

Багатокомпонентні завдання, спонукають бачити і утримувати в свідомості одночасно різні аспекти питання, що вивчається, оперувати всіма необхідними інтелектуальними вміннями під час вивчення теоретичного матеріалу.

Проведений формувальний експеримент засвідчив, що пропоновані завдання допомагають вчителю хімії в плануванні та організації пізнавальної діяльності учнів на кожному етапі уроку, сприяють розвитку в них монологічного мовлення, а також вмінь здійснювати самоконтроль та самооцінку.

Список літератури:

1. Астахов О.І., Чайченко Н.Н. Дидактичні основи навчання хімії. К.: Освіта, 2014. 128 с.
2. Зуєва М.В., Б.В. Іванова. Вдосконалення організації навчальної діяльності школярів на уроках хімії. К.: Освіта, 2009. 160 с.

УДК 576.5: 582.923.1

СТВОРЕННЯ КОЛЕКЦІЇ РОСЛИН І КУЛЬТУРИ ТКАНИН ДЕЯКИХ ВИДІВ РОДУ *GENTIANA L. IN VITRO*

**Вовк О.Я., Грицак Л.Р., Майорова О.Ю., Мосула М.З.,
Богатюк І.О., Дробик Н.М.**

Тернопільський національний педагогічний університет імені
Володимира Гнатюка

E-mail: vovk_olena@chem-bio.com.ua

Однією з нагальних проблем загальносвітового масштабу, яка постає сьогодні, є зменшення біорізноманіття. Причинами цього є надмірний вплив людини на довкілля і глобальні кліматичні зміни, що призвели до деградації та фрагментації природних ареалів. Поступове виснаження генетичних ресурсів рослинного світу загрожує генофонду як дикорослих, так і культивованих видів. Тому, сьогодні однією з актуальних і фундаментальних проблем біології є пошук ефективних шляхів і методів збереження та відтворення рослинних ресурсів. Важливими та ефективними методами збереження рослинного

різноманіття є використання біотехнологічних підходів, а саме методів культури *in vitro*. Сьогодні в багатьох країнах світу розвитку біотехнології приділяють велике значення, оскільки її методи можуть зіграти важливу роль у забезпеченні тривалого захисту генетичного різноманіття, надаючи джерело для програм репатріації [1, 3].

Метою дослідження є створення колекції рослин та культури тканин в умовах *in vitro* деяких видів роду *Gentiana* L.

Для дослідження використовували насіння чотирьох видів роду *Gentiana* флори України: тирличу весняного (*Gentiana verna* L.), тирличу ваточникового (*Gentiana asclepiadea* L.), тирличу звичайного (*Gentiana pneumonanthe* L.) і тирличу хрещатого (*Gentiana cruciata* L.). Мікророзмноження тирличів проводили шляхом прямого морфогенезу, використовуючи для цього ділянки пагона з пазушними бруньками, оскільки регеновані таким способом рослини є здебільшого генетично однорідними, ідентичними батьківській формі [2]. На здатність до підтримання мікроклонального розмноження чотирьох видів тирличів вивчали рідкі середовища Мурасіге, Скуга [5] з половинним вмістом макро- та мікросолей (МС/2), доповнені комбінаціями різних концентрацій 6-бензиламінопурину (БАП) (0,05–0,5 мг/л) і кінетину (Кін) (0,1 мг/л і 0,2 мг/л). Оцінку ефективності мікроклонального розмноження проводили через 1–2 місяці, визначаючи середню кількість живців з мікроклонами та середню кількість сформованих пагонів у розрахунку на один живець. Для індукції калюсогенезу використовувалися листові, стеблові та кореневі експланти стерильних рослин *G. verna*, *G. asclepiadea*, *G. pneumonanthe* та *G. cruciata* які висаджували на живильні середовища МС, МС/2 та В₅ [4], доповнені різними комбінаціями концентрацій регуляторів росту Кін, БАП, 2,4-дихлорфеноксиоцтової кислоти (2,4-Д), 1-нафтилоцтової кислоти (НОК). Культури інкубували в темоті при +25 – +26,5°C. Їх субкультивування проводили через кожні 3 тижні. Частоту калюсогенезу визначали через 3 тижні культивування як відношення кількості експлантів з калюсом до загальної кількості експлантів у відсотках.

G. asclepiadea. Виявлено, що найбільш сприятливим для формування мікроклонів на висаджених живцях рослин з

пожижевської популяції є живильне середовище МС/2, доповнене 0,5 мг/л БАП і 0,1 мг/л Кін. Відсоток здатних до мультиплікації живців на цьому середовищі був досить високим – 89,4 %. Середня кількість мікроклонів у розрахунку на один живець становила 4–5 шт. *G. pneumonanthe*. Оптимальним для мультиплікації *G. pneumonanthe* було середовище МС/2, доповнене 0,2 мг/л БАП і 0,2 мг/л Кін. За таких умов на 66,8 % експлантів рослин формувалися мікроклони, кількість яких у розрахунку на один живець складала 7,21. *G. cruciata*. Для ефективного мікроклонування тирличу потрібні 0,5 мг/л БАП і 0,1 мг/л Кін у живильному середовищі. При цьому на 69,4 % висаджених експлантів відбувалося формування мікроклонів, кількість яких на один живець складала 5,94. *G. verna*. Оптимальним серед протестованих середовищ для мультиплікації *G. verna* було МС/2, доповнене 1 мг/л БАП і 0,2–0,3 мг/л Кін, на якому кількість експлантів, здатних формувати адвентивні пагони, становила 74 %, а кількість пагонів у розрахунку на один висаджений живець – 7,48.

Встановили, що калюсогенез на кореневих і листових експлантах рослин *G. cruciata* найкраще відбувався на середовищі МС/2, доповненому 0,1 мг/л БАП і 1,0 мг/л 2,4-Д. У той же час, для інтенсивнішого формування калюсу на стеблових експлантах рослин потрібен підвищений вдвічі вміст макро- та мікроелементів. Вдвічі менша концентрація 2,4-Д (0,5 мг/л) необхідна для ефективної індукції калюсогенезу на усіх типах експлантів рослин *G. pneumonanthe*. Оптимальним для індукції калюсу з усіх типів експлантів *G. verna* було середовище МС/2, доповнене 0,1 мг/л БАП та 0,5 мг/л 2,4-Д. Найвищою здатністю до калюсоутворення на усіх протестованих середовищах характеризувалися стеблові експланти від рослин цього виду. На листових експлантах калюс хоча й формувався, але вже на 3–4 пасажі його ріст повністю припинявся, спостерігалось потемніння і загибель тканин. Найбільшу підтримуючу здатність для формування калюсу на кореневих експлантах рослин *G. asclepiadea* мало середовище В₅, доповнене 0,2 мг/л Кін і 1,0 мг/л 2,4-Д, на листових і стеблових експлантах – середовище В₅ з 0,2 мг/л БАП і 1,0 мг/л 2,4-Д.

Отже, нами підбрано умови для мікроклонального

розмноження *G. verna*, *G. asclepiadea*, *G. pneumonanthe* та *G. cruciata*. Встановлено, що оптимальним для мультиплікації різних видів тирличів є середовище МС/2, доповнене різними співвідношеннями цитокінінів БАП (0,05–0,5 мг/л) та Кін (0,1–0,2 мг/л). Підібрано умови індукції калюсу та його проліферації для наведених вище видів тирличів та отримано їхні тривало вирощувані культури тканин. Виявлено, що для росту культур тканин *G. verna*, *G. pneumonanthe* та *G. cruciata* оптимальним є доповнене регуляторами росту БАП і 2,4-Д живильне середовище МС/2, а для *G. asclepiadea* – В₅.

Створено колекцію рослин *in vitro* та культур тканин різного походження від рослин цих видів. Зазначені рослини і культури тканин можуть бути використані для масового розмноження *in vitro* з метою наступної адаптації до умов *ex vitro*, а також для проведення різнопланових фізіолого-біохімічних досліджень для отримання альтернативного джерела біологічно активних речовин.

Список літератури:

1. Страшнюк Н.М., Грицак Л.Р., Леськова О.М., Мельник В.М. Введення в культуру *in vitro* деяких видів роду *Gentiana* L. *Физиология и биохимия культ. растений*. 2004. Т.36, №4. С. 327–334.
2. Кушнір Г. П., Сарнацька В.В. Мікроклональне розмноження рослин. Теорія і практика. К.: Наук. думка, 2005. 270 с.
3. Coates D.J., Dixon K.W. Current perspectives in plant conservation biology. *Austral. J. Bot.* 2007. 55. P. 187–193.
4. Gamborg O.L., Eveleigh D.E. Culture methods and detection of glucanases in cultures of wheat and barley. *Can. J. Biochem.* 1968. Vol.46, №5. P. 417–421.
5. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 1962. Vol. 15, № 13. P. 473–497.