

**О. В. Почка, Л. А. Колдар**

Національний дендрологічний парк «Софіївка» НАН України,  
вул. Київська, 12а, Умань, 20300, Україна  
e-mail: lenapocka11@gmail.com

## РЕГЕНЕРАЦІЙНА ЗДАТНІСТЬ ЕКСПЛАНТІВ ВИДУ *PRUNUS LAUROCERASUS L. IN VITRO*

**Мета дослідження** – з'ясувати особливості регенераційної здатності експлантів виду *Prunus laurocerasus L.* за культивування *in vitro*, залежно від типу живця та фітогормонального складу живильних середовищ. **Матеріали і методи.** Дослідження проводили у лабораторії мікроклонального розмноження рослин Національного дендропарку «Софіївка» НАН України. Матеріалом для дослідження слугували нездерев'янілі пагони виду *Prunus laurocerasus L.*, які стерилізували за використання 0,1% водного розчину  $HgCl_2$ , 2% водного розчину медіоциду та 75% розчину  $NaOCl$ , після чого рослини висаджували на безгормонні живильні середовища Мурасіге-Скуга. **Результати.** У ході експерименту стерильні експланти культивували на безгормонних живильних середовищах, а впродовж 6–10 діб визначали стерильність та життєздатність експлантів, відбирали найбільш життєздатні і висаджували на живильні середовища із різним вмістом фітогормонів. У період культивування експлантів проводили спостереження за їх ростом та розвитком. Крайні морфометричні показники (кількість пагонів, довжина та коефіцієнт розмноження) виявлено у експлантів культивованих на живильному середовищі VI, які відповідно становили  $2,27 \pm 0,18$ ;  $2,12 \pm 0,14$ ;  $2,34 \pm 0,12$ . **Висновок.** За результатами дослідження виявлено, що найвищий відсоток стерильності (83,27%) та життєздатності (89,88%) мали експланти, отримані з медіальної частини пагонів за обробки 75% розчином гіпохлориту натрію ( $NaOCl$ ) з експозицією шість хвилин. З'ясовано, що найвищу регенераційну здатність ( $7,12 \pm 0,23$ ) мали експланти одержані із медіальної частини пагона. На живильному середовищі VI, модифікованому додаванням  $0,22196$  мкм/л 6-БАП та  $0,03936$  мкм/л  $\beta$ -ІМК, кількість утворених пагонів становила  $6,95 \pm 0,19$  шт., а довжина  $3,71 \pm 0,15$  см.

**Ключові слова:** *P. laurocerasus*, коефіцієнт розмноження, експланти, стерилізація, живильне середовище.

Лавровишня лікарська (*Prunus laurocerasus L.*) – вічнозелена декоративна сильно розгалужена деревна або кущова рослина з родини *Rosaceae* Juss, яка нараховує близько 60 декоративних сортів та форм. Походить від регіонів південно-західної Азії та південно-східної Європи, що межують із Чорним морем, де завдяки високим декоративним властивостям та невибагливості до умов росту, рослини активно використовують у зеленому будівництві [5].



Лавровишня, як інтродукований вид, трапляється на індійському субконтиненті, південно-західній частині Північноамериканського континенту, у Австралії, Новій Зеландії, Аргентині, та на всій території Європи [12].

В Україні *P. laurocerasus* – малопоширена декоративна рослина, яка у невеликих кількостях трапляється у різних регіонах, окрім сходу, але найкраще росте, цвіте та плодоносить на півдні та заході України, проте може рости і більш північніше (рис. 1.).



Рис. 1. Карта поширення виду *P. laurocerasus* в Україні

Fig. 1. The distribution map of *P. laurocerasus* in Ukraine

В даний час багато науковців світу проводять дослідження виду *P. laurocerasus*, які переважно стосуються вивчення хімічного складу рослин (плодів, листків, насіння), розшифрування генетичного коду, дослідження молекулярно-біологічних особливостей, а також розроблення різних способів розмноження: насінне, вегетативне, зокрема живцювання та *in vitro* [11].

В Україні трапляються лише поодинокі публікації, в яких епізодично представлено дослідження особливостей росту і розвитку рослин, залежно від кліматичних умов окремих регіонів України. Дослідженнями регенераційної здатності рослин виду *P. laurocerasus in vitro*, наскільки нам відомо, не займається жодна наукова установа, тому виникла необхідність провести дослідження з мікроклонального розмноження *P. laurocerasus*, зокрема введення його в стерильні умови та визначення регенераційної здатності рослин даного виду *in vitro*, залежно дії різних концентрацій фітогормонів.

Однією із складових росту та розвитку рослин *in vitro* є здатність до регенерації. Вона відіграє ключову роль у відновленні рослинних тканин після пошкоджень або впливу стресових факторів. Ефективна регенерація забезпечується завдяки оптимальним умовам культивування та правильному підбору

живильних середовищ і регуляторів росту. Ці умови сприяють швидкому формуванню нових органів і тканин, що дозволяє отримати здорові й життєздатні рослини. Таким чином, здатність до регенерації та підбір оптимального складу живильних середовищ є важливою передумовою для успішного мікророзмноження рослин *in vitro* [7; 8].

Одним із складних етапів мікроклонального розмноження є стерилізація рослинного матеріалу. На цьому етапі нами проводилася підготовка рослин до введення в стерильні умови *in vitro*, а також їх знезараження від патогенних мікроорганізмів. Тому підбір ефективних стерилізувальних речовин та дотримання правил стерилізації впливали на подальші результати дослідження *in vitro* [6].

**Мета** роботи – з'ясувати особливості регенераційної здатності експлантів виду *Prunus laurocerasus in vitro*, залежно від типу живця та фітогормонального складу живильних середовищ.

### Матеріали та методи досліджень

Досліди проводили у лабораторії мікроклонального розмноження рослин Національного дендропарку «Софіївка» НАН України за методичними рекомендаціями В. А. Кунаха (2005; 2008) та В. В. Мацкевича [1; 2; 4]. Живильні середовища готували за прописом Мурасіге і Скуга (1962) [10].

Стерилізацію матеріалів та інструментів проводили за використання автоклава ВК-75 (температура 150 °С) та сухожарової шафи (180 °С).

Для отримання асептичної культури первинних експлантів, у першій декаді травня брали апікальні та медіальні частини пагона з трьох–п'яти річних рослин, які перед введенням розділяли на мікропагони з однією-двома бруньками, завдовжки 10–15 мм. У кожному варіанті дослідження використовували по 22 мікропагони.

Попередню обробку мікропагонів проводили препаратом «Септодор», а основну – за використання 0,1% водного розчину  $HgCl_2$ , 2% водного розчину медіоциду (спирт ізопропіловий–60%, алкілдиметилбензіламоній хлорид–0,1%, вода) та 75% розчину  $NaOCl$ , експозиція кожного стерилізатора становила 1, 3 і 6 хв відповідно. Після цього рослини промивали у бідистильованій воді та висаджували на безгормонні живильні середовища за прописом Мурасіге–Скуга. Ефективність стерилізації визначали на 6–10 добу після введення *in vitro*, а життєздатність на 10–15 добу. Культивування експлантів проводили у культуральній кімнаті за температури  $24 \pm 1$  °С, фотоперіоді 16 год., інтенсивності освітлення 3000 лк та відносній вологості повітря 70%.

Дослідження регенераційної здатності проводили за використання методу мікроклонального розмноження рослин під дією регуляторів росту.

Модифікацію живильних середовищ Мурасіге і Скуга (МС) для визначення регенераційної здатності проводили за використання шести концентрацій 6-бензіламінопурину (6-БАП) та індоліл-3-масляної кислоти ( $\beta$ -ІМК). За контроль брали живильне середовище без додавання фітогормонів (табл. 1). Регенераційну здатність експлантів розраховували за формулою:  $P = a/bc$ , де а – кількість утворених пагонів; b – кількість висаджених пагонів; c – кількість пасажів [9].



Таблиця 1

## Вміст фітогормонів у модифікованих живильних середовищах

Table 2

## Phytohormones content in modified nutrient media

Варіанти живильних середовищ	Фітогормони	
	6-БАП	β-ІМК
I (контроль)	–	–
II	0,04439	0,00492
III	0,08878	0,00984
IV	0,03333	0,01968
V	0,17757	0,06333
VI	0,22196	0,03936
VII	0,33333	0,09333

Статистичну обробку результатів досліджень виконано за використання програми Microsoft Excel 2016.

## Результати та їх обговорення

Впродовж 10 діб після введення мікропагонів в культуру *in vitro* проводили огляд рослин і визначали відсоток стерильних та життєздатних мікропагонів, які відбирали та висаджували на живильні середовища із різним фітогормональним складом. З'ясовано, що експланти отримані із апікальної частини пагона мали вищий відсоток стерильності, проте нижчий – життєздатності. Експланти із медіальної частини пагона мали дещо нижчий відсоток стерильності при значно вищій життєздатності (табл. 2).

Таблиця 2

Показники стерильності та життєздатності експлантів виду *P. laurocerasus* L.

Table 2

Sterility and viability indicators of explants of the species *P. laurocerasus* L.

Стерилізувальна речовина, експозиція, хв	Частина пагона	Ефективність стерилізації, % від загальної кількості	
		Стерильних	Життєздатних
Медіоцид 2%, 3хв	Апікальна	1,52	1,15
	Медіальна	1,08	2,37
NaOCl 75%, 6хв	Апікальна	92,34	61,15
	Медіальна	83,27	89,88
HgCl <sub>2</sub> 0,1%, 1хв	Апікальна	65,77	34,16
	Медіальна	51,34	55,24



Після стерилізації впродовж 8–10 діб спостерігали, що частина мікропагонів отриманих із медіальної частини пагона за стерилізації 75% розчином NaOCl з експозицією 6 хв., була менш стерильна (83,27%), але більш життєздатна (89,88%). в порівнянні із мікропагонами із апікальної частини пагона.

Для індукування процесів морфогенезу, стерильні та життєздатні експланти пересаджували на живильні середовища з додаванням фітогормонів різних концентрацій ауксинової та цитокінінової груп: 6-бензиламінопурину (6-БАП) та індоліл-3-масляної кислоти ( $\beta$ -ІМК) (табл. 3).

Таблиця 3

**Морфометричні показники росту та розвитку експлантів одержаних із апікальної частини пагона залежно від вмісту 6-БАП та  $\beta$ -ІМК, мкм/л**

Table 3

**Morphometric indicators of growth and development of explants obtained from the apical part of the shoot depending on the content of 6-BAP and  $\beta$ -IMC,  $\mu\text{m/l}$**

Варіанти живильних середовищ	Компоненти середовища		Кількість утворених пагонів, шт.	Довжина пагонів, см	Коефіцієнт розмноження
	6-БАП	$\beta$ -ІМК			
I (контроль)	–	–	–	–	–
II	0,04439	0,00492	1,12 $\pm$ 0,10	1,26 $\pm$ 0,18	1,13 $\pm$ 0,10
III	0,08878	0,00984	1,18 $\pm$ 0,13	1,38 $\pm$ 0,10	1,24 $\pm$ 0,15
IV	0,03333	0,01968	1,34 $\pm$ 0,11	1,75 $\pm$ 0,11	1,45 $\pm$ 0,10
V	0,17757	0,06333	2,11 $\pm$ 0,11	1,88 $\pm$ 0,17	2,18 $\pm$ 0,19
VI	0,22196	0,03936	2,27 $\pm$ 0,18	2,12 $\pm$ 0,14	2,34 $\pm$ 0,12
VII	0,33333	0,09333	1,94 $\pm$ 0,11	1,80 $\pm$ 0,15	1,96 $\pm$ 0,13

Впродовж 30–35 наступних діб, у експлантів одержаних із апікальної частини пагона спостерігали початок регенерації, який проявлявся в утворенні зачатків адвентивних бруньок, з яких починався активний ріст пагонів та поява першої пари листків. Протягом наступних 45–53 діб у експлантів продовжувався ріст пагонів та відбувалося формування другої–третьої пари листків.

За результатами проведених досліджень виявлено, що на відміну від експлантів одержаних із апікальної частини пагона, експланти із медіальної частини проявляли значно вищі морфометричні показники (кількість утворених пагонів, довжина та коефіцієнт розмноження) росту та розвитку (табл. 4).

Впродовж 14–18 діб у експлантів одержаних із медіальної частини пагона з'являлися ознаки утворення зачатків адвентивних бруньок, з яких починався активний ріст пагонів та поява першої пари листків. Протягом наступних 25–28 діб, продовжувався активний ріст пагонів, які досягали довжини від 2,15 до 3,71 см та з'являлася друга–третья пара листків.

Найвищий регенераційний потенціал був у експлантів із медіальної частини пагона культивованих на живильних середовищах V та VI із дода-



Таблиця 4

Морфометричні показники росту та розвитку експлантів одержаних із медіальної частини пагона залежно від вмісту 6-БАП та  $\beta$ -ІМК, мкм/л

Table 4

Morphometric indicators of growth and development of explants obtained from the medial part of the shoot depending on the content of 6-BAP and  $\beta$ -IMC,  $\mu\text{m/l}$

Варіанти живильних середовищ	Компоненти середовища		Кількість утворених пагонів, шт.	Довжина пагонів, см	Коефіцієнт розмноження
	6-БАП	$\beta$ -ІМК			
I (контроль)	–	–	1,12 $\pm$ 0,05	2,15 $\pm$ 0,13	1,28 $\pm$ 0,17
II	0,04439	0,00492	2,41 $\pm$ 0,25	2,17 $\pm$ 0,15	2,87 $\pm$ 0,22
III	0,08878	0,00984	3,15 $\pm$ 0,17	2,28 $\pm$ 0,10	3,67 $\pm$ 0,34
IV	0,03333	0,01968	4,64 $\pm$ 0,11	2,36 $\pm$ 0,21	4,83 $\pm$ 0,13
V	0,17757	0,06333	6,37 $\pm$ 0,21	3,62 $\pm$ 0,17	6,74 $\pm$ 0,21
VI	0,22196	0,03936	6,95 $\pm$ 0,19	3,71 $\pm$ 0,15	7,12 $\pm$ 0,23
VII	0,33333	0,09333	5,34 $\pm$ 0,12	2,38 $\pm$ 0,11	5,48 $\pm$ 0,15

ванням 0,17757 та 0,22196 мкм/л 6-БАП та 0,06333 і 0,03936 мкм/л  $\beta$ -ІМК, де кількість утворених пагонів становила від 6,37 до 6,94 шт. з коефіцієнтом розмноження 6,74 та 7,12 (рис. 3).

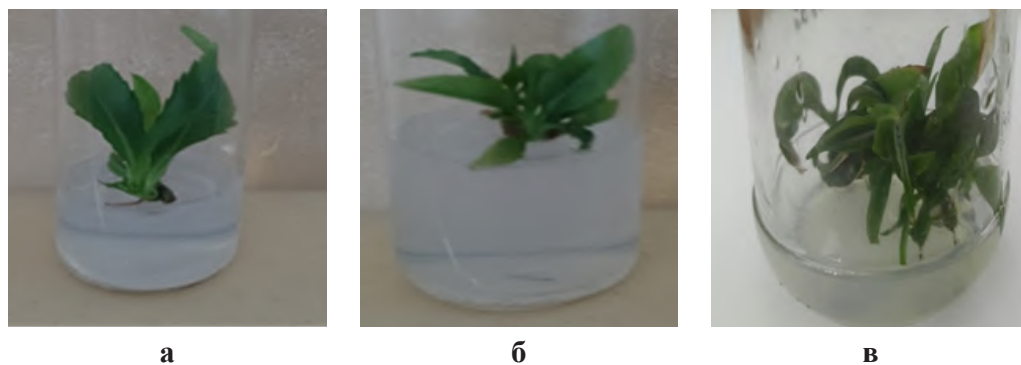


Рис. 3. Власне розмноження *P. laurocerasus*:  
а – початок росту; б – пробудження адвентивних бруньок;  
в – утворений конгломерат мікропагонів

Fig. 3. Propagation of *P. laurocerasus*  
a – the beginning of growth; b – the awakening of adventitious buds;  
c – the formed conglomerate of microshoots

За результатами проведених досліджень з'ясовано, що регенераційна здатність досліджуваних експлантів залежала від типу пагона, з якого він був взятий та фітогормонального складу живильних середовищ.

Виявлено, що найвищий відсоток стерильності (83,27%) та життєздатності (89,88%) мали експланти, отримані з медіальної частини пагонів за об-



робки 75% розчином гіпохлориту натрію (NaOCl) з експозицією шість хвилин.

Виявлено, що найбільш ефективним для росту й розвитку експлантів *P. laurocerasus*, введених із медіальної частини пагона, було живильне середовище модифіковане додаванням 0,22196 мкмоль/л 6-БАП та 0,03936 мкмоль/л  $\beta$ -ІМК, де кількість утворених пагонів становила 6,94 шт.; довжина пагонів 3,71 см з коефіцієнтом розмноження 7,12.

**O. V. Pochka, L. A. Koldar**

National Dendrological Park "Sophiiivka" of the National Academy of Sciences of Ukraine,  
12a Kyivska St, Uman, 20300, Ukraine,  
e-mail: lenapocka11@gmail.com

## REGENERATION ABILITY OF TYPE EXPLANTS *P. LAUROCERASUS* L. *IN VITRO*

### Summary

**Aim.** The aim of the study is to determine the features of the regeneration ability of explants of the species *Prunus laurocerasus* L. during in vitro cultivation, depending on the type of cutting and the phytohormonal composition of the nutrient media. **Materials and methods.** The study was conducted in the laboratory of microclonal propagation of the National Arboretum "Sofiyivka" of the NAS of Ukraine. The material for the study was non-lignified shoots of the species *Prunus laurocerasus* L., which were sterilized using 0.1% aqueous solution of HgCl<sub>2</sub>, 2% aqueous solution of medicide and 75% solution of NaOCl, after which the plants were planted on hormone-free Murashige-Skoog nutrient media. **Results.** During the experiment, sterile explants were cultivated on hormone-free nutrient media, and within 6–10 days, the sterility and viability of the explants were determined, the most viable ones were selected and planted on nutrient media with different phytohormones. During the period of cultivation of the explants, their growth and development were monitored. The best morphometric indicators (number of shoots, length and reproduction coefficient) were found in explants cultivated on nutrient medium VI, which were 2.27±0.18; 2.12±0.14; 2.34±0.12, respectively. **Conclusion.** According to the results of the study, it was found that the highest percentage of sterility (83.27%) and viability (89.88%) were explants obtained from the medial part of the shoots after treatment with a 75% solution of sodium hypochlorite (NaOCl) with an exposure of six minutes. It was found that the highest regeneration ability (7.12±0.23) was possessed by explants obtained from the medial part of the shoot. On nutrient medium VI, modified by the addition of 0.22196  $\mu$ m/l 6-BAP and 0.03936  $\mu$ m/l  $\beta$ -IMC, the number of formed shoots was 6.95±0.19 pcs., and the length was 3.71±0.15 cm.

**Key words:** *P. laurocerasus*, multiplication factor, explants, sterilization, nutrient medium.



## СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Кунах В.А. Біотехнологія лікарських рослин. Генетичні та фізіолого-біохімічні основи. – Київ.: Логос, 2005. – 730 с.
2. Кунах В.А. Біотехнологія рослин для поліпшення умов життя людини // *Biotechnologia Acta*. – 2008. 1, № 1. – С. 28–39.
3. Лавровишня лікарська: опис, фото, вирощування. URL: [https://dobrahata.com.ua/lavrovishnya-likarska-opis-foto-viroshhuvannya/#google\\_vignette](https://dobrahata.com.ua/lavrovishnya-likarska-opis-foto-viroshhuvannya/#google_vignette).
4. Подгасецький А.А., Мацкевич В.В., Мацкевич А.Ан. / Особливості мікроклонального розмноження видів рослин: монографія. – Біла Церка: БНАУ, 2018. – 209 с.
5. Почка О.В., Колдар Л.А. Лавровишня лікарська (*Prunus laurocerasus* L.) у природі та культурі // Міжнародна наук. конф. «Етноботанічні традиції в агрономії, фармації та садовому дизайні» (Умань, липень, 2023 р.): тез. доп. – У.: «Сочінський М. М.», 2023. – С. 223–228.
6. Шох С.С., Сич З.Д., Карпук Л.М. Визначення ефективного способу стерилізації рослинних експлантів лайму *Citrus aurantifolia* та сортів лимону *Citrus lemon* для введення в культуру *in vitro* // *Агробіологія*. – 2020. № 2. – С. 185–191.
7. Afrin S., Rahman M.A., Khalekuzzaman M., Hasan M.M., Fahim A.H.F., Alam M.A. Study on *in vitro* micropropagation of *Rosa* sp. // *Bangladesh Journal of Agriculture*. – 2022. – V. 47(1). – P. 66–74.
8. Yakhshiboeva D.T., Jumaniyozova N.D. Prospects of microclonal propagation of medicinal plant species // *American Journal of Agriculture and Horticulture Innovations*. – 2023. – V. 3(3). – P. 11–14.
9. Koldar L.A., Dzhus L.L., Nebykov M.V. Regeneration capacity of narrow-localized endemic species *Dianthus hypanicus* Andr. *in vitro* // *Biotechnologia Acta*. – 2021. – V. 14(3). – P. 39–45.
10. Murashige T., Skoog F. Arevised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures // *Phys. Pia*. – 1962. – V. 15(3). – P. 473–497.
11. Alasania N., Lomtadze N., Gorgiladze L. Peculiarities of Morphogenesis of Cherry Laurel *Laurocerasus officinalis* Ro. (*Prunus laurocerasus* L.) *in Vitro* Culture // *Bulletin of the Georgian National Academy of Sciences*. – 2021. – V. 15(1). – P. 83–90.
12. *Prunus laurocerasus* – Plants of the World Online. URL: <https://powo.science.kew.org/results?q=Prunus+laurocerasus>.

## REFERENCES

1. Kunakh V A. Biotechnology of medicinal plants. Genetic and physiological and biochemical foundations. Kyiv: 2005. 730 (in Ukrainian).
2. Kunakh V A. Plant biotechnology for improving human living conditions. *Biotechnologia Acta*. 2008; 1(1): 28–39. (in Ukrainian).
3. Medicinal laurel: description, photo, cultivation. URL: [https://dobrahata.com.ua/lavrovishnya-likarska-opis-foto-viroshhuvannya/#google\\_vignette](https://dobrahata.com.ua/lavrovishnya-likarska-opis-foto-viroshhuvannya/#google_vignette) (in Ukrainian).





4. Podhaiets'kyy A A, Matskevych V V, Matskevych A An. Peculiarities of microclonal reproduction of plant species: Monograph. Bila Tserka: BNAU; 2018. 209 p. (in Ukrainian).
5. Pochka O V, Koldar L A. (in Ukrainian). Laurel medical (*Prunus laurocerasus* L.) in nature and culture: all- International Scientific Conference, July 5–8, 2023. Uman: National dendrological park "Sophiivka" of the National Academy of Sciences of Ukraine: 223–228 (in Ukrainian).
6. Shokh S S, Sych Z D, Karpuk L M. Determination of an effective method of sterilization of *Citrus aurantifolia* lime plant explants and *Citrus lemon* varieties for introduction into *in vitro* culture. *Agrobiology*. 2020; (2): 185–191 (in Ukrainian).
7. Afrin, S, Rahman, M A, Khalekuzzaman M, Hasan M M, Fahim A H F. Alam, M. Study on *in vitro* micropropagation of Rosa sp. *Bangladesh Journal of Agriculture*. 2022; 47(1): 66-74.
8. Yakhshiboeva D T, Jumaniyozova N D. Prospects of microclonal propagation of medicinal plant species. *American Journal of Agriculture and Horticulture Innovations*. 2023; 3(3): 11–14.
9. Koldar L A, Dzhus L. L, Nebykov M V. Regeneration capacity of narrow-localized endemic species *Dianthus hypanicus* Andr. *in vitro*. *Biotechnologia Acta*. 2021; 14(3): 39–45 (in Ukrainian).
10. Murashige T., Skoog F. Arevised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Phys. Pia*. 1962; 15(3): 473–497.
11. Alasania N, Lomtadze N, Gorgiladze L. Peculiarities of Morphogenesis of Cherry Laurel *Laurocerasus officinalis* Ro. (*Prunus laurocerasus* L.) *in Vitro* Culture. *Bulletin of the Georgian National Academy of Sciences*. 2021; 15(1):83–90.
12. *Prunus laurocerasus*—Plants of the World Online. URL: <https://powo.science.kew.org/results?q=Prunus+laurocerasus>.

Стаття надійшла до редакції 05.11.2024 р.

