

Е.Р. АРАПЕТЬЯН<sup>1</sup>, М.Г. МОГИЛЯК<sup>1</sup>, Ю.М. УСАТЕНКО<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Ботанічний сад Львівського національного університету імені Івана Франка  
Україна 79014, м. Львів, вул. М. Черемшини, 14

<sup>2</sup> Науково-технічний і навчальний центр низькотемпературних досліджень  
Львівського національного університету імені Івана Франка

## ВИКОРИСТАННЯ МЕТОДІВ КРІОТЕХНОЛОГІЇ ДЛЯ ЗБЕРІГАННЯ НАСІННЯ РІДКІСНОГО ВИДУ — ГВОЗДИКИ ГРАЦІАНОПОЛІТАНСЬКОЇ (*DIANTHUS GRATIANOPOLITANUS* *VILL.*, *CARYOPHYLLACEAE*)

*Досліджено вплив умов збереження насіння червонокнижного виду — гвоздики граціанополітанської (Dianthus gratianopolitanus Vill.) в рідкому азоті на його лабораторну схожість і початкові етапи онтогенезу.*

Можливість тривалого збереження рослинного матеріалу при низьких температурах із збереженням його життєздатності і генетичної цілісності є основою створення кріобанків насіння. Необхідність створення генетичних банків з метою збереження біологічного різноманіття флори відображено в міжнародних документах, зокрема у "Завданнях Європейської стратегії збереження рослин". На даний час проведено низку досліджень методичного характеру для з'ясування можливостей тривалого збереження насіння рослин природної флори, насамперед рідкісних, у рідкому азоті за температури  $-196^{\circ}\text{C}$ . Головним у роботі з кріозбереження генофонду рослин є підбір режиму консервації і реконсервації рослинного матеріалу, який є видоспецифічним. Характеристику кріорезистентності насіння переважної більшості рослин, за літературними даними, можна отримати після збереження в умовах рідкого азоту протягом місяця [10]. Наші дослідження є продовженням експериментальних робіт з кріоконсервації насіння рослин природної флори України, які проводяться в ботанічному саду Львівського національного університету імені Івана Франка [1, 8].

Об'єктом вивчення була гвоздика граціанополітанська (*Dianthus gratianopolitanus* Vill.) з родини гвоздикові (*Caryophyllaceae*) — європейський вид, що зростає в Україні на східній межі ареалу. Вид занесено до Червоної книги України зі статусом II категорії рідкісності, а також до європейського червоного списку рослин, яким загрожує зникнення у світовому масштабі [6]. В Україні вид трапляється дуже рідко на кам'янистих схилах уздовж Дністра та в заповідному урочищі місцевого значення в Чернівецькій області. Достовірних даних щодо чисельності немає.

Гвоздика граціанополітанська — багаторічна трав'яниста рослина заввишки 8—25 см. Стебло просте, часто з полеглою основою. Листки вузьколінійні, тупуваті. Квітки темно-червоні, зібрані у суцвіття (по 2—3 квітки). Цвіте у травні—червні, плодоносить у червні—липні. Розмножується насінням [7].

Гвоздика граціанополітанська введена в культуру в ботанічному саду Львівського національного університету імені Івана Франка з метою збереження та використання в озелененні. В умовах ботанічного саду є багаторічною трав'янистою рослиною з простими, дерев'яніючими при основі стеблами до 20—30 см заввишки, утворює дернини. Листки численні, лінійні, сіро-зелені. Насіння дрібне, округло-кутасте, темно-коричневе. Маса 1000 насінин становить 0,9 г.

**Динаміка лабораторної схожості насіння *Dianthus gratianopolitanus* Vill.**

Термін зберігання насіння, місяці	% Схожості на		Енергія проростання, %	Лабораторна схожість, %
	5-й день	10-й день		
1	87,3	88,0	87,3	88,0
5	78,7	88,0	78,7	88,0
8	86,6	86,6	86,6	86,6
10	80,7	82,0	80,7	82,0

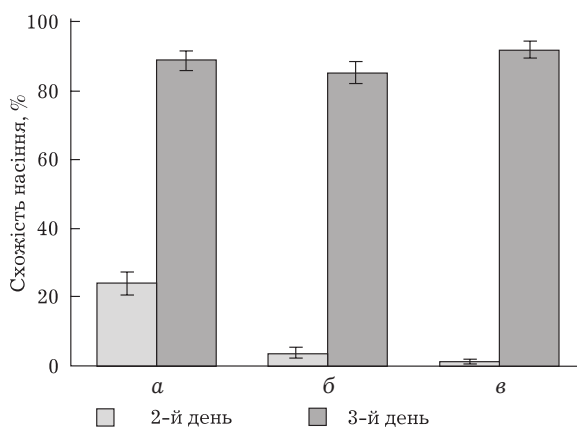


Рис. 1. Вплив умов зберігання насіння *Dianthus gratianopolitanus* на його схожість: а — контроль; б — 2 тижні в рідкому азоті; в — 4 тижні в рідкому азоті

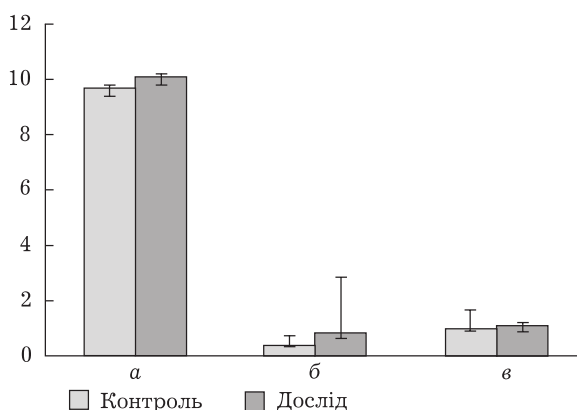


Рис. 2. Характеристика проростків *Dianthus gratianopolitanus*, вирощених із насіння, яке зберігалось у рідкому азоті протягом місяця: а — середня довжина коренів, м; б — маса сім'ядолей, г; в — маса надземної частини, г

Насіння гвоздики для дослідів було зібране в кінці липня—серпні 2004 р. з рослин, які ростуть у колекціях ботанічного саду.

У лабораторних умовах насіння гвоздики характеризується високою енергією проростання і зберігає схожість у кімнатних умовах протягом року (див. таблицю).

Заморожування насіння, зібраного того ж року, проводили шляхом безпосереднього занурення епандорфів з насінням у рідкий азот у посудину Дюара в Науково-технічному і навчальному центрі низькотемпературних досліджень Львівського національного університету імені Івана Франка. Насіння зберігали в рідкому азоті терміном від тижня до місяця. Реконсервацію проводили протягом кількох днів у кімнатних умовах, залишаючи насіння в епандорфах. Як контроль використовували насіння, яке зберігалось у лабораторних умовах. Насіння контрольного та дослідного варіантів замочували в дистильованій воді на 24 години і пророщували в лабораторних умовах на розсіяному світлі в чашках Петрі на фільтрувальному папері, зволоженому водою, по 50 насінин у трикратній повторності. Оцінку розвитку проростків проводили за Веллінгтоном [2]. Вміст фотосинтезуючих пігментів визначали за допомогою фото-електроколориметрів. Розрахунки вмісту пігментів проводили за формулою Вінтерманс де Мотс [4].

Насіння гвоздики після збереження в рідкому азоті в лабораторних умовах проростає так само, як і в контрольному варіанті — протягом двох днів. Слід зазначити, що тижневе перебування насіння в азоті прискорює схожість порівняно з контролем, і вже після замочування воно було в стадії прокльовування. В контролі насіння почало прокльовуватися наступного дня. За більш тривалого терміну зберігання насіння в умовах рідкого азоту такого явища не відмічено. Зберігання насіння в умовах низьких температур не змінило характеру його схожості. Лабораторна схожість досліджуваного насіння після криоконсервації протягом різного періоду не зменшилася порівняно з контролем. Коли насіння зберігалось у рідкому

азоті протягом тижня, його схожість становила 78,6%, контрольний показник — 76,6%. Більш тривале збереження насіння в рідкому азоті істотно не змінило його схожості порівняно з контролем (рис. 1).

З літературних даних відомо значення такого параметру, як ріст кореня, на початкових етапах розвитку проростків для різних рослинних об'єктів. Так, дослідження зв'язку між трьома головними етапами білкового синтезу із появою кореня, збільшенням його лінійних розмірів та появою бруньки при проростанні насіння тютюну показало, що довжина кореня, за даними лабораторних умов, є кращим показником схожості, ніж кількість корінців (тобто відсотка схожості) [9].

За лінійними розмірами корінця проростки гвоздики було поділено на три групи: до 5 мм, 10 мм, 15 мм. Найбільша кількість проростків, як в контрольному, так і в дослідних варіантах, потрапила до групи з довжиною корінців до 10 мм. Умови низьких температур позитивно впливають на ріст, що позначилось на лінійних розмірах коренів. Висота проростків у дослідних варіантах становила 15—20 мм, тоді як у контролі — 10—15 мм.

Аналіз розвитку сім'ядольних листків показав, що на 3-й день досліду вони вже були розкриті повністю. Маса сім'ядольних листків у дослідному варіанті перевищувала контрольний показник (рис. 2).

За останніми літературними даними відомо, що основними регуляторами розвитку при досягнанні насіння вважаються чотири гени, які утворюють складну регуляторну систему. Один з них — *AB13* — впливає на нагромадження хлорофілу в сім'ядолях [5]. Виходячи з цього, можна вважати вміст фотосинтезуючих пігментів сім'ядолей характеристикою розвитку проростка. Визначення рівня цього показника на початкових етапах онтогенезу не виявило достовірної різниці між дослідним варіантом і контрольним. Не відмічено пошкоджених, деформованих або загниваючих проростків для всіх досліджених термінів

кріоконсервації насіння. Всі проростки мали по дві сім'ядолі зеленого кольору без некрозів.

Таким чином, гвоздика граціанополітанська належить до тих видів рослин [3], насіння яких можливо зберігати в рідкому азоті шляхом безпосереднього занурення. Збереження насіння гвоздики в рідкому азоті протягом місяця не змінило характеристики його схожості та початкових етапів росту і розвитку порівняно з контролем. Отже, дані проведених досліджень є протоколом збереження насіння *Dianthus gratiopolitanus* у рідкому азоті.

1. *Арапет'ян Е., Бондар В., Прокопів А., Надрага М.* Зберігання насіння рослин природної флори методом кріоконсервації // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. — 2004. — Вип. 36. — С. 186—189.

2. *Веллінгтон П.* Методика оцінки проростков семян. — М.: Колос, 1972. — 174 с.

3. *Матеріали* міжнародної конференції "Сохранение генетических ресурсов" (Санкт-Петербург, 19—22 октября 2004 г.) // Цитология. — 2004. — 46, № 10. — С. 839—841.

4. *Мусяєнко М.М., Паршикова Т.В., Славний П.С.* Спектрофотометричні методи в практиці фізіології, біохімії та екології рослин. — К.: Фітосоціоцентр, 2001. — С. 99—101.

5. *Обручева Н.В.* Новое о семенах — геномика и протеомика // Физиология растений. — 2005. — 52, № 2. — С. 316—319.

6. *Рідкісні* рослини флори України в культурі. — К.: Наук. думка, 1982. — 216 с.

7. *Червона книга України.* Рослинний світ / Відп. ред. Ю.Р. Шеляг-Сосонко. — К.: Укр. енциклопедія, 1996. — 602 с.

8. *Arapetyan E., Bondar V., Tsaryk Y. et al.* Influence of Ultralow Temperature on Seed Germination // Acta Physiologiae Plantarum. The 14th FESP Congress Book of Abstracts (Cracow, Poland, August 23—23, 2004). — Cracow, 2004. — P. 286.

9. *Arcila J., Mohapatra Subhas C.* Effect of protein synthesis inhibitors on tobacco seed germination and seedling emergence // J. Plant Physiol. — 1992. — 139, N 4. — P. 460—466.

10. *Stanwood P.S.* Cryopreservation of seed germplasm for genetic conservation // Cryopreservation of Plant Cells and Organs. — Boca Ration: C.R. Press, 1985. — P. 200—226.

Рекомендувала до друку С.В. Клименко

Э.Р. Арапетян<sup>1</sup>, М.Г. Могилjak<sup>1</sup>, Ю.М. Усатенко<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Ботанический сад Львовского национального университета имени Ивана Франко, Украина, г. Львов

<sup>2</sup> Научно-технический и учебный центр низкотемпературных исследований Львовского национального университета, Украина, г. Львов

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДОВ КРИОТЕХНОЛОГИИ ДЛЯ СОХРАНЕНИЯ СЕМЯН РЕДКОГО ВИДА — ГВОЗДИКИ ГРАЦИАНОПОЛИТАНСКОЙ (DIANTHUS GRATIANOPOLITANUS VILL., CARYOPHYLLACEAE)

Исследовано влияние условий хранения семян краснокнижного вида гвоздики грацианополитанской (*Dianthus gratianopolitanus* Vill.) в жидком азоте на их лабораторную всхожесть и начальные этапы онтогенеза.

E.R. Arapetyan<sup>1</sup>, M.G. Mohyliak<sup>1</sup>, J.M. Usatenko<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Botanical Garden of Ivan Franko Lviv National University, Ukraine, Lviv

<sup>2</sup> Research-technical and educational center of low temperatures investigations of Lviv National University, Ukraine, Lviv

THE IMPLEMENTATION OF CRYOCONSERVATION FOR RARE SPECIES DIANTHUS GRATIANOPOLITANUS VILL. (CARYOPHYLLACEAE) SEEDS CONSERVATION

The influence of cryoconservation in liquid hydrogen on laboratory germination and initial phases of ontogenesis of *Dianthus gratianopolitanus* Vill. seeds was observed.