPM) – A Mineral Nutrient Formulation for Microculture of Woody Plant Species. *HortScience*. 1981. Vol. 16. P. 453.

16. Murashige T., Skoog F. A Revised Medium for Rapid Growth and Bioassays with Tobacco Tissue Cultures. *Physiol. Plant*. 1962. Vol.15, N. 3. P. 473–497.

17. Лутова Л. А. Биотехнология высших растений. Санкт-Петербург, 2003. 227 с.

18. Мусієнко М. М., Панюта О. О. Культура ізольованих клітин, тканин і органів рослин : метод. реком. Київ : Фітосоціоцентр, 2001. 48 с.

19. Бутенко Р. Г. Культура изолированных тканей и физиология морфогенеза растений : учеб. пособ. Москва : Наука, 1964. 272 с.

20. Калинин Ф. Л., Сарнацкая В. В., Полищук В. Е. Методы культуры тканей в физиологии и биохимии растений. Киев : Наукова думка, 1980. 488 с.

21. Smith R. H. Plant Tissue Culture: Techniques and Experiments. 2012. 55 pp.

22. Математичне моделювання та планування експерименту. Методичні вказівки до виконання лабораторних робіт. Київ: Аграр Медіа Груп, 2010. 103 с.

References

1. Flora URSS. Rid Bereza (1952) [Flora of the USSR. The genus of Birch]. Ukraine, Kiev: USSR Academy of Sciences, 4, 102–113.

2. Hvozdiak, R. Y., Yakovleva, L. M. (1979). Bakterialnye bolezni lesnykh drevesnykh porod [Bacterial diseases of forest tree species]. Ukraine, Kiev: Naukova dumka, 244.

3. Shvets, M. V. (2016). Infektsiini khvoroby *Betula pendula* v nasadzhenniakh Zhytomyrskoho Polissia Ukrainy [Infectious diseases of *Betula pendula* in plantations of Zhytomyr Polissya of Ukraine]. The Scientific Bulletin of UNFU, 26.4, 156–163.

4. Shcherbyn-Parfenenko, A. L. (1963). Bakterialnye zabolevaniia lesnykh porod [Bacterial diseases of forest species]. Moscow, Russia: Goslesbumizdat, 148.

5. Kushnir, H. P., Sarnatska, V. V. (2005). Mikroklonalne rozmnozhenia roslin: teoriia i praktyka [Microclonal plant reproduction: theory and practice]. Kiev: Naukova dumka, 242.

6. Melnychuk, M. D., Novak, T. V., Kunakh, V. A. (2003). Biotehnolohiia roslin : pidruch. [Plant biotechnology]. Ukraine, Kiev: PolihrafKonsaltnh, 520.
7. Kataeva, N. V., Butenko, R. H. (1983). Klonalnoe mikrorazmnozhenie rastenii [Clonal Micropropagation of Plants]. Moscow, Russia: Science, 96.
8. Konstantinov, A. V. (2014). Analiz morfolohicheskikh parametrov posadochnoho materiala somaklonalnykh henotipov mezhvidovoho hibrida *Betula pendula* × *pubescens* [Analysis of morphological parameters of planting material of somaclonal genotypes of interspecific hybrid *Betula pendula* × *pubescens*]. Proceedings of BSU. Forestry, 1 (165), 139–141.
9. Konstantinov, A. V., Pantelev, S. V. (2014). Molekuliarno-heneticheskii analiz linii somaklonalnykh henotipov berezy povisloi i hibridnoi [Molecular Genetic Analysis of Somaclonal Lines Genotypes of Silver Birch and Hybrid Birch]. Siberian Forest Journal, 4, 75–78.
10. Pekkinen, M., Varvio, S., Kulju, K. (2005). Genome, Vol. 48., Iss. 4, 619–625. DOI: 10.1007/s11032-016-0450-6.
11. Gaidamashvili, Mariam, Khurtsidze, Eka, Barblishvili, Tinatin (2015). Micropropagation of Threatened *Betula* Species for *in vitro* Conservation. International Conference on Plant, Marine MES-2015, Jan. 1–2, 12–15. – Available at: <http://iicbe.org/upload/7805C0115056.pdf>
12. Rathwell, Ricki. (2015). *In Vitro* Propagation and Preservation of Cherry Birch (*Betula lenta* L.). Guelph, Ontario, Canada, 117.
13. Baranov, O. Yu., Pantelev, S. V., Honcharova, L. V., Spiridovich, E. V., Tarasevich, A. V. (2015). Molekuliarno-heneticheskoe izuchenie vidovoho raznoobraziia lesnykh drevesnykh rastenii (na primere botanicheskikh kollektsii rodov *Betula* L. i *Pinus* L. [Molecular Genetic Study of Forest Tree Species Diversity (for Example, Botanical Collections of Genera *Betula* L. and *Pinus* L.]. Problems of Conservation of Biological Diversity and the Use of Biological Resources. Materials of the III international conference dedicated to the 110th birthday of Academician N. V. Smolsky, october 7–9, 2015, Minsk, Belarus, 255–258.
14. Hrodetskaia, T. A., Rzhetskii, S. H., Fedulova, T. P., Tabatskaia, T. M., Mashkina, O. S. (2018). Identifikatsiia henotipov *Betula pendula* Roth. var. *carelica* i *Betula pubescens* Ehrh. s ispolzovaniem mikrosatelitnykh markerov [Genotype identification of *Betula pendula* Roth. var. *carelica* and *Betula pubescens* Ehrh. using microsatellite markers] Bulletin of the Voronezh State University, series: Chemistry. Biology. Pharmacy, 3, 121–128.
15. McCown, B.H., Lloyd, G. (1981). Woody Plant Medium (WPM) – A Mineral Nutrient Formulation for Microculture of Woody Plant Species. HortScience, Vol. 16, P. 453.
16. Murashige, T. A., Skoog, F. (1962). Revised Medium for Rapid, Growth and Bioassays with Tobacco Tissue Cultures. *Physiol. Plant.*, 15 (3), 473.
17. Lutova, L. A. Biotehnolohiia vysshikh rastenii [Higher Plant Biotechnology]. Moscow, Russia: Publishing House of St. Petersburg. University, 228.

18. Musiienko, M. M. (2001). *Kultura izolovanykh klityn, tkanyn i orhaniv rosllyn : metod. rekom.* [The culture of isolated cells, tissues and organs of plants: guidelines]. Ukraine, Kiev: Phytosocenter, 48.
19. Butenko, R.G. (1964). *Kultura izolirovanykh tkanei i fiziologiiia morfogeneza rastenii* [Culture of isolated tissues and physiology of plant morphogenesis]. Moscow, Russia: Science, 272.
20. Kalinin, F. L., Sarnatskaya, V. V., Polishchuk, V. E. (1980). *Metody kultury tkaney v fiziologii i biokhimii rasteniy* [Methods of tissue culture in plant physiology and biochemistry]. Kiev: Naukova dumka, 488.
21. Smith, R. H. (2012). *Plant Tissue Culture: Techniques and Experiments*, 55.

РЕГЕНЕРАЦИОННАЯ СПОСОБНОСТЬ ТКАНЕЙ РАСТЕНИЙ БЕРЁЗЫ ПОВИСЛОЙ (*BETULA PENDULA* ROTH) В УСЛОВИЯХ *IN VITRO*

О. Ю. Чорнобров, А. Ю. Чорнобров, М. А. Зиновьева,

Аннотация. В настоящее время одной из актуальных задач лесного хозяйства Украины является получение высококачественного посадочного материала растений берёзы повислой (*Betula pendula* Roth). Метод культуры изолированных тканей и органов растений *in vitro*, в противовес традиционным способам размножения, позволяет получать оздоровленные, генетически однородные растения на протяжении года с минимального количества донорского материала. Значительное количество зарубежных биотехнологических исследований сосредоточено на растениях *B. pendula*, которые имеют разнообразное целевое использование. В то же время известно, что органогенез тканей древесных растений зависит от комплекса внутренних и внешних факторов, что обуславливает необходимость отбора оптимальных условий культивирования для их тиражирования *in vitro*. Цель исследования – определение регенерационной способности тканей растений *B. pendula in vitro* при действии компонентов питательной среды для микроклонального размножения. Для исследований использовали фрагменты побегов растений *B. pendula*, которые добывали с 20-летних доноров на стадии активной вегетации 2018–2019 гг. Применяли биотехнологические и статистические методы исследований. Установлено условия получения значительного количества (более 80 %) асептических жизнеспособных эксплантов растений *B. pendula in vitro* при использовании AgNO_3 . Значительную регенерационную способность (более 90 %) имели микропобеги *in vitro*, культивируемые на базовой питательной среде по прописи MS (Murashige & Skoog, 1962). Получено в сжатые сроки значительное количество оздоровленных растений-регенерантов, оптимизировано условия их культивирования и мультиплицировано *in vitro* на MS с добавлением кинетина (6-фурфуриламиопурина) и НУК (1-нафтилуксусная кислота). Дальнейшие исследования направлены на выявление особенностей дифференциации клеток в каллусной культуре *B. pendula* в условиях индуцированного морфогенеза *in vitro*.

Ключевые слова: берёза повислая (*Betula pendula* Roth), культура изолированных тканей растений *in vitro*, экспланты, регенерационная способность микропобегов *in vitro*, питательная среда, микроклональное размножение.

REGENERATIVE ABILITY OF PLANT TISSUE CULTURE *IN VITRO* OF SILVER BIRCH (*BETULA PENDULA* ROTH)

O. Yu. Chornobrov, O. Yu. Chornobrov, M. O. Zinovieva

*The development of an effective technology for the mass production of high quality planting material of silver birch (*Betula pendula* Roth) is one of the urgent tasks of forestry in Ukraine nowadays. The method of culture of isolated tissues and organs *in vitro*, in contrast to conventional methods of reproduction, allows obtaining healthy, genetically homogeneous plants throughout a year from a minimum amount of donor material. A lot of numbers of foreign biotechnology researches are focused on *B. pendula* plants that have of different purpose. At the same time the organogenesis of tissues of tree plants depends on a complex of internal and external factors, which determines the selection of optimal cultivation conditions for their replication *in vitro*. The purpose of the research was to determine the effect of components of culture medium on *in vitro* regenerative ability of *B. pendula* explants for microclonal propagation. For the studies that were carried in stage of active vegetation 2018–2019, the fragments shoots of 20-year-old donors plants of *B. pendula* were used. Biotechnological and statistical research methods were used. It was found out that the effective sterilization (above 80 %) of *B. pendula* fragments shoots was obtained through the use of AgNO_3 . A significant regenerative ability (above 90%) had *in vitro* shoots cultured on MS culture medium (Murashige & Skoog, 1962). A significant number of *B. pendula* plants was obtained, they were optimized and microclonal propagated *in vitro* on MS culture medium with kinetin 6-(Furfurylamino)purine and NAA (1-Naphthylacetic acid). Further studies are aimed identifying the features of cell differentiation in the callus culture of *B. pendula* under conditions of induced *in vitro* morphogenesis.*

Keywords: silver birch (*Betula pendula* Roth), plant tissue culture *in vitro*, explants, regenerative ability shoots *in vitro*, culture medium, microclonal propagation.