

А.М. ЛАВРЕНТЬЄВА, Р.В. ІВАННІКОВ

Національний ботанічний сад ім. М.М. Гришка НАН України
Україна, 01014 м. Київ, вул. Тімірязєвська, 1

ВИКОРИСТАННЯ МЕТОДІВ АСЕПТИЧНОЇ КУЛЬТУРИ ДЛЯ РОЗМНОЖЕННЯ РІДКІСНИХ ТА ВИСОКОДЕКОРАТИВНИХ ПРЕДСТАВНИКІВ ТРОПІКОГЕННОЇ ФЛОРИ

Підсумовано результати багаторічних досліджень розмноження рідкісних та високодекоративних рослин в умовах культури in vitro. Розроблено методи мікроклонального та насінневого розмноження тропічних та субтропічних рослин з багатьох родин, оптимальні біотехнологічні прийоми, які дають змогу отримати масовий посадковий матеріал цих рослин.

У Національному ботанічному саду імені М.М. Гришка (НБС) створена велика колекція тропічних та субтропічних рослин, яка нараховує близько 3000 видів, різновидів, сортів. Матеріал для колекції було отримано шляхом обміну за делектусами між ботанічними садами колишнього Радянського Союзу, а також привезено з численних експедицій у країни Південної Америки, Азії та Африки. Ініціатором, "душею" та організатором цієї роботи була і є колишня завідувачка відділу тропічних та субтропічних рослин, а нині директор НБС ім. М.М. Гришка Тетяна Михайлівна Черевченко. Завдяки її невичерпній енергії, відданості справі та щирій любові до рослин і була зібрана колекція тропічних та субтропічних рослин, яка сьогодні є однією з найбільших на теренах України. Тому сьогодні у вчених є можливість проводити ґрунтовне дослідження різних питань біології, культивування та розмноження представників тропікогенної флори.

Для збереження генофонду тропічних та субтропічних рослин особливого значення набуває розробка як прийомів культивування окремих видів ex situ, так і методів їх масового розмноження. Найпрогресивнішим та економічно вигідним методом розмноження рослин є метод

культури in vitro. Він дає змогу швидко розмножити рослини, забезпечити стерильність та отримати масовий, морфологічно вирівняний посадковий матеріал. Цей метод ґрунтується на здатності рослинних тканин утворювати під впливом екзогенних гормонів калюс, протокорми та пагони [1, 4].

Зважаючи на перспективність зазначеного методу у 1975 р. при відділі тропічних та субтропічних рослин НБС за ініціативою та допомогою Т.М. Черевченко була створена одна з перших на той час в Україні лабораторій мікророзмноження рослин. Перед її працівниками були поставлені конкретні завдання: розробити методи клонального та насінневого розмноження тропічних та субтропічних рослин в асептичних умовах.

Найбільшу увагу було приділено розмноженню представників родин Araceae Juss. та Orchidaceae Juss. як таких, що найбільше потребують збереження та розмноження ex situ. Багато видів з цих родин є рідкісними, деякі з них використовують у фітодизайні – вони входять в асортимент найпоширеніших та найулюбленіших кімнатних рослин. Рослини з родини Orchidaceae найчастіше застосовують як гарну горщикову та зрізну культуру. Крім того, ці рослини використовують для вирішення суто наукових питань, зокрема вивчення біології розвитку, онтоморфогенезу

та морфогенезу в культурі *in vitro*. Вони є ідеальним модельним об'єктом для вивчення впливу на рослинні організми імітованої мікрогравітації [8, 10, 12]. Все це потребує великої кількості посадкового матеріалу.

Перші дослідження, здійснені у новоствореній лабораторії, були присвячені насінневу розмноженню різних видів орхідних в культурі *in vitro*. Використовувалося насіння, одержане за делектусами і власної репродукції. Цьому передувала розробка методики штучного запилення квіток орхідних в умовах оранжерей [11].

Відомо, що плоди орхідних містять велику кількість насіння (до 6 млн). У природних умовах проростання насіння відбувається тільки за умови встановлення симбіотичних зв'язків зі специфічними видами грибів. За статистикою, кількість виповненого насіння, яке потрапляє у сприятливі умови і проростає, становить лише близько 5%. Метод насінневого розмноження орхідних *in vitro* дає змогу проростити на поживному середовищі переважну більшість життєздатного насіння, а іноді (за обмеженої кількості колекційних екземплярів) є єдиним способом їх збереження *ex situ*. Цим і зумовлене його широке застосування в багатьох країнах світу для промислового вирощування та одержання нових сортів орхідних.

Специфічність насінневого розмноження орхідних у культурі *in vitro* виявляється в їх здатності утворювати вторинні протокорми під впливом дії різноманітних чинників навколишнього середовища. Вони диференціюються з епідермальних та субепідермальних клітин первинного протокорма, внаслідок чого можна отримати велику кількість рослин у короткі терміни.

За роки існування лабораторії були проведені комплексні дослідження насінневого розмноження в культурі *in vitro* багатьох видів орхідних. Цьому сприяла розробка методики стерилізації насіння, завдяки чому ріст та розвиток сіянців пригнічувалися мінімально.

Характерною особливістю насіння орхідних є його невеликі розміри та наявність недиференційованого на органи зародка, тому ріст і розвиток проростків повністю залежить від складу поживного середовища. У зв'язку з цим питанню розробки поживного середовища для пророщування насіння орхідних було приділено особливу увагу. В результаті проведених робіт було підібрано склад поживного середовища, головними компонентами якого були мінеральні солі за Кнудсоном. Замість дорогих та дефіцитних складових (ендосперму горіха кокосової пальми та інших екзотичних органічних добавок) були експериментально підібрані такі речовини, як гумат натрію (50 мг/л), пептон (2 г/л) та активоване вугілля (500 мг/л). Встановлено, що для більшості наземних та епіфітних видів орхідних це середовище є найпридатнішим. При його використанні збільшується схожість, скорочується час проростання насіння та прискорюються темпи онтогенетичного розвитку сіянців. На пропис цього середовища було отримано авторське свідоцтво. Його широке застосування дало можливість отримати сіянці не тільки різних видів орхідних, а й представників інших родин: *Cactaceae* (*Astrophytum* Lem., *Melocactus* Etourn. L. et O., *Mamillaria* Haw., *Neochilenia* Backbg., *Notoctactus* K. Sch., *Opuntia* Mill.); *Crasuleaceae* (*Sedum* L.); *Euphorbiaceae* (*Euphorbia* L.), *Polypodiaceae* (*Platyserium* Desv.); *Nephrolepidaceae* (*Nephrolepis* Schott.); *Aspleniaceae* (*Asplenium* L.); *Blechnaceae* (*Blechnum* L.); *Cyatheaceae* (*Cyathea* Sm.), та рідкісних культур (*Adenium obesum* Roem. et Schult., *Medinilla magnifica* Lindl., *Cycas revoluta* Thunb.).

Крім того, під час експериментів було встановлено, що насіння таких родів орхідних, як *Phalaenopsis* Blume, *Paphiopedilum* Pfitz., *Laelia* Lindl., *Calanthe* R. Br. та інших досягає швидше, ніж плід, тому висівання насіння безпосередньо з коробочки на поживне середовище значно скорочує строк його проростання.

Орхідні відносяться до рослин, які легко утворюють міжродові гібриди. Як свідчать результати наших досліджень, можливо створення нових міжвидових та міжродових гібридів орхідних нашої та тропікогенної флори з метою отримання великоквіткових гібридів, адаптованих до культивування *ex situ*.

Загальновідомо, що через складну гетерозиготну природу орхідних при насінневому розмноженні відбувається значне розщеплення сортових ознак, в результаті чого утворюються фенотипово різні сіянці. У зв'язку з цим при розмноженні та селекційній роботі з орхідними доцільно використовувати метод клонального розмноження рослин, розроблений Ж. Морелем [15]. При культивуванні експлантів орхідних, які містять меристематичні тканини, на поживному середовищі відбувається формування протокормів, подібних до первинних протокормів. Такі протокорми можна ділити та субкультивувати досить тривалий час, отримуючи необхідну їх кількість (до 1–4 млн шт.). Ця особливість орхідних лежить в основі їх промислового розмноження [14]. Слід зазначити, що найкраще і найшвидше в умовах асептичної культури розмножуються симподіальні види орхідних, повільніше – моноподіальні.

У нашій лабораторії метод клонального розмноження з великим успіхом використовується і для розмноження представників інших родин. Різниця полягає лише у виборі експланта для розмноження та подальших умов його культивування. Незважаючи на широке застосування та велику кількість експериментальних даних, отриманих при використанні цього методу, розробка та удосконалення деяких етапів методу для окремих культур є актуальною проблемою.

Нами виділено такі етапи мікроклонального розмноження рослин: вибір експланта, отримання стерильного рослинного матеріалу, оптимізація поживного середовища, визначення та оптимізація умов культивування

рослин та висадка їх у субстрат. Кожен етап методу має свої цілі та завдання.

Дуже важливим при мікророзмноженні є вибір експланта. При цьому, як показали наші дослідження, слід урахувувати: онтогенетичний та фізіологічний стан інтактної рослини, орган, який є джерелом експланта, та його вік. Нами також встановлено, що при доборі експлантів необхідно зважати на пору року, оскільки зміни у фізіолого-біохімічному стані рослин безпосередньо залежать від сезонних змін. Навесні, коли відбувається інтенсивний приріст молодих пагонів, у тканинах збільшується вміст ауксинів, що потенційно може впливати на розвиток експлантів. Однак, як показали наші дослідження, у рослин з родини *Araceae* осінньо-зимовий період є найкращим для виділення експлантів, що зумовлено їх інтенсивним ростом у цей період [2, 8].

Ріст та розвиток експлантів залежить також і від їхнього розміру. Експланти, які мають розміри від 0,1 до 0,5 см, – більш життєздатні, ніж ті, що мають розмір 0,1–0,5 мм. Для оздоровлення рослин від вірусної інфекції розмір експланта не повинен перевищувати 200 мкм.

Не менш важливим чинником, що впливає на успішність розмноження в асептичній культурі, є генотип рослини. Нами було проведено дослідження регенераційної здатності більш як 22 сортів *Cymbidium hybridum hort.* і встановлено істотну різницю щодо цього показника. Так, сорти з високим морфогенетичним потенціалом формували до 900 протокормів на місяць, а з низьким – лише 100 [10].

З метою добору оптимальних експлантів нами було проведено також детальне морфологічне дослідження різновікових пагонів орхідних. Встановлено, що в пазухах листків вегетативних пагонів є сплячі бруньки, а на кореневищній частині пагона – бруньки відновлення. Вивчення морфологічної будови цих бруньок показало, що всі вони різноякісні, що зумовлено їх

функціональним призначенням; мають різну здатність до морфогенезу, яка залежала від їх розміщення на пагоні та ємності. Найбільший морфогенетичний потенціал мають бруньки відновлення [3].

Апікальні меристеми (*Aglaonema* Schoot., *Cattleya* Lindl., *Cymbidium* hybr., *Paphiopedilum*, *Phalaenopsis*, *Dendrobium phalaenopsis* Fitzg., *Dieffenbachia* Schoot., *Monstera* Engl., *Philodendron* Schoot., *Vanda* Jones., *Angraecum* Bory, *Cordyline* Comm. Ex Juss, *Nidularium* Lem., *Aechmea* Ruiz. et Pav., *Vriesea* Lindl., *Grevillea* R.Br. ex Salisb., *Hakea* Schrad., *Begonia* L., *Musa* L.) виділяли під мікроскопом або біокулярною лупою (МБС-10). Для цього відрізали залишки листових зачатків, виділяли меристему з одним або двома листовими примордіями та невеликою частиною тканини під ними.

Для виділення пазушних бруньок орхідних дуже часто використовують вегетуючі та молоді туберидії, що завдає значної шкоди клону та знижує інтенсивність його цвітіння. Нами була розроблена методика безперервного отримання молодих пагонів. Для цього старі туберидії, які відділяли від клону при пересадці рослин, висаджували у сфагновий мох. При проростанні сплячих бруньок, розташованих на туберидіях, утворювались молоді пагони, які і використовували як джерело експлантів.

Для отримання бруньок спочатку відділяли листки, потім під мікроскопом скальпелем робили по два вертикальних і поперечних надрізи навколо бруньки та один – у глибину. Максимальний розмір такого експланта – 1×1 см.

Якщо як експланти використовували ізольовані листки (*Anthurium* L., *Spathiphyllum* Schoot., *Caladium* Vent., *Cattleya*, *Laelia*, *Phalaenopsis*, *Vanda*), то їх розрізали на сегменти (1 см²) таким чином, щоб кожен з них мав бічну жилку. Сегменти розміщували на поверхні поживного середовища.

Якщо експлантами були сплячі бруньки суцвіть (*Phalaenopsis*, *Dendrobium phalaenopsis*, *Oncidium* Sw.), то спочатку

квітконоси розрізали на сегменти до 3 см завдовжки, кожен з яких мав по одній бруньці. Потім видаляли одну або дві криючі луски та центральну частину бруньки. Такі експланти слід розташовувати на поживному середовищі з урахуванням їхньої фізіологічної полярності.

З практики клонального мікророзмноження рослин відомо, що отримання життєздатного стерильного рослинного матеріалу в багатьох випадках є проблематичним. Поверхневі тканини всіх органів як орхідних, так і інших культур, зазвичай заражені спорами бактерій та грибів. У зв'язку з цим нами був запропонований такий режим стерилізації інтактного матеріалу: експланти обробляли послідовно 70%-м спиртом (1 хв.), 1%-м розчином "Famosept" (15 хв.) або 0,1%-м діациду (20 хв.); 15%-м перекисом водню (15 хв.); 10%-м "Chlorox" (20 хв.). Потім три-чотири рази промивали у стерильній воді. Наведений режим стерилізації не ушкоджував тканини, не пригнічував розвиток рослин і забезпечував максимальну стерильність експлантів. Слід зазначити, що послідовність та експозиція використання стерилізуючих реагентів встановлюється під час роботи емпіричним методом залежно від типу експланта та ступеня його інфікованості [2, 5, 13].

Таким чином, у результаті проведених досліджень з'ясувалося, що найкращими експлантами для мікророзмноження є пазушні бруньки (*Cymbidium*, *Dendrobium phalaenopsis*, *Aranda* Blume., *Paphiopedilum*, *Aglaonema*, *Thunia* Blume., *Vanda*, *Dieffenbachia*, *Monstera*, *Cordyline*, *Nidularium*, *Aechmea*); верхівки листків (*Cymbidium*, *Dendrobium* Sw., *Epidendrum*, *Laeliocattleya*, *Vanda*), верхівки пагонів (*Cymbidium*, *Cattleya*, *Rhynchostylis*, *Grevillea*, *Hakea*, *Musa*, *Cycas*); листки сіянцив (*Cattleya*, *Phalaenopsis*, *Laelia*); бруньки суцвіть (*Dendrobium*, *Phalaenopsis*, *Vanda*); кінчики коренів *Cymbidium*, *Phalaenopsis*); сплячі бруньки пагонів (*Cymbi-*

dium, Cattleya, Phalaenopsis, Aglaonema, Monstera, Dieffenbachia, Hakea, Musa, Nidularium, Aechmea, Cordyline).

Відомо, що регенераційна здатність ізольованих експлантів рослин залежить від впливу багатьох чинників. Вплив кожного з них, а тим більше їх взаємодію, важко оцінити, проводячи досліди за звичайною схемою. Тому ми застосували метод математичного планування експерименту, який дає змогу за короткий проміжок часу визначити залежність мікророзмноження від багатьох чинників та їх взаємодії, оптимізувати склад поживних середовищ та умови культивування на різних етапах процесу мікророзмноження [9, 16]. При цьому було спрощено склад та визначено оптимальні концентрації складових поживного середовища, які забезпечували максимальний приріст ізольованих культур. Вперше було показано позитивний вплив картопляного екстракту та гомогенату банана на ріст протокормів та сіянців орхідних. Це дало нам змогу замінити дорогі домішки і здешевити поживні середовища, завдяки чому вони рекомендовані для промислового використання.

Для багатьох тропічних і субтропічних рослин (*Anthurium*, *Caladium*, *Spathiphyllum*), які на першому етапі мікророзмноження регенерують калюс, оптимальними є поживні середовища Піріка або Мурасіге-Скуга (з 0,8 мг/л 2,4-Д, 1мг/л БАП та 1 г/л активованого вугілля). Для культивування сплячих бруньок пагонів, резервних бруньок бульб оптимальні поживні середовища Піріка (I-IV), модифіковані внесенням 5-10 мг/л БАП, 2 мг/л зеатину, 1 мг/л ІОК, 20% березового соку, 1 г/л активованого вугілля (*Aglaonema*, *Monstera*, *Cordyline*, *Nidularium*, *Aechmea*, *Dieffenbachia*, *Musa*, *Philodendron*, *Ananas Mill.*, *Neoregelia L. B. Smith*).

Для розвитку ізольованих культур орхідних на етапі утворення протокормів оптимальним є поживне середовище Кнудсона

(з 2 мг/л БАП або аденіну). Для розмноження протокормів, регенерації рослин також застосовують середовище Кнудсона (з 7 мг/л аденіну; 10 мг/л нікотинової кислоти та 30%-м картопляним екстрактом). Використання модифікованого пропису цього поживного середовища дало нам можливість оптимізувати етапи мікророзмноження більше як 20 видів орхідних (*Cymbidium*, *Cattleya*, *Phalaenopsis*, *Dendrobium*, *Vanda*, *Paphiopedilum*, *Oncidium*, *Angraecum*, *Laelia* та ін.).

Умови культивування ізольованих культур тропічних і субтропічних рослин мають дуже важливе значення. Зазвичай ізольовані тканини культивують на твердих агаризованих середовищах. Проте іноді на перших етапах розмноження для забезпечення максимального приросту калюсу, пагонів або протокормів використовують рідкі поживні середовища із застосуванням ролера або шейкера. Культивування в таких умовах сприяє утворенню додаткових численних меристематичних центрів, які у подальшому регенерують рослини [6].

Усі ізольовані культури тропічних та субтропічних рослин вирощували у спеціальному приміщенні, де вологість була 70%, температура – 26-28° С, фотоперіод – 16 год, освітлення – 3-4 тис. лк.

Термін розвитку рослин-регенерантів в культурі *in vitro* не однаковий і становить у *Anthurium*, *Cymbidium*, *Dendrobium phalaenopsis*, *Vanda*, *Doritis Lindl.*, *Oncidium*, *Nidularium* – 11-12 місяців; у *Caladium*, *Spathiphyllum*, *Begonia L.*, *Nepenthes Poit.*, *Aechmea*, *Ananas*, *Musa* – 6-8 місяців, у *Cattleya* – 1,5 року. Цикл розвитку сіянців орхідних триває від 3-4 місяців (*Calanthe*) до 1,5-2,5 року (*Cattleya*). У субстрат висаджують рослини з добре розвинутою кореневою системою і 3-4 листками. Найсприятливіший період для цього – весна або початок літа.

В останні роки лабораторія успішно займається також мікророзмноженням декоративних деревних культур, наприклад,

Camelia japonica L. та її сортів. У колекції НБС нараховується близько 20 сортів та гібридів *C. japonica*. Однак її культивування та вегетативне розмноження є дуже складними. До того ж, деякі сорти камелії зовсім не утворюють насіння. У зв'язку з цим нами розроблені методи насінневого та клонального мікророзмноження чотирьох сортів *C. japonica* в культурі *in vitro*.

Для насінневого розмноження використовували насіння власної репродукції та зібране *in situ*. Вивчення процесів розвитку сіяньців *Camelia* показало, що насіння починає проростати вже на 3-й день. Загалом процес формування сіяньців триває 60–70 днів залежно від сорту. Для збільшення кількості сіяньців проводили їх живцювання. Це сприяє активному розвитку пазушних бруньок і дає змогу отримати від 3 до 5 додаткових пагонів, які потім вкорінювали на поживному середовищі Кнудсона (з 5 мг/л ІМК та 1 г/л активованого вугілля).

При проведенні експериментів з насінневого розмноження камелії ми виявили дуже цікавий різновид морфогенезу – соматичний ембріогенез. Нами було з'ясовано, що основними параметрами, які визначали розвиток ембріодів, були тип експланта та стадія його розвитку. Найбільша їх кількість була отримана з тканин черешків сім'ядолів, вони мали досить великі розміри (до 5 мм у діаметрі). Було також встановлено, що диференціація ембріодів відбувалась асинхронно в епідермальних і субепідермальних шарах сім'ядолей. Після перенесення їх на світло, вони набували зеленого кольору і надалі з них формувалися пагони [7].

Рослини, які утворились із соматичних зародків, виявляли соматоклональну варіабельність, що може бути використане у майбутній селекційній роботі.

Для клонального мікророзмноження сортів *C. japonica* як експланти використовували молоді відростаючі пагони. Апикальні та пазушні бруньки цих пагонів формували рослини на поживному середовищі Мурасіге-Скуга з 4 мг/л аденіну. Для збільшення кількості рослин-регенерантів їх суб-

культивували на середовищі Піріка (з 10 мг/л БАП), отримуючи по 5–10 додаткових адвентивних пагонів. Рослини вкорінювали на цьому ж середовищі з 5 мг/л ІМК. Таким чином, проведені дослідження дали нам можливість розробити оригінальні методи збільшення кількості посадкового матеріалу *C. japonica*.

З 1990 р. у лабораторії інтенсивно досліджуються питання морфогенезу тропічних та субтропічних рослин в культурі *in vitro*. За цей період було детально вивчено та описано етапи морфогенезу 8 видів з родини *Orchidaceae*, 2 – *Araceae*, 2 – *Teaceae*, 2 видів – *Agavaceae*.

За час існування лабораторії було отримано велику кількість посадкового матеріалу багатьох видів рослин з колекції відділу та передано у промислове квітникарство України, що значно збагатило асортимент квіткових та декоративно-листяних культур.

Упродовж останніх 10–15 років в лабораторії були розроблені та модифіковані методи насінневого та клонального мікророзмноження тропічних і субтропічних рослин з таких родин, як: *Orchidaceae*, *Araceae*, *Bromeliaceae*, *Proteaceae*, *Cactaceae*, *Musaceae*, *Begoniaceae*, *Agavaceae*, *Cycadeaceae*, *Nepenthaceae*, *Gesneriaceae*, *Teaceae*. Визначено оптимальні біотехнології розмноження цих рослин, що, в свою чергу, дало змогу створити їх колекцію в умовах *in vitro*. Вона може бути основою для селекції нових форм декоративних рослин, що має велике практичне значення.

Створена Т.М. Черевченко лабораторія мікроклонального і насінневого розмноження тропічних та субтропічних рослин є науково-консультативним центром, де проходять практику та виконують дипломні роботи студенти багатьох вузів України; здійснюється багато спільних науково-технічних проектів з іншими науковими установами та ботанічними садами; проходять стажування співробітники з різних ботанічних установ.

У планах лабораторії – дослідження та підтримка вже існуючого банку культур, введення в культуру *in vitro* рідкісних, зника-

ючих, малопоширених видів, високодекоративних рослин відкритого і захищеного ґрунту та їхніх гібридів як цінного селекційного матеріалу.

1. Бутенко Р.Г. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнологии на их основе: Учебное пособие. – М.: УБК-Пресс, 1999. – 160 с.

2. Иванников Р.В., Лаврентьева А.Н. Опыт размножения *Monstera deliciosa* Viemb. var. *borsigiana* (C. Koch.) Engl. в культуре *in vitro* // Abstracts of the Intern. Conf. "The Biology of Plant Cells in Vitro and Biotechnology" (Saratov, September 9–13, 2003). – Saratov, 2003. – P. 126–127.

3. Иванников Р.В. Биология розвитку видів роду *Laelia* Lindl. (Orchidaceae Juss.) в умовах оранжерейної культури та культури *in vitro*. – Автореф. дис. ... канд. біол. наук. – Київ, 2001. – 22 с.

4. Катаева Н.В., Бутенко Р.Г. Клональное микроразмножение растений. – М.: Наука, 1983. – 96 с.

5. Лаврентьева А.Н., Вахрушкин В.С., Ковальская Л.А. Особенности семенного и клонального размножения видов рода *Paphiopedilum* Pfitz. (Orchidaceae Juss.) в культуре *in vitro* // Биологический вестник Харьковского ун-та. – 2003. – 7, № 1–2. – С. 39–42.

6. Лаврентьева А.Н., Мальцов И.Ю. Размножение *Cordyline terminalis* Comm. ex Juss. cv' Kivi' в культуре *in vitro* // Abstracts of the Intern. Conf. "The Biology of Plant Cells in Vitro and Biotechnology" (Saratov, September 9–13, 2003). – Saratov, 2003. – P. 176–177.

7. Лаврентьева А.М., Харченко І.І. Насінневе та клональне розмноження сортів *Camellia japonica* L. в культурі *in vitro* // Інтродукція рослин. – 2003. – № 1–2. – С. 84–92.

8. Лаврентьева А.М., Денісьєвська Н.О. Клональне мікророзмноження рослин з роду *Aglaonema* Schott // Інтродукція рослин. – 1999. – № 2. – С. 73–76.

9. Максимов В.Н., Федоров В.Д. Применение методов математического планирования эксперимента. – М.: Изд-во МГУ, 1969. – 125 с.

10. Червченко Т.М., Зайченко Н.В., Лаврентьева А.М. Зв'язок продуктивності цвітіння сортів *Cymbidium hybridum* з їх регенераційною та асиміляційною здатністю // Інтродукція рослин. – 1999. – № 1. – С. 70–73.

11. Червченко Т.М., Ковальська Л.А., Буюн Л.І. та ін. Особливості репродуктивної біології та початкових етапів розвитку деяких видів тропічних та субтропічних орхідей // Інтродукція рослин. – 2001. – № 3–4. – С. 58–63.

12. Червченко Т.М., Лаврентьева А.Н., Будак В.Е. Биология, размножение и культивирование

Nepenthes madagascariensis Poit // Укр. ботан. журн. – 1992. – 49, № 2. – С. 87–90.

13. Червченко Т.М., Лаврентьева А.Н., Буюн Л.І., Ковальская Л.А. Семенное и клональное размножение видов рода *Cattleya* Lindl. (Orchidaceae Juss.) в культуре *in vitro* // Abstracts of the Intern. Conf. "The Biology of Plant Cells in Vitro and Biotechnology" (Saratov, September 9–13, 2003). – Saratov, 2003. – P. 64–65.

14. Arditti J. Orchid biology: Reviews and perspectives. 1. – Ithaca: Cornell Univ. Press, 1977. – 310 p.

15. Morel J. Tissue culture – a new means of clonal propagation of orchids // Amer. Orchid Soc. Bull. – 1964. – 33, No 7. – P. 473–478.

16. Muraschige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures // *Physiol. Plant.* – 1962. – 15, No 3. – P. 473–497.

17. Pierik R.D.M. *Anthurium andreaeanum* plants produced from callus tissues cultivated *in vitro* // *Physiol. Plant.* – 1975. – 37. – P. 80–82.

А.Н. Лаврентьева, Р.В. Иванников

Национальный ботанический сад
им. Н.Н. Гришко НАН Украины, Украина, г. Киев

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДОВ АСЕПТИЧЕСКОЙ КУЛЬТУРЫ ДЛЯ РАЗМНО- ЖЕНИЯ РЕДКИХ И ВЫСОКОДЕКОРАТИВНЫХ РАСТЕНИЙ ТРОПИКОГЕННОЙ ФЛОРЫ

Подведены итоги многолетних исследований размножения высокодекоративных растений в условиях культуры *in vitro*. Разработаны методы микроклонального и семенного размножения тропических и субтропических растений из многих семейств, оптимальные биотехнологии, позволяющие получить массовый посадочный материал этих растений.

A.N. Lavrentyeva, R.V. Ivannikov

M.M. Grishko National Botanical Gardens, National Academy of Sciences of Ukraine, Ukraine, Kyiv

USE OF ASEPTIC CULTURE METHODS FOR A REPRODUCTION RARE AND ORNAMENTAL TROPICAL AND SUBTROPICAL PLANTS

Long-term researches of rare and ornamental tropical and subtropical plants micropropagation and the seed reproduction are summed up in this article. Seed and clonal propagation methods of many tropical and subtropical plants in culture *in vitro* are worked out. Optimum biotechnologies which permit to receive mass planting material are determined.