

## ВПЛИВ ГЕНОТИПУ НА МІКРОКЛОНУВАННЯ РОСЛИН БУРЯКУ ЦУКРОВОГО В ІЗОЛЬОВАНІЙ КУЛЬТУРІ

**Л. О. РЯБОВОЛ**, доктор сільськогосподарських наук

**Я. С. РЯБОВОЛ**, доктор сільськогосподарських наук

**О. В. НЕНЬКА**, кандидат сільськогосподарських наук

*Уманський національний університет садівництва*

*У статті проаналізовано вплив генотипу на процес мікроклонального розмноження різних селекційних форм буряку цукрового. Підтверджено, що індукція розвитку первинного експланту, інтенсивність розвитку та наростання біоматеріалу, вкорінення рослин є генетично зумовленим чинником. Доведено, що відновлювачі фертильності в ізольованій культурі характеризуються вищою регенераційною здатністю порівняно з ЧС-лініями. Найкращі показники фіксували за культивування експлантів зразка ММ 2 x 105, які індукували інтенсивне закладання адвентивних меристематичних бруньок на рівні 90,2 %.*

**Ключові слова:** буряк цукровий, генотип, мікроклональне розмноження, регенерація, адвентивні бруньки.

**Постановка проблеми.** Збереження генотипів перехреснозапилених культур, зокрема буряку цукрового, є важливим питанням селекційного процесу. Використання біотехнологічних методів забезпечує збереження і розмноження необхідної кількості створеного матеріалу та використання його в селекції з метою отримання нових сортів та гібридів сільськогосподарських культур.

**Аналіз основних досліджень і публікацій.** Одним з найважливіших чинників, що визначають успіх клонального мікророзмноження, є генотип вихідної рослини. Це пов'язано з тим, що основним процесом диференціювання в клітині рослин є механізм дерепресії генів, який проходить у три етапи: набуття компетенції – коли кілька різних блоків генів готуються перейти до наступної фази; детермінація – коли один із блоків виділяється і стає домінуючим у майбутній клітині; активація – утворення білків, що відповідають структурним генам блоків. Вчені стверджують, що клітини можуть ділитись на етапі детермінації, але не активації. У зв'язку з цим детермінація відбувається на генетичному рівні, і програма диференціювання клітин є генетично зумовленим чинником. Консервативність онтогенезу визначається головним чином послідовно занотованою програмою розвитку в геномі клітин, а також системою гормональних і метаболічних регуляторів клітини, що також контролює геном. Тому здатність до розмноження *in vitro*, як і будь-яка ознака рослинного організму, генетично залежний процес та істотно варіює за інтенсивністю у різних видів і сортів рослин [3, 4].

Проліферація – важлива ланка процесу *in vitro*. Вона дозволяє швидко розмножувати генотип, проводити генетичний контроль клонів і вибірку, що забезпечує чистоту розмноження та створення банку генетичного ресурсу.

За розмноження рослин *in vitro* існують різні шляхи проліферації. Один з них – через формування калюсної культури з наступною її диференціацією в окремі тканини та анатомо-морфологічні структури. За такого способу висока ймовірність виникнення соматональної мінливості та втрати генетичної ідентичності регенерантів і вихідних рослин. Тому для збереження сортових властивостей обирають шлях прямої індукції формування адвентивних бруньок [1, 2, 5, 6].

**Метою наших досліджень** було визначення залежності коефіцієнту проліферації від сортових особливостей буряку цукрового за мікроклонування рослин в ізольованій культурі.

**Методика досліджень.** Дослідження проводили в лабораторії бітехнології Уманського національного університету садівництва. Джерелом вихідного рослинного матеріалу в досліді слугував культуральний біоматеріал низки зразків ММ 2 x 105, ММ 2 x 159, ММ 2 x 227, О-тип 389, О-тип 356, ЧС 389, ЧС 196, F<sub>2</sub> (1БЦ x Бо–45)–1С, F<sub>1</sub> (Бо–45 x БЦ)–2С.

Для індукції розвитку меристем використовували модифіковане живильне середовище Мурасіге–Скуга та Гамборга, що доповнювали різними концентраціями і співвідношеннями регуляторів росту. Підрахунок сформованих адвентивних бруньок проводили щодавно.

**Результати досліджень.** У результаті проведених досліджень встановлено, що в буряка цукрового генотип істотно впливає на різні морфогенетичні потенції біоматеріалу, тобто характеризується різною здатністю апікальних меристем до індукції закладання адвентивних бруньок, регенерації типово розвинених пагонів, росту та розвитку експлантів в культурі *in vitro* тощо (табл. 1).

Підтверджено достовірну відмінність за кількістю пагонів, що сформувалися на один експлант, приросту експлантів, кількості типово розвинених пагонів за розмноження *in vitro* різних генотипів буряку в абсолютно ідентичних умовах культивування. Аналогічну реакцію встановлено і за наступного вкорінення розмноженого матеріалу.

Зафіксовано, що реалізація морфогенетичного потенціалу в процесі мікророзмноження змінювалася в окремих рослин навіть у межах однієї лінії. Відмінності у формуванні бічних пагонів на один експлант складали в межах 4,3–12,7 шт., а за кількістю індукованих до розвитку матеріалів – від 62,3 % до 90,2 %.

Коефіцієнт розмноження (кількість пагонів, утворених в одному меристематичному клоні за один міжпасажний період) прямопропорційно залежить від тривалості міжпасажного періоду. Найвищий коефіцієнт розмноження спостерігали на 25–30 добу культивування. Найкращі показники у досліді фіксували за культивування експлантів генотипу ММ 2 × 105, що індукували інтенсивне закладання адвентивних меристематичних бруньок на рівні 90,2 %.

**Табл. 1. Вплив генотипу буряку цукрового на регенераційну здатність і розвиток експланту в ізольованій культурі на ростовому живильному середовищі**

Селекційний матеріал	Кількість експлантів, що індукували розвиток типових пагонів, %	Кількість індукованих пагонів на один експлант, шт.	Приріст біоматеріалу на 30 добу культивування, мм	Інтенсивність розвитку біоматеріалу*
ММ 2 × 105	90,2	12,7	33,4	+++
ММ 2 × 159	86,1	11,4	22,8	+++
ММ 2 × 227	84,2	10,8	22,1	+++
О-тип 389	74,0	5,2	15,3	++
О-тип 356	76,2	6,4	17,3	++
ЧС 389	62,3	4,3	12,5	+
ЧС 196	68,5	5,8	13,8	+
F <sub>2</sub> (1БЦ × Бо–45)–1С	81,5	10,6	41,6	+++
F <sub>1</sub> (Бо–45 × БЦ)–2С	80,5	9,7	38,1	+++
НІР <sub>01</sub>	1,7	1,3	2,2	–

*Примітка: інтенсивність розвитку: «+++» – висока; «++» – середня; «+» – низька.*

Чинники, що зумовлюють рівень прояву реакції експлантів на умови асептичного середовища, визначено наступним чином: реакція на поранення, що впливає на перенесення поживних речовин, утворення інгібіторів та летючих речовин, клас і концентрація ендogenous регуляторів росту, що надходять з тканини донора експланту. Проте відсутність постійного контролю за зміною ендogenous чинника в тканинах, що експлантуються, не дозволяє встановити залежність між порушеннями в рості та розвитку біоматеріалу і екзогенним впливом компоненті живильного середовища в культурі. У зв'язку з цим умови культивування, що забезпечують розвиток клонів однієї лінії, потребують окремого корегування за використання при мікророзмноженні генетично різних форм, що підтверджується даними інших вчених [6–9].

У результаті досліджень прослідковувалась різниця за варіантами щодо індукції закладання адвентивних пагонів на експлантах окремих селекційних форм. Зокрема, залежно від генотипу 84,2–90,2 % висаджених експлантів відновлювачів фертильності буряку цукрового стимулювали розвиток типових пагонів. Проте лише 62,3–68,5 % вихідних експлантів з ЧС-ліній утворювали адвентивні бруньки.

Аналіз даних вказує і на достовірну різницю в інтенсивності пагоноутворення між різними селекційними зразками. Найбільшу кількість матеріалу індуковано за культивування відновлювачів фертильності (10,8–12,7 шт. пагонів на один експлант), найменшу – з ЧС-ліній (4,3–5,8 шт.).

Необхідно вказати на високу інтенсивність росту та розвитку клонів отриманих з гібридного матеріалу. Приріст біоматеріалу на 30 добу культивування сягав 41,6 мм, що дозволило отримати за короткий термін рослини з максимально розвиненими вегетативними фотосинтезуючими органами (5–7 листків на клон).

Після розмноження рослинний матеріал переносили на середовище для ризогенезу. Частка вкоріненого матеріалу була достовірно високою і за окремими генотипами в середньому за повторностями сягала 95,0 % (табл. 2).

**Табл. 2. Вплив генотипу буряку цукрового на ризогенну здатність і розвиток кореневої системи в ізольованій культурі**

Селекційний матеріал	Кількість клонів, що формували корені, %	Кількість закладених корінців на одній рослині, шт.*	Інтенсивність розвитку коренів*
ММ 2 × 105	94,2	6,7	+++
ММ 2 × 159	95,0	7,4	+++
ММ 2 × 227	84,2	4,8	++
О-тип 389	80,0	3,1	+
О-тип 356	86,2	3,4	+
ЧС 389	82,3	4,2	++
ЧС 196	86,5	5,2	++
F <sub>2</sub> (1БЦ × Бо–45)–1С	91,9	6,4	+++
F <sub>1</sub> (Бо–45 × БЦ)–2С	92,5	5,7	+++
НІР <sub>01</sub>	1,9	1,5	–

Примітка: дані в середньому за повторностями на 15–18 добу культивування рослин не живильному середовищі для ризогенезу; інтенсивність розвитку: «+++» – висока; «++» – середня; «+» – низька.

Виділено генотипи ММ 2 × 105 і ММ 2 × 159, клони яких незалежно від концентрації ауксину в середовищі, формували достовірно найбільшу кількість корінців. Встановлено відсутність кореляційної залежності між індукцією пагоно- і коренеутворення проаналізованих генотипів буряку цукрового.

Важливим питанням у роботі з вихідним матеріалом у культурі *in vitro* є контроль за формуванням рослинного матеріалу, оскільки в окремих випадках може бути порушено генетичну однорідність. Вона проявляється у зміні пloidності, морфології хромосом і геному, формуванні у потомстві стерильних рослин індукції різноманітних мутацій тощо. Уникнути таких явищ можна лише за умови тотального контролю за розвитком експлантів та відбору біоматеріалу за морфологічними ознаками на всіх етапах культивування за проведення розмноження окремими мериклонами.

У процесі дослідження підлягали аналізу і, за необхідності, браковці пагони, що мали морфологічні зміни, зокрема, наявність вітрифікації, пожовтіння чи хлорозу листків, відсутність апікальної меристеми, тенденції до формування калюсу, фасціації

стебла та зміни форми листків, утворення на рослині некротичних ділянок, низька інтенсивність росту та розвитку рослин тощо.

Слід зазначити, що залежно від вихідного матеріалу кількість експлантів з морфологічними відхиленнями варіювала в широкому діапазоні від 0,8 до 13,4 % і не була стабільною ознакою. Проведений цитологічний аналіз на 94,2 % підтвердив генетичну ідентичність отриманих клонів щодо вихідного матеріалу. Проте відбір рослин за морфологічними ознаками в процесі мікроклонування є обов'язковою умовою отримання зразків генетично ідентичних материнській формі, що визначає принципове використання мікроклонування з метою збереження та розмноження генетичного матеріалу для селекційного процесу.

**Висновки.** Проаналізовано вплив генотипу на процес мікроклонального розмноження різних селекційних форм буряку цукрового. Підтверджено, що індукція розвитку первинного експланту, інтенсивність розвитку та наростання біоматеріалу, вкорінення рослин є генетично зумовленим чинником. Доведено, що відновлювачі фертильності в ізолюваній культурі характеризуються вищою регенераційною здатністю порівняно з ЧС-лініями. Найкращі показники фіксували за культивування експлантів зразка ММ 2 × 105, які індукували інтенсивне закладання адвентивних меристематичних бруньок на рівні 90,2 %.

### Література:

1. Зінченко О. А., Зацерковна Н. С., Українець О. А., Заболотна А. В. Вплив біотехнологічних параметрів на вихід макроструктур із незапліднених насінневих зачатків диплоїдного буряка цукрового. *Збірник наукових праць Інституту біоенергетичних культур і цукрових буряків*. 2021. Вип. 29. С. 123–128. DOI: <https://doi.org/10.47414/np.29.2021.249934>
2. Денчиля-Сакаль Г. М., Ніколайчук В. І., Терек В. О. Мікроклональне розмноження рослин *Trifolium pratense* L. *Науковий вісник Ужгородського університету* : Серія: Біологія. 2010. Вип.28. С. 90–93.
3. Мельничук М. Д., Новак Т. В., Кунах В. А. Біотехнологія рослин: Підручник. К.: ПоліграфКонсалтинг, 2003. 520 с.
4. Hammerschlag F.A. In vitro approaches to disease resistance. Application of genetic engineering to crop improvement. Dordrecht: Nijhoff/Junk., 1984. P. 453–490.
5. Рябовол Л. О., Парій Ф. М. Вплив рівня плоідності донорного матеріалу цукрових буряків на вихід, ріст і розвиток макроструктур з насінневих зачатків. *Збірник наукових праць «Вісник Причорномор'я»*. 2002. С. 28–31.
6. Славова Й. В. Разработане на методи за вегетативного размножаване в *in vitro* культура на захарно цвекло: Автореф. дис...канд. с.-г. наук: 06.01.05. Пловдив, 1983. 28 с.
7. Murashige T. Plant propagation through tissue cultures. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 1974. V. 25. P. 135–166.
8. Tomaszewska-Sowa M. Cytometric analyses of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) plants regenerated from unfertilized ovules cultured *in vitro*. *Plant Breed.* 2010. Vol. 2. P. 231–235.
9. Us-Camas R., Rivera-Solís G., Duarte-Aké F. et al. In vitro culture: an epigenetic challenge for plants. *Plant Cell Tiss Organ Cult.* 2014. Vol. 118. P. 187–201.

## References:

1. Zinchenko, O. A., Zatserkovna, N. S., Ukrainets, O. A., Zabolotna, A. V. (2021). Influence of biotechnological parameters on the yield of macrostructures from unfertilized seed primordia of diploid sugar beet. *Collection of scientific works of the Institute of Bioenergy Crops and Sugar Beet*, vol. 29, pp. 123–128. DOI: <https://doi.org/10.47414/np.29.2021.249934>. (in Ukrainian).
2. Denchilya-Sakal, G. M., Nikolaychuk, V. I., Terek, V. O. (2010). Microclonal reproduction of plants *Trifolium pratense* L. *Scientific Bulletin of Uzhgorod University: Series: Biology*, issue 28, pp. 90–93. (in Ukrainian).
3. Melnychuk, M. D., Novak, T. V., Kunakh, V. A. (2003). *Plant biotechnology: Textbook*. K.: PoligrafConsulting. 520 p. (in Ukrainian).
4. Hammerschlag, F. A. (1984). In vitro approaches to disease resistance. Application of genetic engineering to crop improvement. Dordrecht: Nijhoff/Junk, pp. 453–490.
5. Ryabovol, L. O., Parii, F. M. (2002). Influence of the ploidy level of the donor material of sugar beets on the emergence, growth and development of macrostructures from seed primordia. *Collection of scientific works «Herald of the Black Sea Region»*, pp. 28–31. (in Ukrainian).
6. Slavova, Y. V. (1983). Development of methods for vegetatively propagated in vitro sugar beet culture: Abstract of dissertation...candid. agr sciences. Plovdiv. 28 p. (in Bulgarian).
7. Murashige, T. (1974). Plant propagation through tissue cultures. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, v. 25, pp. 135–166.
8. Tomaszewska-Sowa, M. (2010). Cytometric analyzes of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) plants regenerated from unfertilized ovules cultured in vitro. *Plant Breed.* vol. 2, pp. 231–235.
9. Us-Camas, R., Rivera-Solís, G., Duarte-Aké, F. et al. (2014). In vitro culture: an epigenetic challenge for plants. *Plant Cell Tissue Organ Cult*, vol. 118, pp. 187–201.

## Annotation

**Riabovol L. O., Riabovol Ia. S., Nenka O. V.**

### ***Influence of genotype on microcloning of sugar beet plants in isolated culture***

*Preservation of genotypes of cross-pollinated crops, in particular sugar beet, is an important issue of the breeding process. The use of biotechnological methods ensures the preservation and reproduction of the necessary amount of the created material and its use in selection for the purpose of obtaining new varieties and hybrids of agricultural crops.*

*In the article it is analyzes the influence of the genotype on the process of microclonal reproduction of various breeding forms of sugar beet. It was confirmed that the induction of the development of the primary explant, the intensity of development and growth of biomaterial, the rooting of plants is a genetically determined factor. It was proven that fertility restorers in isolated culture are characterized by a higher regeneration capacity compared to emergency lines. The best indicators were recorded for the cultivation of explants of the sample MM 2 × 105, which induced intensive establishment of adventitious meristematic buds at the level of 90,2 %.*

*Data analysis also indicates a significant difference in the intensity of shoot formation between different selection samples. The largest amount of material was induced during the cultivation of fertility restorers (10.8–12.7 pcs. of shoots per one explant), the smallest – from ChS-lines (4.3–5.8 pcs.). It is necessary to point out the high intensity of growth and development of clones obtained from hybrid material. The growth of biomaterial on the 30th day of cultivation reached 41.6 mm, which made it possible to obtain plants with maximally developed vegetative photosynthetic organs (5–7 leaves per clone) in a short period of time. The share of rooted material was reliably high and reached 95,0 % on average for individual genotypes. The performed cytological analysis confirmed the genetic identity of the obtained clones with respect to the original material by 94,2 %.*

**Key words:** *sugar beet, genotype, microclonal propagation, regeneration, adventitious buds.*

**УДК:** 631.527:633.811

**DOI:** 10.32782/2415-8240-2023-102-1-171-178

## **УСПАДКУВАННЯ ОСНОВНИХ ДЕКОРАТИВНИХ ОЗНАК ГІБРИДІВ ТРОЯНД ПРИ ДІАЛЕЛЬНИХ СХРЕЩУВАННЯХ**

**О. А. УКРАЇНЕЦЬ**, *викладач-стажист*

**В. В. ПОЛЩУК**, *доктор сільськогосподарських наук*

**Уманський національний університет садівництва**

*У статті наведено результати оцінювання популяцій отриманих від прямих та зворотніх діалельних схрещуваннях при селекції троянд. Оцінювання проведено за основними декоративними показниками квітки. Проаналізувавши отриманні результати, було виявлено, що більшість сортів передають певні ознаки однаково, як при використанні в якості материнського компонента, так і при використанні його як батьківського компонента.*

**Ключові слова:** *троянда, сорти, гібриди, генотип, успадкування, материнська форма, батьківська форма.*

Троянда походять з одного з найбільш економічно важливого в декоративному садівництві роду *Rosa* L. [1]. Вона є комерційно важливою декоративною культурою, яка займає основну частку світового ринку квітникарства та ефіроолійної промисловості [2]. Однак, про генетику троянд, а саме про структуру геному, функції генів – відомо небагато. Насамперед, це пов'язано з ускладненнями при селекції та успадкування, спричинені поліплоїдією, обмеженим державним фінансуванням та простими методами селекції, які все ще використовуються більшістю селекціонерів [3].

**Аналіз останніх досліджень і публікацій.** Історія вирощування троянд існує з тисячолітньої давності (141–87 рр. до н.е.), де високо цінували і широко культивували китайці, єгиптяни, римляни та греки [4, 5]. У садах королівського