УДК 606:631.811.98:634.18 https://doi.org/10.31548/forest2021.04.006

ПЕРВИННИЙ МОРФОГЕНЕЗ *SORBUS TORMINALIS* (L.) GRANTZ У КУЛЬТУРІ *IN VITRO*

***С. Ю. БІЛОУС**, кандидат біологічних наук, доцент*
https://orcid.org/0000-0002-1682-5352, e-mail: forest_biotech@nubip.edu.ua
Національний університет біоресурсів і природокористування України
***Р. К. МАТЯШУК**, кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник*
https://orcid.org/0000-0003-1929-0522, e-mail: raisakiev2015@gmail.com
ДУ «Інститут еволюційної екології НАН України»

Нині методи in vitro у поєднанні з ex situ стають усе важливішими засобами збереження та підтримання рівня стабільності фіторізноманіття. Sorbus torminalis L. – дерево родини розових (Rosaceae), що росте на території України, належить до рідкісних, цінних аборигенних видів і занесене до Червоної книги України, з наданням йому охоронного статусу – зникаючий.

У роботі наведено особливості введення в культуру in vitro багатовікових представників S. torminalis із використанням різних типів експлантів, стерилізувальних речовин, умов культивування та складу живильного середовища. Для введення в культуру in vitro S. torminalis оптимальними є однорічні пагони з апікальними та латеральними бруньками завдовжки 15–25 см. Вивчено вплив різних варіантів стерилізації на розвиток первинних мікропагонів. Для стерилізації штучно пробуджених і молодих пагонів найефективніше використовувати 0,1 % розчин $AgNO_3$ (7 хв) та 15 % розчин H_2O_2 (10 хв). Відпрацьована методика стерилізації експлантатів S. torminalis забезпечила 80–90 % вихід асептичного рослинного матеріалу. Встановлено, що режим стерилізації суттєво не впливав на первинний морфогенез експлантів і проходив рівномірно. Визначено оптимальні складові живильних середовищ на етапі введення у культуру in vitro та первинного морфогенезу S. torminalis.

Для культивування різних типів експлантів S. torminalis, використовували живильні середовища WPM із додаванням до їх складу синтетичних регуляторів росту рослин: 6-бензиламінопурин, тідіазурон, кінетин 0,5–1,5 мг·л$^{-1}$ й α-нафтилоцтової кислоти 0,01–0,05 мг·л$^{-1}$ як окремо, так і в поєднанні між собою. Зокрема, для регенерації рослин із бічних та апікальних бруньок експлантів ефективним є середовище WPM із додаванням БАП 1,5 мг·л$^{-1}$ + 0,5 мг·л$^{-1}$ НОК та середовище WPM + ТДЗ 0,5 мг·л$^{-1}$ із додаванням PVP 200 мг·л$^{-1}$.

Для індукції закладання додаткових бруньок і пагонів на експланті з апікальних меристем у середовище слід додавати 4,0 мг·л$^{-1}$ БАП + 0,01 мг·л$^{-1}$ НОК із додаванням PVP 200 мг·л$^{-1}$.

***Ключові слова:** Sorbus torminalis L., асептична культура, морфогенез.*

Актуальність та аналіз останніх досліджень і публікацій. Зміни природних територій, їх деградація, спричинені діяльністю людини та змінами клімату, прискорюють зникнення видів та популяцій (Shpak, 2019, 2021). Культивування раритетних видів рослин із метою збереження їх генофонду є одним з основних завдань сучасності.

Рід *Sorbus* L. належить до родини розових (*Rosaceae*) і налічує 84 види, а також велику кількість гібридних форм, які ростуть у помірному поясі Північної півкулі. *S. torminalis* – берека є одним із видів деревних рослин, який росте на території України, має міцну деревину, рівний і стрункий стовбур заввишки більше як 25 м, густу й дуже декоративну крону (Kokhno et al., 2002). Належить до рідкісних, надзвичайно цінних аборигенних видів. Широке використання береки лікарської стало причиною винищення цієї рослини. Нині береку лікарську занесено до Червоної книги майже 10 країн, зокрема й України з наданням цьому дереву охоронного статусу – таке, що зникає (Vasyliuk, 2017; Grynyk et al., 2019).

Найстарші представники береки в Україні були зафіксовані на Поділлі на початку XX ст. У різних кліматичних поясах тривалість життя дерев коливається від 80 до 400 років (Diduch, 2009, Grynyk et al., 2019). Також збереглися поодинокі особини або групи з 3–5 дерев, зокрема в місцях, мало придатних для лісогосподарської діяльності (Bondar, 2002). Багатовікові екземпляри береки наявні в деяких ботанічних садах і дендропарках Києва.

Берека лікарська перебуває під охороною на території природних заповідників Ялтинського гірсько-лісового, Карадазького, Кримського та «Медобори»; у національних природних парках «Подільські Товтри» та «Кармелюкове Поділля»; РЛП «Чернівецький», «Дністровський каньйон»; у національному дендропарку «Софіївка» НАН України; у заповідних урочищах та пам'ятках природи Чернівецької, Івано-Франківської, Тернопільської та Вінницької областей. Заборонено вибіркову рубку дерев береки лікарської, руйнування місць її природного поновлення (Shpak, 2019, 2018, 2021).

Для збереження цієї рослини рекомендують культивувати цінні екземпляри в штучних умовах, зокрема методом мікроклонального розмноження рослин *in vitro*, тобто в пробірці (Dunstan et al., 1986; Chalupa, 2002; Bilous et al., 2019; Chornobrov et al., 2019). Актуальність мікроклонального розмноження саме цього виду *in vitro* пов'язана з тим, що традиційні методи є недостатньо ефективними й мають певні недоліки (Bendorz, 2004; Syplyva, 2009; Grynyk et al., 2019).

Крім того, збереження цінних екземплярів, багатовікових дерев *S. torminalis,* як елементів природних комплексів території природно-заповідного фонду України, нині можливе лише з використанням культури ізольованих тканин. Тому розроблення основних підходів на кожному з етапів мікроклонального розмноження – єдиний шлях отримання за мінімальної кількості маточних рослин у короткі терміни, необхідної кількості морфологічно стабільного та генетичного однорідного садивного матеріалу (Boulay, 1987; Bajaja, 1986; Arrillaga et al., 1991; Bilokurova, 2010).

Мета дослідження – визначення особливостей прямої регенерації рослин *S. torminalis* (L.) на початкових етапах культивування ізольованих мікропагонів *in vitro* залежно від генотипу, типу експланта, умов культивування та складу живильного середовища.

Матеріали і методи дослідження. Експериментальні роботи проводили у лабораторії біотехнології та клітинної інженерії Національного університету біоресурсів та природокористування України. Дослідним об'єктом була рослина *S. torminalis*, яка зростає на території арборетуму НУБіП України і є цінним декоративним інтродуцентом, і багатовікові екземпляри, що зростають на території м. Київ.

Для виконання дослідів експланти відбирали з лютого до березня з рослин-донорів старих дерев. Це були частини однорічних пагонів довжиною від 15 до 25 см із верхівковими та бічними бруньками. Зрізані пагони поміщали до термошафи на 14 днів для пророщування за температури повітря +24°С. Сформований приріст із бруньок використовували для введення в культуру *in vitro*. Здерев'янілі фрагменти пагонів також використовували як експланти. Живці розміром 3–4 см нарізали з ізольованих пагонів на початкових етапах сезонного розвитку *S. torminalis*. У цей період їх контамінація значно менша, а підвищений гормональний фон сприяє більш ефективному введенню в культуру *in vitro*.

Перший етап стерилізації проводили в нестерильних умовах, промиваючи фрагменти рослин у мильному розчині з додаванням Твін-20 за постійного помішування протягом 15 хв. Після цього промивали 15 хв у проточній воді й переносили в стерильну дистильовану воду (dH_2O).

Для стерилізації рослинного матеріалу *S. torminalis* використовували 70 % етанол (протягом 30–60 с), 0,1 % розчин нітрату срібла ($AgNO_3$) (5–15 хв) і 0,1 % водний розчин $HgCl_2$ (5–15 хв). Для регенерації мікропагонів застосовували живильне середовище (ЖС) Woody Plant Media (WPM), безгормональне (б/г), модифіковане антиоксидантами (Chalupa, 1987, 1992; Lloyd & McCown, 1980).

Для дослідження регенераційної здатності фрагменти пагонів *S. torminalis* завдовжки 1,0−1,5 см культивували на ЖС WPM базовому з додаванням синтетичних регуляторів росту рослин: 0,5–2,0 мг·л$^{-1}$ БАП, НОК 0,01–0,5 мг·л$^{-1}$ та полівінілпіролідона (PVP) 200–500 мг·л$^{-1}$.

Результати дослідження та їх обговорення. Процес отримання асептичної культури з експлантів багатовікових дерев ускладнений через ендогенну та екзогенну ураженості тканин й інтенсивне виділення вторинних метаболітів у живильне середовище.

На ефективність отримання асептичних і здатних до подальшого розвитку експлантів у культурі *in vitro* впливає низка факторів, зокрема тип стерилянта, експозиція та фаза росту донорської рослини.

Враховуючи всі особливості експлантів із багатовікових дерев, підбирали стерилізувальний розчин, який легко вимивався з тканин дистильованою водою або розкладався, щоб не пошкоджувати тканини рослин.

Для отримання первинної морфогенно-здатної культури експлантів оптимальною виявилась така схема стерилізації: спочатку занурення експлантів на 30–60 с у 0,1 % розчин $HgCl_2$, після – 70 % розчин етанолу (C_2H_5OH) 30 с, далі 0,1 % розчин хлориду ртуті ($HgCl_2$) з експозицією 5–8 хв. Після цього експланти промивали двічі у стерильній dH_2O і третій раз занурювали у розчин галової кислоти на 5 хв (конц. 5 млМоль). У такий спосіб нам вдалось зменшити кількість виділених вторинних метаболітів експлантами на початкових етапах і збільшити ефективність стерилізації на 30 %. Також вдалося з'ясувати, що ви-

1. Результат стерилізації експлантів *S. torminalis*

№ з/п	Стерилізувальна речовина, %		Експозиція, хв	Кількість експлантів на 3 добу, %		
				уражені	морфогенно здатні	загиблі
1	$AgNO_3$ H_2O_2	0,1 25	7 10	5	60	35
2	$AgNO_3$ H_2O_2	0,1 15	7 10	5	85	10
3	$AgNO_3$	0,1	10	80	20	-
4	$AgNO_3$	0,1	7	90	-	10
5	$HgCl_2$	0,1	10	10	40	50
6	$HgCl_2$	0,1	7	3	90	7
7	$HgCl_2$	0,1	5	40	30	30

користання розчину пероксиду водню H_2O_2 15 % за такою самою схемою забезпечує ще менше виділення фенолів експлантами *S. torminalis*.

Аналізуючи кількість стерильних та інфікованих експлантатів, після застосування різних стерилізувальних розчинів (табл. 1) встановлено, що найефективнішим виявився спосіб стерилізації № 2 з використанням 0,1 % розчину $AgNO_3$ з експозицією 7 хв та витримкою після цього у 15 % розчині H_2O_2 протягом 10 хв.

Такий підхід дав змогу отримати 85 % асептичних і життєздатних експлантів на 3-тю добу культивування. Стерилізація експлантів лише з використанням розчину $AgNO_3$ (7–10 хв) не дала позитивних результатів.

У цьому випадку спостерігали окислення та ураження тканин грибними і бактеріальними патогенами.

На відміну від цього 0,1 % розчин $HgCl_2$ можна було використовувати як для здерев'янілих, так і штучно пробуджених пагонів без поєднання з іншими розчинами. Для штучно пробуджених пагонів ефективність становила 90 %.

У результаті варіант стерилізації № 2 виявився найбільш оптимальним, оскільки ізольовані експланти на 14-й день культивування проявляли здатність до морфогенезу (рис. 1).

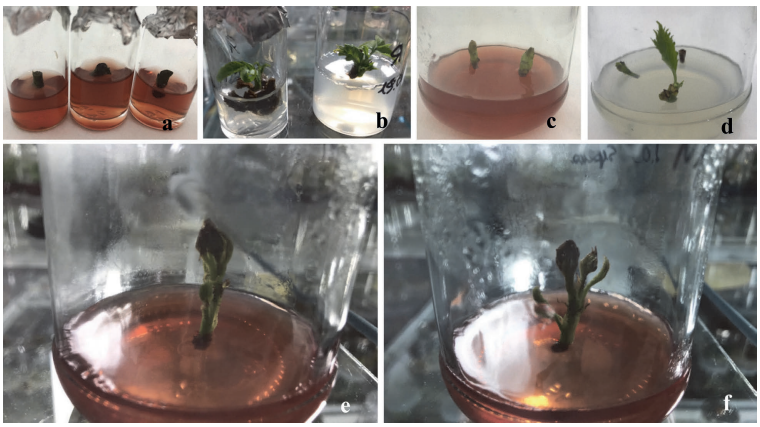

Рис. 1. Асептичні й регенераційно здатні експланти *S. torminalis in vitro:* *a* – 3 доба; *c* – 7 добу; *b*, *d* – 14 доба; *e*, *f* – 21 доба

Враховуючи те, що стерилізація – це стрес для рослини, було проведено дослідження з впливу способу стерилізації на особливості первинного морфогенезу *S. torminalis*.

У результаті не було встановлено значного порушення у проходженні первинного морфогенезу й розвитку експлантів. Після першого пасажу формування мікропагонів відбувалося протягом 60 діб.

Щоб стимулювати первинну регенерацію мікропагонів *S. torminalis* із культури меристем використовували ЖС WPM доповнене регуляторами росту рослин (РРР) 0,5–4,0 мг·л$^{-1}$ БАП, ТДЗ, кінетин, НОК 0,01–0,5 мг·л$^{-1}$ (табл. 1).

Додатково до ЖС додавали 7 г·л$^{-1}$ агару, 0,1 г·л$^{-1}$ мезоінозитолу, джерелом вуглеводневого живлення слугувала сахароза та глюкоза 10-30 г·л$^{-1}$. Як джерело заліза використовували базову хелатну форму заліза – *Fe-хелат* та високоефективну хелатну форму заліза етилендіаміндигідроксифенилацетат заліза 6 % *(FeEDDHA)*, полівінілпіролідон (PVP) 200–500 мг·л$^{-1}$, що виконує антиоксидантну функцію в середині клітин, в умовах стресу, pH середовища – 5,6.

Найбільш оптимальним типом первинних експлантів *S. torminalis* для отримання асептичної культуру *in vitro* є штучно пробуджені бруньки.

Для успішного введення в культуру *in vitro* найкраще підходить ЖС WPM із додаванням 30 мг·л$^{-1}$ сахарози, 7 г·л$^{-1}$ агар-агар з pH = 5,6, а також умовами культивування: освітленість 4000 лк, температура +25±1°C, 16-годинний фотоперіод.

Для стабілізації *in vitro* регенерантів *S. torminalis* рекомендують ЖС WPM, доповнене БАП 1,0 мг·л$^{-1}$ та ТДЗ 0,5 мг·л$^{-1}$, за 40–60 діб культивування *in vitro* у всіх регенерантів спостерігали індукцію додаткових бруньок.

У варіантах живильних середовищ WPM із додаванням БАП і НОК у різних концентраціях коефіцієнт мультиплікації мікропагонів коливався в межах 1,2–3,88, а кількість експлантів, що дали проліферацію бруньок, становила (40,00±5,03 до 92,20±2,68 %). У цих варіантах експланти мали міцні стебла й темно-зелене забарвлення листків.

У варіанті ЖС WPM + 1,5 мг·л$^{-1}$ БАП + 0,05 мг·л$^{-1}$ НОК кількість експлантів, що дали проліферацію бруньок, становила 81,97±3,48 %, коефіцієнт розмноження пагонів – 3,13, при цьому пагони були добре розвинені, зеленого забарвлення й довжиною близько 4,89±0,45 см. Цей варіант оптимальний для формування бруньок.

2. Вплив регуляторів росту на здатність до регенерації мікропагонів у експлантів *S. torminalis*

ЖС	Регулятори росту рослин, мг·л$^{-1}$				Кількість експлантів з проліферацією, %	Коефіцієнт мультиплікації мікропагонів	Середня висота мікропагонів, см
	БАП	НОК	ТДЗ	Кін			
К WPM	-	-	-	-	22,68±4,25	1,67	1,36±0,17
WPM 1	0,5	0,2	-	-	40,00±5,03	1,24	1,41±0,12
WPM 2	1,0	0,01	-	-	88,89±3,14	3,88	2,65±0,65
WPM 3	1,5	0,05	-	-	81,97±3,48	3,13	4,89±0,45
WPM 4	4,0	0,01	-	-	92,20±2,68	2,43	2,72±0,36
WPM 5	-	0,1	0,5	-	59,64±2,80	2,33	2,73±0,79
WPM 6	-	-	-	0,5	42,65±3,46	1,51	1,26±0,19
WPM 7	-	-	-	0,25	34,62±4,17	1,20	1,16±0,37

У варіанті середовища WPM + 1,0 мг·л$^{-1}$ БАП, 0,01 мг·л$^{-1}$ НОК коефіцієнт розмноження мікропагонів становить 3,88, довжина мікропагонів – 2,65±0,65 см. При додаванні до ЖС МС кінетину в різних концентраціях коефіцієнт мультиплікації коливався в межах 1,20–1,51, а кількість експлантів, що дали проліферацію бруньок, сягало 42,65±3,46 %. У цих варіантах було зауважено формування бруньок середньої довжини зі світло-зеленим забарвленням. У результаті можна зробити висновок, що додавання кінетину не є оптимальним для покращення регенераційної здатності первинних експлантів *S. torminalis*.

Своєю чергою ЖС WPM + 30 г·л$^{-1}$ сахарози + 7 г·л$^{-1}$ агару + 1,5 мг·л$^{-1}$ БАП та ЖС WPM + 30 г·л$^{-1}$ сахарози + 7 г·л$^{-1}$ агару + 1,0 мг·л$^{-1}$ БАП 0,5 мг·л$^{-1}$ НОК є найкращими для розмноження мікропагонів із первинних асептичних експлантів *S. torminalis*.

Культивування експлантів на цьому живильному середовищі забезпечило розвиток центрального пагону і формування додаткових адвентивних пагонів на 21–60 добу культивування.

Висновки і перспективи. За результатами було визначено особливості прямої регенерації первинних мікропагонів *S. torminalis* на етапі введення в культуру *in vitro* та початкових етапах культивування ізольованих мікропагонів залежно від типу експланта, умов культивування та складу живильного середовища.

Найоптимальнішим рослинним матеріалом *S. torminalis* для введення в культуру *in vitro* є однорічні пагони.

Досліджено, що стерилізації за такої схеми: оброблення мильним розчином на мішалці 15 хв + промивання у воді 10 хв + перенесення у стерильну воду + занурення у розчин етанолу 30 сек + витримування у розчині 0,1 % $HgCl_2$ протягом 7 хв із триразовим відмиванням по 7 хв забезпечує найбільшу ефективність стерилізації 96 % асептичних життєздатних експлантів.

Для штучно пробуджених і молодих пагонів ефективним є використання комплексної стерилізації з розчинами – 0,1 % $AgNO_3$ (7 хв) та 15 % H_2O_2 (10 хв) і триразовим відмиванням по 10 хв, що забезпечує 85 % асептичних і здатних до морфогенезу експлантів.

Встановлено, що режим стерилізації суттєво не впливав на морфогенез експлантів і проходив рівномірно на всіх придатних схемах стерилізації.

Додавання PVP 200 мг·л$^{-1}$ позитивно впливало на розвиток усіх експлантів, побуріння середовища та експланту не помічали.

Оптимізовано живильне середовище для регенерації рослин із бічних та апікальних бруньок експлантів (середовище WPM + БАП 1,5 мг·л$^{-1}$ + 0,5 мг·л$^{-1}$ НОК та середовище WPM + ТДЗ 0,5 мг·л$^{-1}$ з додаванням PVP 200 мг·л$^{-1}$.

Для індукції закладання додаткових бруньок і пагонів на експланті з апікальних меристем у середовище слід додавати 4,0 мг·л$^{-1}$ БАП + 0,01 мг·л$^{-1}$ НОК із додаванням PVP 200 мг·л$^{-1}$.

Активація морфогенезу з вегетативних експлантів старих дерев береки проходила нерівномірно.

Порівнюючи дані попередніх років із отриманими, можемо зробити висновок, що регенераційна здатність експлантів напряму залежала від генотипу рослини донора, тотипотентності клітин та їхнього генетичного потенціалу.

Встановлено, що для збалансованого росту і розвитку первинних асептичних експлантів із багатовікових дерев у культурі *in vitro* та запобігання впливу вторинних метаболітів найефективніше використовувати PVP 200-500 мг·л$^{-1}$. Використання активованого вугілля та глутатіону є малоефективним.

Список літератури

Arrillaga, I., Marzo, T. & Segura, J. (1991). Micropropagation of juvenile and adult Sorbus domestica L. *Plant Cell Tissue and Organ Cult*., *27*, 341–348.

Bajaj, Y. P. S. (1986). Biotechnology of tree improvement for rapid propagation and biomass energy production.. In Y. P. S. Bajaj (Ed.), *Biotechnology in Agriculture and Forestry* (Vol. 1, pp. 1–23). Berlin: Springer-Verlag.

Bednorz, L. (2004). Distribution and resources of Sorbus torminalis (Rosaceae: Maloideae) in Poland. *Fragmenta Floristica et Geobotanica Polonica*, *11*, 105–121.

Bilokurova, V. B. (2010). Methods of biotechnology in the system of measures for the conservation of plant biodiversity. *Cytology and Genetics*, *3*, 58–72 [in Ukrainian].

Bilous, S. Yu., Oliinyk, O. O., Kliuvadenko, A. A. (2019). Obtaining aseptic culture Eucommia ulmoides Oliver of Ukrainian Polissya. *Ukrainian journal of forest and wood science*, *4* (10), 26–33 [in Ukrainian].

Bilous, S. Yu., Marchuk, Yu. M., Likhanov, A. F., Kliuvadenko, A. A., Chornobrov, O. Yu., Oliinyk, O. O., & Shytova, O. E. (2019). Microclonal propagation of historically valuable centuries-old trees. *Scientific and methodological recommendations.* Kyiv: NULESU [in Ukrainian].

Bondar, A. O. (2002). *Bereka in forest plantations.* Vinnytsia [in Ukrainian].

Boulay, M. (1987). In vitro propagation of tree species. In C. E. Green, D. A. Sommers, W. P. Hacket, & D. D. Bieshoer (Eds.), *Plant Tissue and Cell Culture* (pp. 367–382). New York: Alan R. Liss, Inc.

Chalupa, V. (1992). Micropropagation of European mountain-ash (Sorbus aucuparia L.) and wild service tree (Sorbus torminalis (L.) Cr.). In Y. P. S. Bajaj (Ed.), *High-tech and micropropagation II* (Vol. 18, *Biotechnology in Agriculture and Forestry*, pp. 211–226). Berlin: Springer-Verlag.

Chalupa, V. (1987). European Hardwoods. In J. M. Bonga, & D. J. Durzan (Eds.), *Cell and Tissue Culture in Forestry* (Vol. 3, pp. 224–246). Dordrecht: Martinus Nijhoff.

Chalupa, V. (2002). In vitro propagation of mature trees of Sorbus aucuparia L. and field performance of micropropagated trees. *J. For. Sci*., *48* (12), 529–535.

Chornobrov, O., Bilous, S., Chornobrov, O., & Manko, M. (2019). Peculiarities of morphogenesis of the endangered species of willow (Salix spp.) in vitro. *Biologija*, *65* (1), 48–55.

Didukh, Ya. P. (Ed.). (2009). *Red Book of Ukraine. Flora*. Kyiv: Hlobalkonsaltynh [in Ukrainian].

Dunstan, D. J., & Thorpe, T. A. (1986). Regeneration in forestry trees. In I. K. Vasil (Ed.), *Cell Culture and Somatic Cell Genetics of Plants* (Vol. 3, pp. 223–241). Orlando: Academic Press Inc.

Grynyk, I. V., Moskalets, T. Z., Frantsishko, V. S. et al. (2019). Checkertree mountainash (*Sorbus torminalis* (L.) Crantz): new breeding forms and promises of their use in horticulture. *Horticulture, 74,* 45–65. [in Ukrainian].

Kokhno, M. A., Gordienko, V. I., Zarubenko, A. U. et al. (2002). *Dendroflora of Ukraine. Wild and cultivated trees and shrubs. Angiosperms, part 1*. Kyiv: Phytosocial Center [in Ukrainian].

Lloyd, G., & McCown, B. (1980). Commercially feasible micropropagation of mountain laurel, Kalmia latifolia, by use of shoot-tip culture. *Comb. Proc. Int. Plant Prop. Soc*., *30*, 421–427.

Shpak, N.P. (2018). Fruiting and natural regeneration of *Sorbus torminalis* L. under the tent of oak plantations in the South Podolsk Forest-Steppe of Ukraine. *Scientific Bulletin of NLTU*, *28* (10), 53–56. [in Ukrainian].

Shpak, N. P. (2019). Bereka torbus (*Sorbus torminalis* L.) is a valuable forest fruit plant. In *Internaional scientific and practical conference. Topical issues of methods of teaching natural sciences. Lublin, Republic of Poland (December 27–28*, pp. 105–109) [in Ukrainian].

Shpak, N. P., Shlapak, V. P., Adamenko, S. A., Shvecs, Ya. A., & Savchenko, O. M. (2020). Local populations of Sorbus torminalis (L.) CranŁ in forest plantings of natural origin in the SouthPodolsk Forest-Steppe of Ukraine. *Folia Forestalia Polonica, series* A, *62* (4), 246–257.

Shpak, N. P. (2021). *Forestry and ecological features of distribution and renewal of medicinal sorghum (Sorbus torminalis (L.) CRANTZ in the plantations of the South Podolsk forest-steppe of Ukraine*. Dissertation for the degree of Doctor of Philosophy. Uman [in Ukrainian].

Syplyva, N. O. (2009). Structural analysis of rare dendroflora of Vinnytsia region. *Scientific Bulletin of NLTU, 19* (5). 39–42. [in Ukrainian].

Vasyliuk, O. V. (2017). *The state of reflection in the program documents of Ukraine and the status of implementation of the provisions of the UN Convention on the Protection of Biological Diversity: an analytical report* [in Ukrainian].

Bilous S. Yu., Matiashuk R. K.

PRIMARY MORPHOGENESIS OF *SORBUS TORMINALIS* L. (GRANTZ) INTO *IN VITRO* CULTURE

Nowadays in vitro methods, combined with ex situ and becoming an increasingly important means of preserving and maintaining the level of phytodiversity stability. Sorbus torminalis L. is a tree of the Rosaceae family, which grows on the territory of Ukraine, belongs to rare, valuable aboriginal species and is listed in the Red Book of Ukraine, with its protection status – endangered.

The peculiarities of introduction of in vitro culture of perennial representatives of S. torminalis with the use of different types of explants, sterilizing substances, cultivation conditions and nutrient medium composition are presented in the paper. For in vitro culture of S. torminalis, annual shoots with apical and lateral buds 15–25 cm long are optimal. The influence of different sterilization options on the development of primary microshoots has been studied. For sterilization of artificially awakened and young shoots it is most effective to use 0.1 % solution of $AgNO_3$ (7 min) and 15 % solution of H_2O_2 (10 min). The developed method of sterilization of S. torminalis explants provided 80–90 % yield of aseptic plant material. It was found that the sterilization regime did not significantly affect the primary morphogenesis of explants and was uniform. The optimal components of nutrient media at the stage of introduction into vitro culture and primary morphogenesis of S. torminalis have been established.

For the cultivation of different types of explants of S. torminalis, used WPM nutrient media with the addition of synthetic plant growth regulators 6-benzylaminopurine, thidiazuron, kinetin 0,5–1,5 mg $mg \cdot l^{-1}$ and α-naphthylacetic acid 0,01-0,05 $mg \cdot l^{-1}$ both alone and in combination with each other. In particular, for the regeneration of plants from the lateral and apical buds of explants is effective WPM medium with the addition of BAP 1,5 $mg \cdot l^{-1}$ + 0,5 $mg \cdot l^{-1}$ NAA and WPM + TDZ medium 0,5 $mg \cdot l^{-1}$ with adding PVP 200 $mg \cdot l^{-1}$.

To induce the laying of additional buds and shoots on the explant from the apical meristems in the medium should be added 4,0 $mg \cdot l^{-1}$ BAP + 0,01 $mg \cdot l^{-1}$ NAA with the addition of PVP 200 $mg \cdot l^{-1}$.

Keywords: *Sorbus torminalis L., aceptic culture, morphogenes.*

Отримано: 2021-11-17