

## СТВОРЕННЯ БАНКУ СЕЛЕКЦІЙНОГО МАТЕРІАЛУ ЖИТА ОЗИМОГО *IN VITRO*

**Л. О. РЯБОВОЛ**, доктор сільськогосподарських наук  
**Я. С. РЯБОВОЛ**, доктор сільськогосподарських наук  
**І. П. ДІОРДІЄВА**, кандидат сільськогосподарських наук  
Уманський національний університет садівництва

*Розроблено послідовну технологічну схему переведення рослинного матеріалу в стан відносного анабіозу та створення активної колекції вихідних зразків жита озимого. Доведено, що за температури зберігання 6 °C після 12 місяців депонування на модифікованому 6-бензиламінопурином (2,0 мг/л), сахарозою (40 г/л) та агар-агаром (12,0 г/л) живильному середовищі виживання рослин сягає 81,3 %.*

**Ключові слова:** жито озиме, культура *in vitro*, активна колекція, депонування, температурний режим, живильне середовище, вихідний матеріал.

**Аналіз останніх досліджень та публікацій.** Важливим питанням ведення селекційного процесу залишається збереження вихідного та отриманого матеріалу, особливо перехреснозапильних культур, які істотно втрачають свою життєздатність за інбридингу [1]. Створення банку генетичного ресурсу за використання біотехнологічних методів дозволить ефективно вирішити цю проблему.

Збереження генофонду можливе за створення активної або базової колекції *in vitro*. Обидва типи банків генів вирішують проблему тривалого зберігання біоматеріалу шляхом уповільнення росту рослин (активна колекція) або криозбереження (базова (пасивна) колекція) [2, 3].

Для зберігання рослинного матеріалу впродовж тривалого періоду доцільно створювати активну колекцію зразків. Достатньо перевести рослинний матеріал у стан уповільненого росту, створивши банк активної колекції генетичного матеріалу, що, за потреби, може терміново використовуватись у селекційній роботі. Для цього необхідно підібрати відповідний режим вирощування, що обмежить можливість проходження інтенсивних процесів метаболізму в рослинному організмі та зведе ріст і розвиток біосистем до мінімуму [4, 5].

Створення генетичного банку вихідних форм і використання активної колекції рослинних матеріалів сприяє оптимізації селекційного процесу, особливо це стосується перехреснозапильних культур, зокрема жита озимого, оскільки для отримання ліній за примусового самозапилення зав'язується незначна кількість насіння. Використання культуральної колекції сприятиме не

тільки збереженню вихідних форм, але й у визначений селекційний період дозволить отримати запрограмовану кількість цінного матеріалу [6].

Найпростішим чинником досягнення уповільнення росту є зниження температури культивування клонованих зразків. Ефективним методом переходу рослин у стан глибокого або вимушеного спокою є зміна живильного середовища, зокрема, співвідношення між екзогенними регуляторами росту. Застосовують і способи, що поєднують зміну температурного режиму за використання гормональних або осмотичних інгібіторів [7].

У літературі не знайдено достатньої кількості інформації щодо умов створення та зберігання активної колекції біологічного виду *Secale cereale* L.

Актуальність питання з вивчення умов створення активної колекції рослинних матеріалів жита озимого не викликає сумнівів, оскільки цінні генотипи культурального матеріалу можуть слугувати джерелом генів якісних господарсько цінних ознак у відповідних селекційних схемах упродовж тривалого періоду. Жито – перехреснозапильна рослина і збереження генетично-ідентичного матеріалу є важливим питанням у технологічній схемі отримання та використання вихідних матеріалів у селекційному процесі за створення високопродуктивних гетерозисних гібридів [8].

Оптимальними умовами вирощування жита озимого в ізолюваній культурі є температурний режим у межах 20–24 °С, 16-годинний фотоперіод за інтенсивності освітлення 3–5 кЛк і вологості 75 %.

Метою роботи було визначення умов формування генетичного банку цінних матеріалів жита озимого за зміни температурного режиму та модифікації живильного середовища для тривалого депонування клонованих рослин і використання активної колекції вихідних форм у селекційному процесі.

**Методика досліджень.** Для депонування клонів використовували живильне середовище, до складу якого входили макро- й мікроелементи за прописом середовища Мурасіге-Скуга [9, 10]. Модифікували живильний субстрат цитокінінами і вуглеводами (патент № 126908) [11]. Клони зберігали в культуральних приміщеннях при визначеному за варіантами дослідження температурному режимі (6–12°С) та низькій інтенсивності освітлення (2 кЛк).

**Результати досліджень.** За результатами наших досліджень встановлено, що за такого режиму вирощування на ростових живильних середовищах з однієї апікальної меристеми на 50–60 добу, залежно від генотипу, можна отримати до 20 адвентивних бруньок. Отже, використовуючи клонування можна забезпечити селекційний процес матеріалом генетично ідентичним рослині-донору експланта [12].

Збільшуючи термін культивування без зміни живильного середовища спостерігали пожовтіння та некроз нижніх листочків рослин, що призводило до втрат цінного генетичного матеріалу. Тому за оптимального режиму культивування періодично необхідно оновлювати живильний субстрат. Цей процес потребує відповідних затрат. При цьому, за роботи з перехреснозапильними культурами постає питання збереження селекційного

матеріалу в культурі *in vitro* та використання цінних генотипів впродовж тривалого періоду.

Сформувані активну колекцію та подовжити термін її депонування можна за рахунок уповільнення процесів метаболізму в організмі рослини, створенням умов для припинення інтенсивного росту та розвитку біооб'єктів.

Для переведення рослин жита озимого у стан відносного спокою використовували чинник температурного обмеження (низькі позитивні температури).

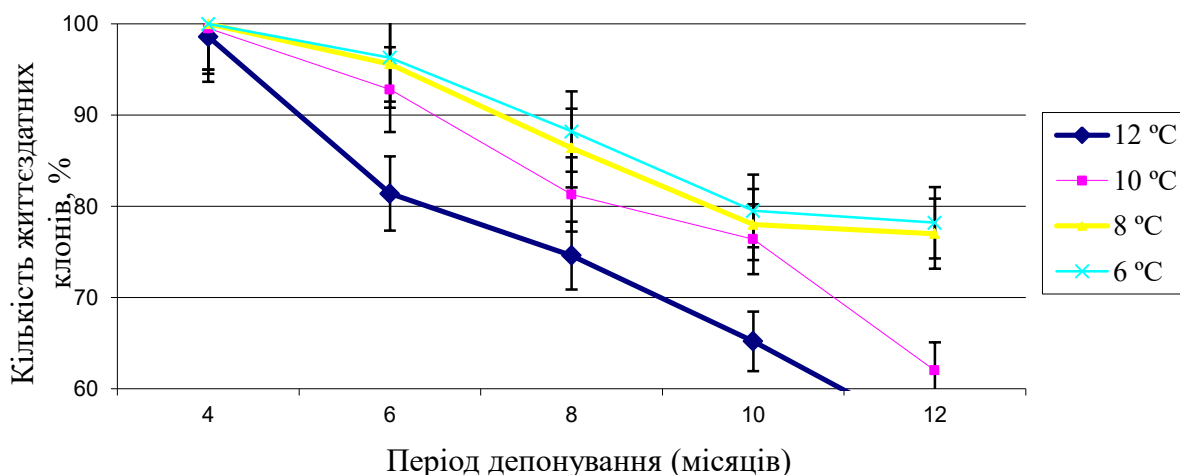
Варіанти дослідів відрізнялись температурою в культуральних приміщеннях, де впродовж 12 місяців зберігали біоматеріал. У процесі досліджень визначали середньомісячний приріст рослин, період активного росту протягом терміну зберігання, інтенсивність закладання адвентивних бруньок і фіксували відсоток вегетуючих рослин.

У результаті проведених досліджень визначено оптимальні фізичні умови створення та зберігання активної колекції жита озимого (табл., рис. 1).

**Табл. Вплив температурного режиму і тривалості депонування активної колекції на ростові процеси рослин жита озимого, %\***

Режим, t °C	Середній приріст, см	Кількість сформованих бруньок, шт.	Період активного росту, діб
12	1,2±0,4	4–7	40–60
10	0,7±0,3	3–5	20–30
8	0,5±0,2	1–2	10–14
6	0,4±0,1	1–2	10–12

\*Примітка. В середньому за генотипами



**Рис. 1. Життєздатність рослин жита озимого за зміни температурного режиму та тривалості депонування активної колекції**

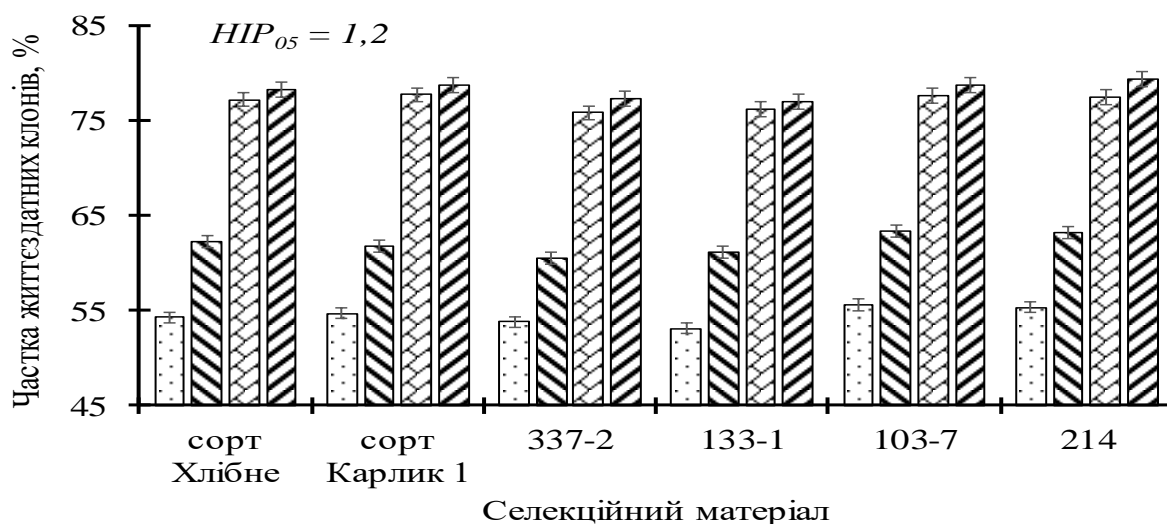
Найбільшу частку життєздатних клонів отримано у варіанті дослідів, де рослинний матеріал депонували за температури 6 °C. Такий температурний

режим забезпечив середньомісячний приріст рослин жита озимого на рівні 0,4 см. Незалежно від генотипу, період інтенсивного росту фіксували впродовж перших 10–12 діб, що попередило закладання адвентивних бруньок (1–2 шт.).

Через 12 місяців безпересадкового депонування збереглося 78,2 % рослин жита озимого. Після десяти місяців зберігання спостерігали істотне зниження життєздатності клонів. Тому, використовуючи температуру зберігання активної колекції на рівні 6 °С, рекомендується оновлювати ростове живильне середовище через 12 місяців депонування.

З активної колекції за рік депонування в середньому за генотипами було вибраковано 21,8 % рослин (за причиною інфікування – 5,8 %; некроз рослин – 15,3 %; альбінізм – 0,7 %). Ця закономірність спостерігалась за культивування різних генотипів жита.

Встановлено, що сортова належність за депонування істотно не впливає на життєздатність матеріалу (рис. 2).



**Рис. 2. Вплив генотипу та температурного режиму на стан активної колекції жита озимого (12-й місяць депонування).**

□ – 12°C;    ▣ – 10°C;    ▤ – 8°C;    ▥ – 6°C.

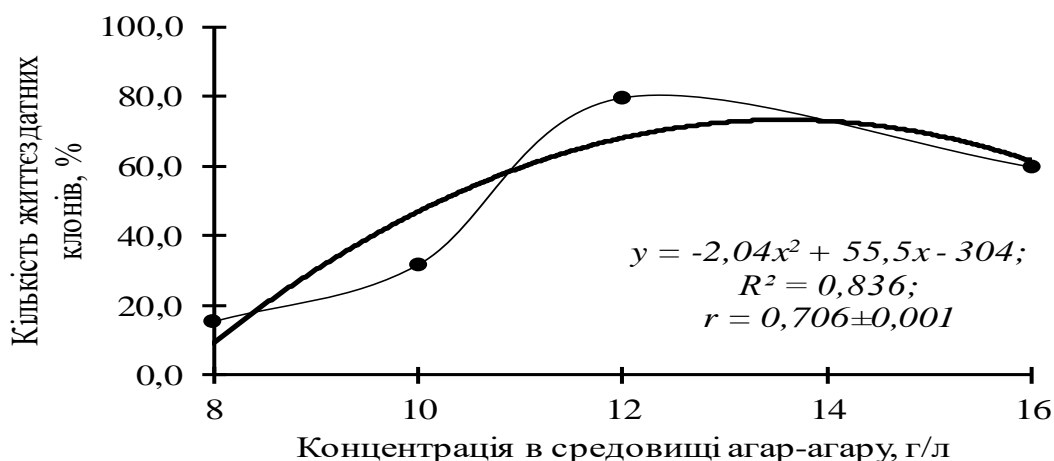
Необхідно зазначити і те, що після року депонування між генотипами в межах виду спостерігали незначну різницю в реакції рослинних організмів на низьку температуру зберігання у варіантах досліду 6 і 8 °С. Ця температура за тривалого впливу забезпечувала проходження яровизації колекційних зразків жита озимого.

Інфікування рослинного матеріалу, зазвичай, відмічали у перші 20–30 діб культивування на живильному середовищі. За введення до середовища підвищених концентрацій регуляторів росту, агар-агару та сахарози подовжується період зберігання селекційного матеріалу без зміни субстрату в культурі *in vitro*.

Для подовження терміну депонування зразків у культурі *in vitro* модифікували живильне середовище. Зміна складу макросолей у субстраті,

зокрема, підвищення вмісту азоту, викликало активний ріст мікроклонів перших п'ять місяців, після чого за короткого періоду стаціонарної фази (10–14 діб) фіксували різке зниження життєздатності рослин. Зниження інтенсивності ростових процесів призводить до некрозу нижніх листків і пожовтіння апікальної частини верхніх. Кількість життєздатного матеріалу на 12-й місяць депонування в середньому за генотипами склала 57,3 %.

Використання щільнішого живильного середовища за збільшення концентрації агар-агару до 12,0 г/л сприяло уповільненню інтенсивності росту та розвитку біоматеріалу (рис. 3).



**Рис. 3. Вплив концентрації агар-агару на життєздатність клонів жита озимого за депонування *in vitro* (12-й місяць).**

Упродовж культивування приріст біомаси клонів у середньому не перевищував 0,5 см за місяць. Виживання рослин після 12 місяців депонування залежно від генотипу і склало 77,8–81,3 %. Підвищення концентрації агару в середовищі інгібувало процеси життєдіяльності матеріалів. За концентрації 16,0 г/л кількість життєздатних рослин зменшилась до 59,5 %.

За введення в живильне середовище підвищеної концентрації регуляторів росту, зокрема 6-БАП (2,0–2,2 мг/л) і сахарози 40,0 г/л та поступове зниження температурного режиму до 10°C подовжувало тривалість зберігання клонованих рослин без зміни субстрату та збільшувало період зберігання селекційного матеріалу в ізолюваній культурі.

У процесі зберігання рослинного матеріалу проводився цитологічний аналіз окремих генотипів, що підтвердив генетичну стабільність рослин активної колекції на рівні 98,5 %.

Після перенесення зразків з культурального банку в оптимальні умови вирощування (температурний режим 20–22 °С, 16-годинний фотоперіод з інтенсивністю освітлення 3–4 клк, відносна вологість 75 %), спостерігалось інтенсивне наростання біоматеріалу, особливо у весняний період, за рахунок прискорення процесів метаболізму в клітинах. За 30–35 діб розвитку на ростовому середовищі рослини закладали до восьми адвентивних пагонів, а за перенесення на ризогенний субстрат – формували корені.

**Висновки.** Визначено умови створення активної колекції рослин жита озимого за використання температурного обмеження та модифікації живильного середовища. Розроблено послідовну технологічну схему переведення рослинного матеріалу в стан відносного анабіозу. Доведено, що оптимальною температурою для зберігання зразків є 6 °С. Вживання рослин за вказаного температурного режиму після 12 місяців депонування фіксували у середньому за генотипами на рівні 78,2 %.

За модифікації живильного середовища агар-агаром в концентрації 12,0 г/л збільшується частка життєздатних клонів до 81,3 %, а за введення в субстрат підвищеної концентрації регуляторів росту, зокрема 6-БАП (2,0 мг/л) і сахарози 40,0 г/л з поступовим зниженням температурного режиму до 10 °С подовжує період депонування клонованих рослин без зміни субстрату та термін зберігання селекційного матеріалу в ізольованій культурі.

Використання біотехнологічних методів для збереження і розмноження цінного матеріалу інтенсифікує селекційний процес отримання вихідних зразків жита озимого.

### Література

1. Рябчун В. К., Богуславський Р. М. Проблеми та перспективи збереження генофонду рослин в Україні. Харків, 2002. 38 с.
2. Мельничук М. Д., Новак Т. В., Кунах В. А. Біотехнологія рослин: підручник. Київ: Вища освіта, 2003. 280 с.
3. Рудишин С. Д. Основи біотехнології рослин: підручник. Вінниця, 1998. 224 с.
4. Биотехнология растений: культура клеток. Пер. с англ. В. И. Негрука; под ред. Р. Г. Бутенко. Москва: Агропромиздат, 1989. 284 с.
5. Подвигина О. А. Сохранение селекционного материала в условиях *in vitro*. *Энциклопедия рода Beta: биология, генетика и селекция свеклы*. Новосибирск, 2010. С. 446–454.
6. Рябовол Я. С., Рябовол Л. О. Створення банку вихідного матеріалу жита озимого за використання біотехнологічних методів. Матеріали III Міжнародної науково-практичної конференції «Актуальні питання сучасної аграрної науки». Умань, 2015. С. 102–103.
7. Гончаренко С. М., Сердюк О. М. Довготривале культивування рослин стевії в умовах *in vitro*. *Цукрові буряки*. 2006. Вип. 49, № 1. С. 18–19.
8. Рябовол Я. С., Рябовол Л. О. Умови формування активної колекції вихідних матеріалів жита озимого. Матеріали Міжнародної науково-практичної конференції «Селекція, насінництво, технології вирощування круп'яних та інших сільськогосподарських культур: досягнення і перспективи». Кам'янець-Подільський, 2016. С. 158–159.
9. Murashige T., Skoog F. A revised media for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. *Physiology Plant*. 1962. № 15. P. 473–497.
10. Skoog F., Miller C. O. Chemical regulation of growth and organ formation in plants tissues cultures *in vitro*. 11-th. Symp. Soc. Exp. Biol. 1957. V. 11. P. 118–131.
11. Рябовол Я. С., Рябовол Л. О. Патент на корисну модель № 126908 від 10.07.2018 р. (Україна). Спосіб індукування розвитку меристем та

розмноження рослин жита озимого; Заявл. 05.02.2018; Опубл. 10.07.2018, Бюл. № 13. 6 с.

12. Рябовол Л. О., Рябовол Я. С. Вплив складу живильного середовища на клонування рослин жита озимого в культурі *in vitro*. Матеріали Міжнародної науково-практичної Інтернет-конференції «Проблеми і перспективи розвитку сучасної аграрної науки». Миколаїв: Миколаївська ДСДС ІЗЗ. 2014. С. 17–18.

### References

1. Ryabchun, V. K., Boguslavsky, R. M. (2002). Problems and prospects of preservation of gene pool of plants in Ukraine. Kharkov. 38 p. (in Ukrainian).
2. Melnichuk, N. D., Novak, T. V., Kunah A. V. (2003). Plant biotechnology. Kiev: Agrarmarketing, 2003. P. 223–240. (in Ukrainian).
3. Rudisin, S. D. (1998). *Fundamentals of plant biotechnology*. Vinnitsa, 1998. 224 p.
4. *Plant biotechnology: cell culture*. Tran. from English. V. I. Negruk; ed. by G. G. Butenko. M.: Agropromizdat, 1989. 284 p. (in Russian).
5. Podvigina, O. A. (2010). Conservation of breeding material in vitro *Encyklopedia of Beta: biology, genetics and breeding of sugar beet*. Novosibirsk, 2010. Pp. 446–454. (in Russian).
6. Riabovol, I. S., Riabovol, L. O. (2015). Creation of the bank of initial material of winter rye for the use of biotechnological methods. Proceedings of the III International scientific-practices conference «Topical issues of modern agricultural science». Uman, 2015. Pp. 102–103. (in Ukrainian).
7. Goncharenko, S. M., Serdyuk E. M. (2006). A long period of cultivation of stevia plants in vitro. *Sugar beet*, 2006, vol. 49, no. 1, pp. 18–19. (in Ukrainian).
8. Riabovol, I. S., Riabovol, L. O. (2016). The conditions of formation of the active collection source materials of winter rye. Materials of the International scientific-practices conference «Breeding and seed production, technology of growing cereals and other crops: achievements and prospects». Kamenetz-Podolsk, 2016. Pp. 158–159. (in Ukrainian).
9. Murashige, T., Skoog, F. (1962). A revised media for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. *Physiology Plant*, 1962, no. 15. Pp. 473–497. (in English).
10. Skoog, F., Miller, C. O. (1957). Chemical regulation of growth and orgai formation in plants tissues cultures *in vitro*. 11-th. Symp. Soc. Exp. Biol. V. 11. Pp. 118–131. (in English).
11. Ryabovol, I. S., Ryabovol, L. O. (2018). Patent for utility model № 126908 dated July 10, 2018 (Ukraine). Method of inducing meristem development and reproduction of winter rye plants; Application 02.05.2018; Publ. 07.10.2018, Bull. № 13. 6 p. (in Ukrainian).
12. Riabovol, L. O., Riabovol, I. S. (2014). Influence of nutrient medium composition on the cloning of plants of winter rye in vitro culture. Materials of the International scientific-practices conference «Problems and prospects of development of modern agricultural science». Nikolaev, Nikolaev DSDS IZZ, 2014. Pp. 17–18. (in Ukrainian).

## *Аннотация*

**Рябовол Л. О., Рябовол Я. С., Диордиева И. П.**

### **Формирование банка селекционного материала ржи озимой *in vitro*.**

Важным вопросом ведения селекционного процесса остается сохранение исходного и полученного материала, особенно перекрестноопыляемых культур, существенно теряющих свою жизнеспособность при инбридинге. Создание банка генетического ресурса при использовании биотехнологических методов позволит эффективно решить эту проблему.

Для депонирования клонов использовали питательную среду, в состав которой входили макро- и микроэлементы по прописи среды Мурасиге-Скуга. Модифицировали питательный субстрат цитокининами и углеводами. Клоны хранили в культуральных помещениях при температурном режиме 6–12 °С с низкой интенсивностью освещения (2 кЛк).

В процессе исследований определены условия создания активной коллекции растений озимой ржи при использовании температурного ограничения и модификации питательной среды. Разработана последовательная технологическая схема перевода растительного материала в состояние относительного анабиоза. Доказано, что оптимальной температурой для хранения образцов есть 6 °С. Выживаемость растений при указанном температурном режиме после 12 месяцев депонирования фиксировали в среднем по генотипам на уровне 78,2 %.

При модификации питательной среды агар-агаром в концентрации 12,0 г/л увеличивается количество жизнеспособных клонов до 81,3 %, а при введении в субстрат повышенной концентрации регуляторов роста, в частности 6-БАП (2,0 мг/л) и сахарозы 40,0 г/л с постепенным снижением температурного режима до 10 °С продлевает период депонирования клонированных растений без изменения субстрата и срок хранения селекционного материала в изолированной культуре.

Использование биотехнологических методов для сохранения и размножения ценного материала интенсифицирует селекционный процесс получения исходных образцов ржи озимой.

**Ключевые слова:** рожь озимая, культура *in vitro*, активная коллекция, депонирование, температурный режим, питательная среда, исходный материал.

## *Annotation*

**Ryabovol L. O., Ryabovol Ya. S., Diordiieva I. P.**

### **Creation of the bank of breeding material of winter rye *in vitro*.**

An important issue of the selection process is the preservation of the source and obtained material, especially cross-pollinated crops, which significantly lose their viability by inbreeding. Creating a bank of genetic resources using biotechnological methods will effectively solve this problem.

The aim of the work was to determine the conditions for the formation of a genetic bank of valuable winter rye materials with changes in temperature and modeling of the nutrient medium for long-term disposal of cloned plants and the use of active collection of original and created forms in the selection process.



*To deposit the clones, a nutrient medium, which included macro- and microelements according to the Murashige-Skuga medium was used. The nutrient substrate modified with cytokinins and carbohydrates. The clones in culture rooms at a temperature of 6–12 °C and low light intensity (2 kLk) were stored.*

*In the course of research the conditions of creation of an active collection of plants of winter rye with use of temperature restriction and modification of a nutrient medium are defined. A consistent technological scheme for the conversion of plant material into a state of relative anabiosis has been developed. It is proved that the optimal storage temperature for samples is 6 °C. Survival of plants at the specified temperature regime after 12 months of deposition on average by genotypes at the level of 78,2 % was recorded.*

*Modification of the nutrient medium with agar-agar at a concentration of 12,0 g/l increases the proportion of viable clones to 81,3 %, and the introduction into the substrate of an increased concentration of growth regulators, in particular 6-BAP (2,0 mg/l) and sucrose 40,0 g/l and a gradual decrease in temperature to 10 °C prolongs the period of deposition of cloned plants without changing the substrate and the shelf life of breeding material in isolated crops.*

*Using of biotechnological methods for the preservation and reproduction of valuable material intensifies the selection process of obtaining initial samples of winter rye.*

**Key words:** *winter rye, in vitro culture, active collection, deposition, temperature regime, nutrient medium, source material.*

**УДК 632.51:[332.66:631.582+631.51:631.445.4]  
DOI 10.31395/2415-8240-2021-99-1-37-47**

## **ЗАБУР'ЯНЕНІСТЬ ПОСІВІВ І ПРОДУКТИВНІСТЬ 5-ПІЛЬНОЇ СІВОЗМІНИ НА ФОНІ РІЗНОЇ ІНТЕНСИВНОСТІ ОСНОВНОГО ОБРОБІТКУ ЧОРНОЗЕМНОГО ҐРУНТУ**

**В. О. ЄЩЕНКО**, доктор сільськогосподарських наук  
**Г. В. КОВАЛЬ**, кандидат сільськогосподарських наук  
Уманський національний університет садівництва

*У статті показано, як змінюється забур'яненість посівів вирощуваних у 5-пільній сівозміні зернових і технічних культур під впливом заміни зяблевої полицевої оранки плоскорізним розпушуванням та зміни глибини основного обробітку і як це впливає на урожайність культур та загальну продуктивність сівозміни за виходом кормових одиниць і перетравного протеїну.*

**Ключові слова:** *способи і глибина основного обробітку ґрунту, забур'яненість посівів, урожайність культур, продуктивність сівозміни.*

**Постановка проблеми.** Сівозміни сучасного польового землеробства повинні розроблятися за принципом класичної плодозміни, який є важливим фактором високої продуктивності окремих сільськогосподарських культур на