

ВПЛИВ МОДИФІКОВАНОГО ЖИВИЛЬНОГО СЕРЕДОВИЩА НА МІКРОКЛОНУВАННЯ РОСЛИН *IN VITRO* РИЖІЮ ЯРОГО

І. О. Любченко, аспірант

Л. О. Рябовол, доктор сільськогосподарських наук

А. І. Любченко, кандидат сільськогосподарських наук

Уманський національний університет садівництва

У статті наведено результати досліджень з вивчення впливу складу живильного середовища, концентрації і співвідношення в ньому регуляторів росту на інтенсивність мікроклонального розмноження рижію ярого в умовах in vitro. Найвищий коефіцієнт розмноження відмічено на живильному середовищі Мурасіге-Скуга за модифікації ІОК та 6-БАП у концентраціях 1,0 мг/л.

Ключові слова: рижій ярий, регулятори росту рослин, поживне середовище, мікроклональне розмноження, in vitro.

Постановка проблеми. Серед сільськогосподарських рослин рижій ярий (*Camelina sativa* L.) викликає зацікавленість як олійна культура різнобічного використання. Насіння рижію містить до 45 % олії з високим вмістом олеїнової (близько 16 %), лінолевої (близько 20 %), ліноленової (близько 35 %) жирних кислот та низьким вмістом ерукової кислоти (1,6–2,2 %), що робить її придатною для використання в харчуванні. Вона має збалансований комплекс натуральних антиоксидантів і біологічно активних речовин та володіє лікувальними і дієтичними властивостями [1, 2].

Перспективним є використання рижію як енергетичної культури. Вміст енергії в насінні, олії та соломі відповідно становить 26,4, 38,2 та 17,7 Дж/г, сумарний вихід – 110 ГДж/га [3]. Висока технологічність рижієвої олії робить її цінною сировиною для виробництва біодизелю та авіаційного палива [4]. Рижій ярий є джерелом цінної сировини для технічної переробки – виготовлення лаків, фарб, пластмас, мастил тощо [5].

Короткий період вегетації, невибагливість до умов вирощування, стійкість до хвороб та шкідників дає можливість отримувати гарантовані врожаї культури в різних ґрунтово-кліматичних умовах [5]. Завдяки низьким технологічним затратам та високій ціні на сировину виробництво рижію має одні із найкращих показників економічної ефективності серед ярих олійних культур: чистий прибуток складає 21750 грн/га, а рівень рентабельності – 181 % [6].

Незважаючи на цінність рижію, в Україні об'єми виробництва цієї культури залишаються незначними. Основний фактор, що стримує розширення вирощування культури – недостатня селекційна та насінницька робота.

Аналіз останніх досліджень публікацій. Для прискорення селекційного процесу доцільно використовувати біотехнологічні методи, зокрема

мікроклональне розмноження – масове вегетативне клонування в умовах *in vitro*, яке виключає появу генетично змінених форм. Методику розмноження рослин в культуральних умовах було розроблено французьким дослідником Ж. Морелем в 1959 році [7].

Використання мікроклонального розмноження в селекційному процесі дає можливість працювати протягом року незалежно від погодних умов, добирати рослинний матеріал з бажаними ознаками та відтворювати його без генетичних змін, отримувати максимальне число копій з невеликої кількості вихідного матеріалу, інтенсивно розмножувати рослини з низькою фертильністю чи життєздатністю, створювати банки рослин з господарсько-цінними характеристиками, отримувати безвірусний оздоровлений насінневий матеріал тощо [8, 9].

Генетичною основою вегетативного розмноження є тотипотентність – властивість клітин реалізувати власну генетичну інформацію, яка забезпечує їх диференціацію і розвиток до цілого організму. Регенерація рослин *in vitro* може проходити декількома шляхами – органогенез, культура зародків чи соматичний ембріодогенез. За мікроклонального розмноження найстабільніше генетичний матеріал зберігається за використання в якості вихідного матеріалу апікальної меристеми [10].

Активація розвитку пазушних бруньок і використання бічних пагонів є одним із найпоширеніших методів вегетативного розмноження рослин в умовах *in vitro*. Він ґрунтується на інгібуванні апікального домінування, що досягається видаленням верхівкової меристеми стебла або модифікацією живильного середовища регуляторами росту цитокінінової природи [7, 10].

Тривалий час вважалося, що використання мікроклонального розмноження можливо застосовувати лише для культур, що здатні до вегетативного розмноження в природних умовах. Проте, нині технологію розмноження *in vitro* розроблено для сільськогосподарських, лікарських, декоративних та лісових культур [11–14].

Ефективність мікророзмноження залежить від низки чинників, головними з яких є склад живильного середовища та концентрація і співвідношення у ньому регуляторів росту. Для рижію ярого дане питання є маловивченим, що і спонукало нас до проведення досліджень у цьому напрямку.

Методика досліджень. Роботу виконано в біотехнологічній лабораторії Уманського національного університету садівництва. У дослідженнях використовували базові живильні середовища за прописами Мурасіге-Скуга, Шенка-Хильдебранта та Гамборга. Модифікували їх регуляторами росту ауксинової (ІОК) та цитокінінової (6-БАП) природи в різних концентраціях та співвідношеннях. Експлантами слугувала апікальна меристема проростків рижію ярого сорту Степовий 1. Стерилізацією експлантів, при введенні в культуру, проводили 1,0 %-им розчином перманганату калію за експозиції 10 хвилин. Біоматеріал культивували за інтенсивності освітлення 4 кЛк, температурному режимі 24–25 °С та відносній вологості повітря 75 %.

Критеріями ефективності кожного середовища були коефіцієнт розмноження, інтенсивність наростання біомаси та морфологічні

характеристики клонів.

Результати досліджень. У процесі проведених досліджень встановлено, що для рижію ярого характерний горизонтальний тип черенкування. Розмноження біоматеріалу відбувається за рахунок розвитку бічних адвентивних бруньок. Встановлено залежність інтенсивності мікроклонального розмноження рижію ярого від основного складу живильного середовища. Найвищий коефіцієнт розмноження отримано на модифікованому живильному середовищі Мурасіге-Скуга. У середньому з одного висадженого експлантату за 20 діб культивування утворювалось 4,0 адвентивні бруньки. За використання культуральних субстратів за прописами Шенка-Хильдебранта і Гамборга коефіцієнт розмноження в середньому становив відповідно 3,4 та 2,9, що було на 15–28 % менше у порівнянні з середовищем Мурасіге-Скуга.

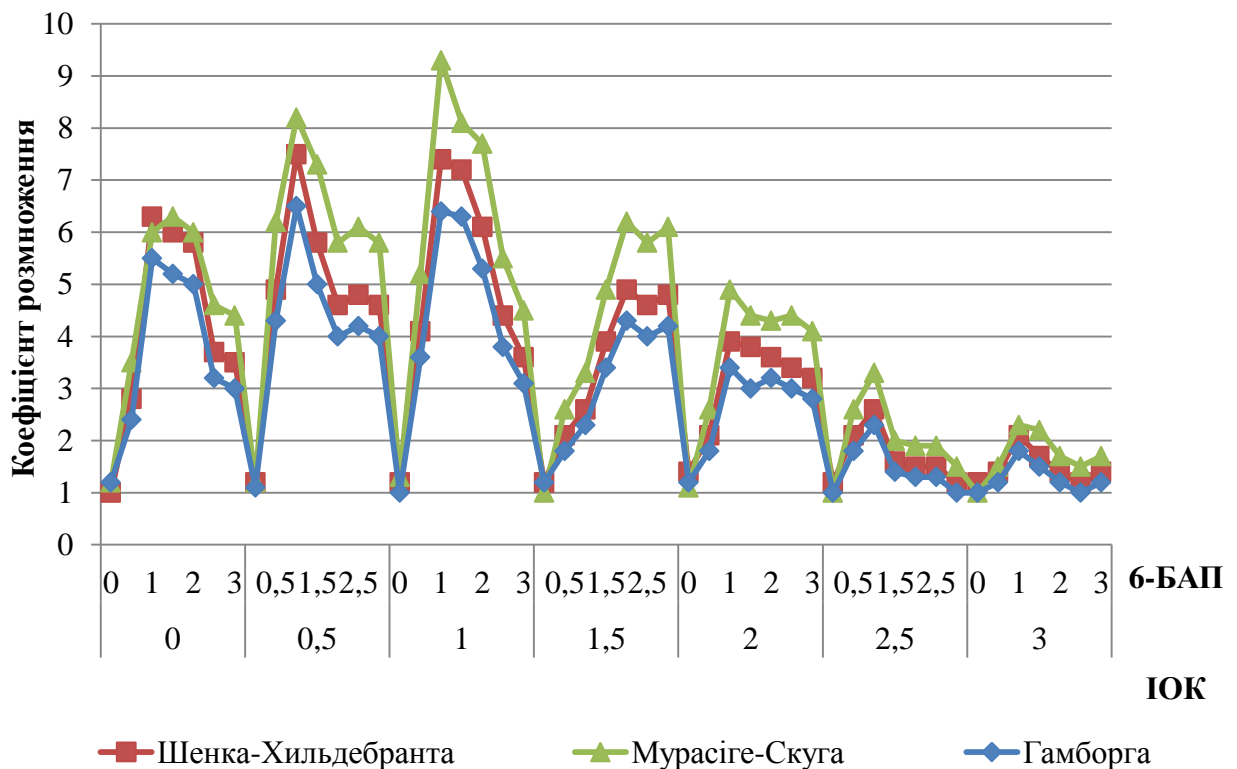


Рис. 1 Вплив модифікації живильних середовищ на коефіцієнт розмноження *in vitro* рижію ярого

Для інтенсивного розмноження *in vitro* рослинного матеріалу рижію ярого необхідною умовою є наявність в живильному середовищі ауксинів та цитокінінів. На безгормональних субстратах морфогенні програми розвитку експлантів не реалізовувались. Найвищий коефіцієнт розмноження (9,3 мікропагони) відмічено на живильному середовищі Мурасіге-Скуга за модифікації ІОК та 6-БАП в концентраціях 1,0 мг/л, підвищення вмісту цитокініну до 1,5 мг/л неістотно змінювало показники мікророзмноження (Рис. 1). На середовищах Гамборга та Шенка-Хильдебранта за вказаного співвідношення регуляторів росту інтенсивність розмноження *in vitro* була на 20–31 % нижчою, коефіцієнт розмноження відповідно становив 6,4 та 7,4.

За відсутності 6-БАП та підвищених концентраціях ІОК відбувалось

пригнічення утворення бічних пагонів, індукування ризогенезу та цвітіння.

Одним із показників ефективності мікроклонального розмноження є морфологічні характеристики отриманих рослинних матеріалів. Інтенсивність наростання рослин-регенерантів рижію ярого залежить від складу живильного середовища та його модифікації регуляторами росту (див. табл.).

Вплив модифікації живильних середовищ на біометричні показники рослинних біоматеріалів

Морфологічні показники	Концентрація ІОК, мг/л (фактор B)								
	0,5			1,0			1,5		
	Концентрація 6-БАП, мг/л (фактор C)								
	0,5	1,0	1,5	0,5	1,0	1,5	0,5	1,0	1,5
Гамборга (фактор A)									
Висота рослин, мм	52	30	27	53	49	50	39	38	23
Приріст біомаси, мг	342	410	250	353	650	608	172	123	252
Маса мікропагона, мг	80	63	50	98	102	97	96	53	74
Мурасіге-Скуга (фактор A)									
Висота рослин, мм	55	26	24	48	44	42	35	33	21
Приріст біомаси, мг	462	554	338	477	878	821	232	166	340
Маса мікропагона, мг	75	68	46	92	94	101	89	50	69
Шенка-Хильдебранта (фактор A)									
Висота рослин, мм	48	23	21	46	38	40	32	28	25
Приріст біомаси, мг	314	378	230	325	598	559	142	113	232
Маса мікропагона, мг	64	50	40	79	81	78	68	43	59

НІР₀₅ за висотою рослин — А-4; В-5; С-5; АВ-8; АС-6; ВС-6; АВС-14;

НІР₀₅ за приростом біомаси — А-8; В-10; С-6; АВ-13; АС-11; ВС-15; АВС-24;

НІР₀₅ за масою мікропагона — А-2; В-4; С-2; АВ-3; АС-5; ВС-4; АВС-5

Найвищу висоту клонів зафіксовано на живильному середовищі за прописом Гамборга (середня висота одного мікропагона у кінці пасажу становила 40 мм). За використання живильних середовищ Мурасіге-Скуга та Шенка-Хильдебранта даний показник відповідно становив 36 та 33 мм. Доповнення культуральних субстратів ІОК в конценрації 0,5–1,0 мг/л та 0,5 мг/л 6-БАП індувало формування клонів висотою 52–53 мм (на середовищі Гамборга), 48–55 мм (на середовищі Мурасіге-Скуга) та 48–46 мм (на середовищі Шенка-Хильдебранта). Підвищення вмісту цитокініну понад 1,0 мг/л суттєво знижувало висоту отриманих рослин. На модифікованих живильних середовищах Гамборга та Мурасіге-Скуга середня маса однієї мікророслини відповідно становила 79 та 76 мг. На середовищі Шенка-Хильдебранта даний показник був меншим на 21 % і становив 62 мг. Найбільшою масою рослини (78–102 мг) формувались за модифікації живильних середовищ ауксинами у концентрації 1,0 мг/л. За

мікронального розмноження рижію ярого за період субкультивування утворювались рослинні конгломерати масою від 113 до 878 мг. На живильному середовищі Мурасіге-Скуга за додавання 1,0 мг/л ІОК та 6-БАП отримано найвищий приріст біомаси. Це дозволило отримати високий коефіцієнт розмноження та формування регенерантів з великою масою. За використання культуральних субстратів Шенка-Хильдебранта та Гамборга показники приросту рослинних конгломератів були на 26–31 % нижчими.

Порівняльний аналіз частки впливу досліджуваних чинників (склад живильного середовища, концентрація індолілоцтової кислоти та 6-бензилоамінопурину) на показники мікронального розмноження рижію ярого показано на рис. 2.

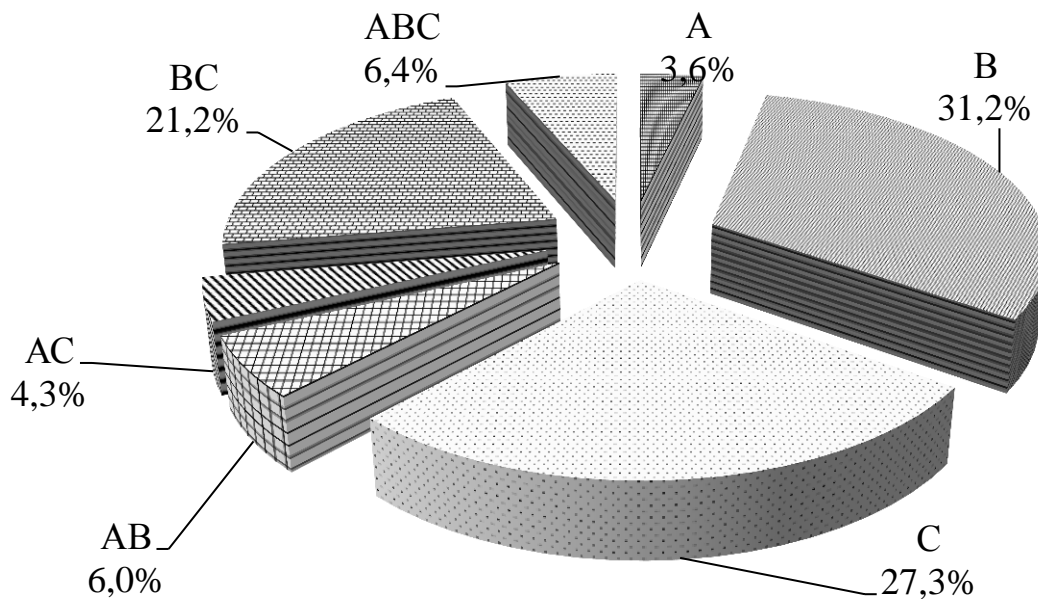


Рис. 2 Частка впливу досліджуваних чинників на інтенсивність мікронального розмноження рижію ярого:

фактор А – склад базового живильного середовища; фактор В – концентрація ІОК; фактор С – концентрація 6-БАП; АВ, АС, ВС, АВС – взаємодія факторів

На основі дисперсійного аналізу було встановлено, що на інтенсивність мікророзмноження *in vitro* істотний вплив мали вміст та співвідношення регуляторів росту в живильному середовищі. Частка впливу концентрації ІОК на коефіцієнт розмноження була найвищою і становила 31,2 %, концентрації 6-БАП – 27,3 %. Частка впливу взаємодії факторів В і С (співвідношення ауксинів та цитокінінів) становила 17,9 %, а складу живильного середовища – лише 3,6 %.

Висновки. Отже, розроблено модифікований живильний субстрат для мікронального розмноження рижію ярого. Встановлено, що для інтенсивного наростання мікроклонів доцільно використовувати модифіковане живильне середовище за прописом Мурасіге-Скуга при додаванні 1,0 мг/л ІОК та 6-БАП, що забезпечує коефіцієнт розмноження на рівні 9,3.

Література

1. Лях В. О., Комарова І. Б. Вміст та жирнокислотний склад олії рижію ярого. *Бюлетень Інституту зернового господарства*. 2010. № 38. С. 137–142.
2. Кулакова С. Н., Гаппаров М. М., Викторова Е. В. О растительных маслах нового поколения в нашем питании. *Масложировая промышленность*. 2005. № 1. С. 4–8.
3. Каленська С. М., Юник А. В. Роль олійних культур у вирішенні енергетичної безпеки України. *Збірник наукових праць Інституту біоенергетичних культур і цукрових буряків*. 2011. № 2. С. 90–96.
4. Мельничук М. Д., Демидась Г. І., Квітко Г. П., Гетман Н. Я. Рижій посівний як альтернатива ріпаку ярому для виробництва біодизеля. *Наукові доповіді НУБіП України*. 2012. Т. 31. № 2. http://www.nbu.gov.ua/e-journals/Nd/2012_2/12dgi.pdf.
5. Семенова Е. Ф., Буянкин В. И., Тарасов А. С. Масличный рыжик: биология, технология, эффективность. Волгоград. 2007. 82 с.
6. Коник Г. С., Лихочвор А. М. Урожайність рижію порівняно з ярими олійними культурами. *Бюлетень Інституту сільського господарства степової зони НААН України*. 2016. № 11. С. 46–49.
7. Кунах В. А. Біотехнологія лікарських рослин. Генетичні та фізіолого-біохімічні основи. Київ. 2005. 730 с.
8. Бабинова А. В., Горпенченко Т. Ю., Журавлев Ю. Н. Растение как объект биотехнологии. *Комаровские чтения*. 2007. Вып. LV. С. 184–211.
9. Плаксина Т. В., Пищева Г. Н. Биотехнология в селекции, размножении и сохранении растений. *Бюлетень Ботанического сада-института ДВО РАН*. 2014. № 12. С. 22–30.
10. Бутенко Р. Г. Культура изолированных тканей и физиология морфогенеза растений. Москва. 1964. 272 с.
11. Кашин В. И., Борисова А. А., Приходько Ю. Н., Суркова О. Ю., Упадышев М. Т. Технологический процесс получения безвирусного посадочного материала плодовых и ягодных культур: Методические указания. Москва. 2001. С. 97.
12. Денчиля-Сакаль Г. М., Ніколайчук В. І., Терек В. О. Мікроклональне розмноження рослин *Trifolium pratense* L. *Науковий вісник Ужгородського університету. Серія Біологія*. 2010. Вып. 28. С. 1–4.
13. Сергиенко О. Ф. Оптимизация методики микроклонирования моркови. *Физиология и биохимия культурных растений*. 2000. Т. 32. № 3. С. 232–235.
14. Шистибратов К. А., Лебедев В. Г., Мирошников А. И. Размножение древесных растений *in vitro* (клональные технологии). *Биотехнология*. 2008. № 5. С. 4–22.

Reference

1. Liakh, V. O., Komarova, I. B. (2010). The content and fatty acid composition of camelina oil. *Bulletin of the Institute of grain farming*, 2010, no. 38, pp. 137–142 (in Ukrainian).

2. Kulakova, S. N., Gapparov, M. M., Viktorova, E. V. (2005). About vegetable oils new generation in our diet. *Fat and oil industry*, 2005, no. 1, pp. 4–8 (in Russian).

3. Kalens'ka, S. M., Yunyk, A. V. (2011). Oilseeds role in addressing the energy security of Ukraine. *Collection of scientific works of the Institute of bioenergetic plants and sugar beet*, 2011, no. 2, pp. 90–96 (in Ukrainian).

4. Mel'nychuk, M. D., Demydas', H. I., Kvitko, H. P. et al. (2012). Camelina as an alternative spring rape for the production of biodiesel. *Scientific reports of NUBiP*, 2012, T. 31, no. 2. Available at: http://www.nbu.gov.ua/e-journals/Nd/2012_2/12dgi.pdf. (in Ukrainian).

5. Semenova, E. F. Bujankin, V. I., Tarasov, A. S. (2007). *Camelina sativa: biology, technology, efficiency*. Volgograd: Publishing house of VolSU, 2007. 82 p. (in Russian).

6. Konyk, H. S., Lykhochvor, A. M. (2016). The productivity of camelina in comparison with spring oil crops. *Bulletin of the Institute of Agriculture of the steppe zone of the National Academy of Sciences of Ukraine*, 2016, № 11. pp. 46–49 (in Ukrainian).

7. Kunakh, V. A. (2005). *Biotechnology of medicinal plants. Genetic and physiological and biochemical basis*. Kyiv: Logos, 2005. 730 p (in Ukrainian).

8. Babikova, A. V., Gorpenchenko, T. Ju., Zhuravlev, Ju. N. (2007). Plants as object biotechnology. *Komarovskie readings*, 2007, № LV, pp. 184–211 (in Russian).

9. Plaksina, T. V., Pishcheva, G. N. (2014). Biotechnology in the selection, propagation and preservation of plants. *Bulletin of the Botanical Garden Institute of Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences*, 2014, № 12. pp. 22–30 (in Russian).

10. Butenko, R. G. (1964). *The culture of isolated tissues and the physiology of plant morphogenesis*. Moscow: Nauka, 1964. 272 p. (in Russian).

11. Kashin, V. I., Borisova, A. A., Prihod'ko, Yu. N., Surkova, O. Yu., Upadyshev, M. T. (2001). *Technological process of obtaining a virus-free planting stock of fruit and berry crops: Methodological guidelines*. Moscow, 2001. 97 p. (in Russian).

12. Denchylia-Sakal', H. M., Nikolajchuk, V. I., Terek, V. O. (2010). Microclone reproduction of plants *Trifolium pratense* L. *Scientific Bulletin of Uzhgorod University. Series Biology*, 2010, № 28. pp. 1–4 (in Ukrainian).

13. Sergienko, O. (2000). Optimization of the microclone reproduction of carrots. *Physiology and biochemistry of cultivated plants*, 2000, V. 32, № 3, pp. 232–235 (in Ukrainian).

14. Shistibratov, K. A., Lebedev, V. G., Miroshnikov, A. I., (2008). Reproduction of woody plants *in vitro* (clonal technologies). *Biotechnology*, 2008, № 5, pp. 4–22 (in Russian).

Одержано 09.10.2017

Аннотация

Любченко И. О., Рябовол Л. О., Любченко А. И.

Влияние модифицированной питательной среды на микроклонирование *in vitro* растений рыжика ярого

Рыжик ярый – перспективная сельскохозяйственная культура, имеющая продовольственное, техническое и энергетическое значение. Короткий период вегетации, устойчивость к болезням и вредителям, неприхотливость к условиям выращивания обуславливают высокую экономическую эффективность его производства. Лимитирующим фактором расширения площадей под культурой является отсутствие пластических высокоурожайных сортов.

В последнее время в селекционно-генетических исследованиях и семеноводческой работе используют биотехнологические методы, в частности микроклональное размножения. Эффективность которого зависит от ряда факторов, главными из которых являются состав питательной среды, концентрация и соотношение в ней регуляторов роста. Для рыжика ярого данный вопрос является малоизученным.

В наших исследованиях базовые питательные среды модифицировали регуляторами роста ауксиновой (ИУК) и цитокининовой (6-БАП) природы в различных концентрациях и соотношениях. Эксплантами служили апикальные меристемы проростков рыжика ярого сорта Степной 1.

В ходе проведённых исследований установлено, что для рыжика ярого характерен горизонтальный тип черенкования. Размножение биоматериала происходит за счет развития боковых адвентивных почек. Для интенсивного размножения *in vitro* растительного материала рыжика ярого необходимым условием является наличие в питательной среде ауксинов и цитокининов. Самый высокий коэффициент размножения (9,3 микропагона) отмечено на питательной среде Мурасиге-Скуга при модификации ИУК и 6-БАП в концентрациях 1,0 мг/л, повышение содержания цитокинина до 1,5 мг/л несущественно изменяет показатели морфогенетической активности. На средах Гамборга и Шенка-Хильдебранта за указанного соотношения регуляторов роста интенсивность размножения *in vitro* была на 26–31% ниже. На интенсивность микроразмножения *in vitro* рыжика ярого наиболее сильное влияние имело содержание и соотношение в питательной среде регуляторов роста.

Ключевые слова: рыжик ярый, регуляторы роста растений, питательная среда, микроклональное размножение, *in vitro*.

Annotation

Lybchenko I. O., Ryabovol L. O., Lybchenko A. I.

Influence of the modified growing medium on microcloning of *in vitro* camelina plants

Camelina sativa is a promising agricultural crop which has food, technical and energy significance. A short period of vegetation, resistance to diseases and pests and unpretentiousness to the cultivation conditions determine the high economic efficiency of its production. The limiting factor of expanding areas for this crop is lack of high-yielding varieties.

Recently, biotechnological methods, in particular microclonal propagation, are used in selection and genetic studies and seed production. The effectiveness depends on a number of factors, the main of which are the composition of the nutrient medium, concentration and ratio of growth regulators in it. This question is poorly known for camelina.

In our studies, basic nutrient media were modified by growth regulators of auxin (2,4-dichlorophenoxyacetic acid) and cytokinin (6-benzylaminopurine) nature in various concentrations and ratios. Explants were apical meristems of camelina sprouts of Stepnoi 1 variety.

In the course of conducted studies, it is found that a horizontal type of propagation is characteristic for camelina. The biomaterial propagation is due to the development of lateral

adventive shoots. For intensive propagation of in vitro plant material of camelina the presence of auxins and cytokinins in the growing medium is a prerequisite. The highest propagation rate (9.3 micro shoots) was observed on the Murasige-Skoog growing medium with the modification of IAA and 6-BAP at concentrations of 1.0 mg/l. The increase in cytokinin content to 1.5 mg/l slightly changes indicators of the morphogenetic activity. On the Gamborg and Schenk-Hildebrant growing media at the indicated ratio of growth regulators in vitro propagation rate was 26–31% lower. The content and ratio of growth regulators in the growing medium influence mostly the intensity of micro propagation of camelina sativa in vitro.

Keywords: *camelina sativa, plant growthregulators, nutrient medium, microclonal reproduction, in vitro.*

УДК 631.49.041:625.131.3

ВМІСТ СТРУКТУРНИХ АГРЕГАТІВ ҐРУНТУ В ЛІТНІЙ ПЕРІОД ВЕГЕТАЦІЇ ГОРОХУ, ПШЕНИЦІ ОЗИМОЇ ТА БУРЯКА ЦУКРОВОГО ЗА РІЗНИХ ЗАХОДІВ ОСНОВНОГО ОБРОБІТКУ

В. Г. Крижанівський, кандидат сільськогосподарських наук

Уманський національний університет садівництва

Г. Л. Пінчковський, молодший науковий співробітник

Дослідна станція тютюництва НААН України

Подано матеріали в середньому за три роки стосовно впливу різних заходів основного обробітку чорнозему опідзоленого в п'ятипільній сівозміні на вміст структурних агрегатів ґрунту в літній період вегетації гороху, пшениці озимої та буряка цукрового. Встановлено, що заміна оранки варіантами з культивацією та без основного обробітку не погіршує структуру орного шару на середину вегетації гороху, пшениці озимої та буряка цукрового. В орному шарі ґрунту навіть відмічається збільшення вмісту агрономічно цінних структурних агрегатів відповідно на 1,0–1,2 та 1,7 % під горохом, на 0,7–0,8 та 1,7 % – під пшеницею озимою та на 0,9–1,4 % – під буряком цукровим. Це відбувається завдяки зменшенню частки бриластої фракції (>10 мм) і пилуватих (<0,25 мм) агрегатів.

Ключові слова: *горох, пшениця озима, буряк цукровий, культивація, основний обробіток.*

Постановка проблеми. У ХХІ ст. швидко зростає енергоозброєність рільництва, що надає практично необмежені можливості в інтенсивності і поглибленні обробітку ґрунту. Проте досвід і практика свідчать, що в багатьох випадках зростання інтенсивності обробітку ґрунту все частіше призводить до негативних наслідків: зростають затрати на його виконання, урожайність не підвищується, прискорюється мінералізація гумусу, ґрунт розпилюється, зменшується його стійкість проти ерозії. Відомо, що багаторазові проходи по полю тракторів і ґрунтообробних знарядь призводять