

## ВИЗНАЧЕННЯ ТЕМПЕРАТУРНОГО РЕЖИМУ ДЛЯ ФОРМУВАННЯ *IN VITRO* АКТИВНОЇ КОЛЕКЦІЇ БУРЯКУ (*Beta vulgaris* L.) ТА ЦИКОРІЮ КОРЕНЕПЛІДНОГО (*Cichorium intybus* L.)

*Л. О. Рябовол, доктор сільськогосподарських наук  
Уманський національний університет садівництва*

**Вступ.** Основними питаннями в селекції рослин є пошук, відбір та збереження джерел продуктивного вихідного матеріалу. Незважаючи на те, що насіння як одиниця збереження задовольняє основні вимоги, встановлені до звичайних генетичних джерел, частину матеріалу, зокрема отриманого *in vitro*, доцільно зберігати в ізолюваній культурі. Збереження в умовах *in vitro* є оптимальним заходом для видів рослин з насінням низької схожості, видів, що розмножуються вегетативно та перехреснозапильно [1, 2, 3, 4].

Збереження генотипу в ізолюваній культурі є зміна кінетики росту культурального біоматеріалу та збільшення інтервалів між пересаджуваннями. По-перше, це дасть змогу пересаджувати культуру щоквартально або щорічно. По-друге, тривалість зберігання вихідного матеріалу можна збільшити до декількох років і навіть десятиліть. Залежно від програмованого терміну збереження генофонду рослин можна створити як активну, так і базову колекції [5, 6].

У літературі недостатньо інформації про умови зберігання активної колекції рослин біологічного виду *Beta vulgaris* L. й відсутня для *Cichorium intybus* L.

Рослини перехреснозапильні і збереження генетично ідентичного матеріалу є важливою ланкою в технологічній ланці живильного середовища, що потребує відповідних затрат. А при роботі з перехреснозапильними культурами додатково виникає питання збереження селекційного матеріалу в культурі *in vitro* та використання цінного генетичного потенціалу протягом обмеженого періоду.

схемі отримання та використання вихідних матеріалів у процесі створення високопродуктивних гетерозисних гібридів.

Актуальність вивчення умов створення активної колекції рослинних матеріалів буряку цукрового та цикорію коренеплідного не викликає сумнівів, так як цінні генотипи культурального матеріалу могли б слугувати джерелом генів якісних маркерних ознак у відповідних селекційних схемах протягом тривалого терміну (5–10 років) [7, 8].

Оптимальними умовами вирощування буряку цукрового та цикорію коренеплідного в культурі є температурний режим у межах 20–24°C, 16-годинний фотоперіод за інтенсивності освітлення 3-5 κлк та відносна вологість повітря – 75%. За такого режиму вирощування на ростових живильних середовищах з однієї апікальної меристеми за 50–60 діб можна отримати до 30 адвентивних бруньок буряку та 40 – цикорію. Таким чином, за рахунок клонування є можливість забезпечити селекціонера генетично ідентичними рослинами – донорами експлантатного матеріалу.

При збільшенні терміну культивування без зміни живильного середовища спостерігається пожовтіння та некроз нижніх листків рослин, що призводить до втрати цінного біоматеріалу. Все це вказує на необхідність періодичного оновлення.

**Мета роботи** — визначити умови уповільненого росту біооб'єктів за рахунок припинення процесів метаболізму в організмі рослини і створити банк рослинних матеріалів різних генотипів буряку цукрового й цикорію коренеплідного.

**Матеріали і методи.** У дослідженнях використовували клонований

матеріал різних генотипів буряку цукрового й цикорію коренеплідного. Для переведення рослин у стан відносного спокою використовували фактор температурного обмеження (низькі позитивні температури (7–16°C) за інтенсивності освітлення 2 кЛк.

Варіанти досліду відрізнялись температурою у культуральних приміщеннях, де протягом 12 місяців зберігали біоматеріал. Визначали середній щомісячний приріст рослин, період активного росту протягом терміну зберігання, інтенсивність закладання адвентивних бруньок, відсоток здорових рослин.

**Результати досліджень та їхнє обговорення.** У результаті проведених досліджень визначено оптимальні фізичні умови створення та зберігання активної колекції досліджуваних культур.

Найкращі результати отримано у варіанті, де рослинний матеріал депонували за температури 10°C. Такий температурний режим забезпечив середньомі-

сячний приріст рослин на рівні 0,2см. Незалежно від біовиду період інтенсивного росту фіксували упродовж перших 10–15 діб, короткий термін якого виключав закладання адвентивних бруньок (табл. 1).

Через 12 місяців безпересадового депонування збереглося 76,6% здорових рослин буряку цукрового та 68,3 цикорію коренеплідного. Необхідно зауважити, що різке зниження життєздатності клонів спостерігали після десяти місяців зберігання у буряку, та восьми – у цикорію. А тому, використовуючи температуру зберігання активної колекції на рівні 10° С, рекомендується оновлювати ростове живильне середовище для буряку цукрового через десять місяців, цикорію коренеплідного – через вісім.

З активної колекції за рік культивування за генотипами було вибракувано в середньому 23,4% рослин буряку з причин: інфікування 6,8; некрозу рослин – 15,8; альбінізму – 0,8%) та 31,7% цикорію (інфікування – 4,2; некроз – 27,5%).

Таблиця 1

**Вживання рослин буряку цукрового і цикорію коренеплідного залежно від впливу низьких позитивних температур та тривалості зберігання активної колекції, %**

Температурний режим, t°C	Середній приріст, см	Кількість сформованих бруньок, шт.	Період активного росту, діб	Період зберігання (місяців)				
				4	6	8	10	12
<b>Буряк цукровий</b>								
16°C	0,7±0,21	6–8	30–55	98,4±0,3	83,4±0,4	75,5±0,8	62,4±1,3	51,3±1,8
13°C	0,3±0,15	2–5	25–30	99,6±0,2	92,6±0,3	80,4±1,3	75,4±1,4	63,5±2,3
10°C	0,2±0,08	1–2	10–15	100±0,0	95,5±0,5	88,1±1,1	81,3±0,9	76,6±1,3
7°C	0,2±0,08	0	10–12	100±0,0	91,3±0,6	86,1±0,7	79,2±1,2	74,2±2,1
<i>HIP<sub>01</sub></i>	0,02	–	–	0,2	0,6	0,8	1,2	2,4
<b>Цикорій коренеплідний</b>								
16°C	0,8±0,18	5–9	25–50	98,8±0,4	93,6±0,5	80,4±1,3	58,5±1,5	46,2±2,3
13°C	0,5±0,12	3–4	20–30	99,0±0,3	94,1±0,4	87,5±1,2	65,5±1,3	59,8±1,8
10°C	0,2±0,05	1–2	10–15	99,5±0,2	97,4±0,3	89,3±0,9	79,8±1,7	68,3±2,4
7°C	0,1±0,05	0	8–10	99,5±0,4	95,0±0,6	88,4±0,9	70,1±2,1	60,3±2,3
<i>HIP<sub>01</sub></i>	0,02	–	–	0,3	0,4	0,7	1,1	2,2

Примітка. Подано середні за генотипами показники.

У результаті зберігання вибранних рослин цикорію було на 8,3% більше, аніж буряку. Ця закономірність спо-

стерігалася за культивування різних генотипів указаних біовидів (табл. 2, рис. 1).

Таблиця 2

**Стан активної колекції через 12 місяців культивування рослинного матеріалу за низьких позитивних температур (10°C)**

Біовид	Генотип	Стан активної колекції, %			
		здорові рослини	інфіковані рослини	альбіносні рослини	некроз
Буряк цукровий	Лінія 105	75,0±0,4	7,5±0,6	0,0	17,5±1,0
	Лінія 213	77,5±0,7	5,0±0,4	0,0	17,5±0,6
	Лінія 154т	77,5±1,2	7,5±0,7	2,5±0,4	12,5±1,1
Цикорій коренеплідний	Уманський 95	67,5±1,3	7,5±0,6	0,0	25,0±0,8
	Уманський 97	67,5±0,6	2,5±0,7	0,0	30,0±1,6
	Уманський 99	70,0±0,4	2,5±0,5	0,0	27,5±0,4
<i>HIP<sub>01</sub></i>		1,1	0,7	0,8	1,0

Примітка. Вибірка кожної повторності досліду — 40 рослин

Необхідно відмітити, що суттєвої різниці в реакції рослинного організму на низьку температуру зберігання (10°C) між генотипами у межах виду не спостерігалось.

Зниження температури зберігання до 7°C після десяти місяців депонування різко зменшувало відсоток рослин активної колекції.

Інфікування рослинного матеріалу, як правило, відмічалось протягом перших 25–35 діб культивування на живильному середовищі. Відсоток інфікованих рослин буряку перевищував частку інфікованих рослин цикорію на 2,6 відсотка.

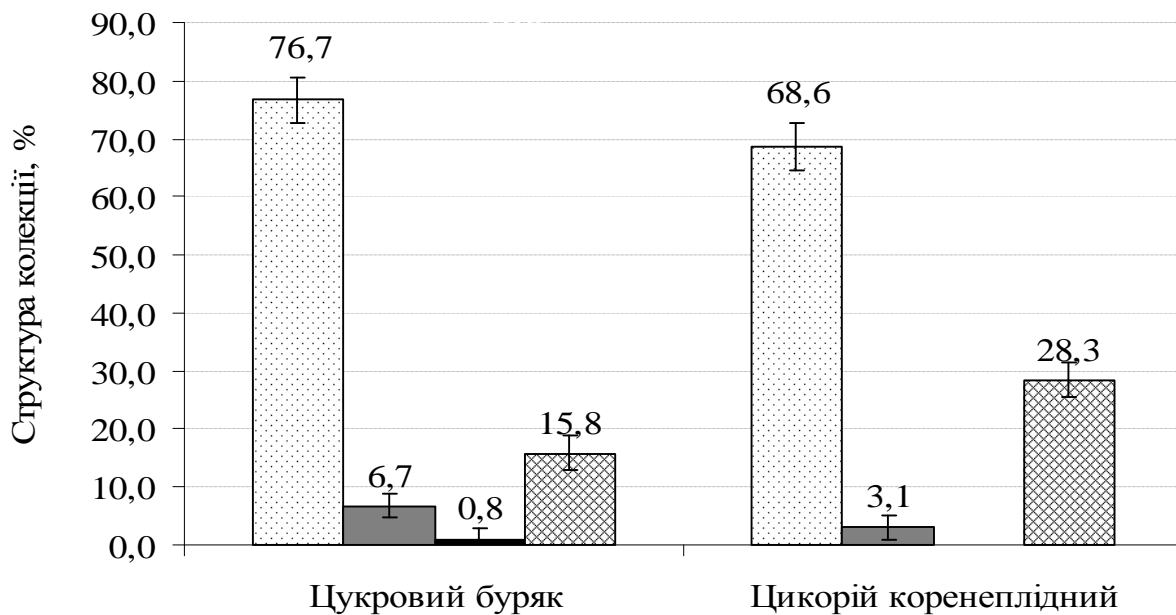
У процесі зберігання рослинного матеріалу проводився періодичний цитологічний аналіз окремих генотипів. Він підтвердив генетичну стабільність рослин активної колекції.

Після перенесення рослин з культурального банку в оптимальні умови вирощування (температурний режим 20–22°C, 16-годинний фотоперіод з інтенсивністю освітлення 3–4 кЛк, відносна вологість 75 %) спостерігалось інтенсивне наростання біоматеріалу, особливо у ве-

сняний період за рахунок прискорення процесів метаболізму в клітинах. За місяць розвитку рослини формували 10–15 адвентивних пагонів, а при перенесенні на ризогенні середовища – корені.

Використовуючи метод температурного обмеження, нами створено банк селекційного матеріалу буряку цукрового та цикорію коренеплідного, де сьогодні за визначеною методикою зберігаються цінні генотипи понад дев'ять років.

**Висновки.** Визначено умови створення активної колекції рослин буряку цукрового та цикорію коренеплідного. Розроблено послідовну технологічну схему переведення рослинного матеріалу в стан відносного анабіозу. Доведено, що температурний режим культурального приміщення на рівні 10°C забезпечує безпересадкове зберігання рослин буряку цукрового протягом десяти місяців, а цикорію коренеплідного – восьми. Використовуючи метод температурного обмеження, створено банк селекційного матеріалу даних видів, де за визначеною методикою зберігаються цінні генотипи вихідного матеріалу.



**Рис. 1. Стан активної колекції генотипів через 12 місяців культивування рослинного матеріалу за температури зберігання 10°C:**

- ▣ – здорові рослини;
- – альбіносні рослини;
- – інфіковані рослини;
- ▤ – некроз.

#### **Використана література:**

1. Корниенко, А. В. Методы биотехнологии в селекционной практике. / А. В. Корниенко, Т. П. Жужжалова, В. В. Знаменская [и др.]. // Сахарная свекла. – 2002. – № 9. – С. 25.
2. Биотехнология растений: культура клеток. / Пер. с англ. В. И. Неграу; под ред. Р. Г. Бутенко. – М.: Агропромиздат, 1989. – 284 с.
3. Кунах, В. А. Особенности культуры изолированных тканей растений как клеточной популяции в связи с перспективой применения ее в генетике и селекции. / В. А. Кунах. // Экспериментальная генетика растений. – К.: Наук. думка, 1977. – С. 112–123.
4. Рябчун, В. К. Проблемы та перспективи збереження генофонду рослин в Україні. / В. К. Рябчун, Р. М. Богуславський. – Харків, 2002. – 38 с.
5. Єщенко, О. В. Депонування регенерантів цукрових буряків в умовах культури «in vitro». / О. В. Єщенко, М. В. Небиков. // Зб. наук. пр. – Умань: УСГА, 2005. – С. 166–171.
6. Опалко, А. І. Кріоконсервування як метод тривалого зберігання зародко-

вої плазми сільськогосподарських культур. / А. І. Опалко, С. П. Медвідь, О. А. Опалко. – Умань, 2005. – С. 5–13.

7. Калинин, Ф. Л. Методы культуры тканей в физиологии и биохимии растений. / Ф. Л. Калинин, В. В. Сарнацкая, В. Е. Полищук. – К.: Наук. думка, 1980. – 487 с.

8. Мельничук, М. Д. Біотехнологія рослин. / М. Д. Мельничук, Т. В. Новак, В. А. Кунах. – К.: ПоліграфКонсалтинг, 2003. – С. 223–240.

#### **УДК 631.52:581.143.5:633.63+633.78**

**Рябовол Л. О.** Визначення температурного режиму для формування *IN VITO* активної колекції буряку (*Beta vulgaris* L.) та цикорію коренеплідного (*Cichorium intybus* L.). // Сортовивчення та охорона прав на сорти рослин: науково-практичний журнал. / М-во аграрної політики України, Державна служба з охорони прав на сорти рослин, Український інститут експертизи сортів рослин; голов. ред. Хаджиматов В. А. [та ін.]. – К., 2010. – № 1 (11).

Визначено умови створення активної колекції генетичного матеріалу рос-

лин буряку цукрового та цикорію корене-плідного за використання методу температурного обмеження в культурі *in vitro*. Доведено, що температурний режим культурального приміщення на рівні 10°C забезпечує безпересадкове зберігання рослин буряку цукрового протягом десяти місяців, а цикорію коренеплідного — восьми.

**Ключові слова:** матеріал генетичний, культура *in vitro*, колекція активна, режим температурний, буряк цукровий, цикорій коренеплідний.

**УДК 631.52:581.143.5:633.63+633.78**

**Рябовол Л. О.** Определение температурного режима для формирования активной коллекции свеклы (*Beta vulgaris* L.) и цикория корнеплодного (*Cichorium intybus* L.). // Сортовивчення та охорона прав на сорти рослин: науково-практичний журнал. / М-во аграрної політики України, Державна служба з охорони прав на сорти рослин, Український інститут експертизи сортів рослин; голов. ред. Хаджиматов В. А. [та ін.]. – К., 2010. – № 1 (11).

Определены условия для формирования активной коллекции генетического материала свёклы сахарной и цикория корнеплодного при использовании метода температурного ограничения в культуре *in vitro*. Установлено, что температурный режим культурального помещения на уровне 10°C обеспечивает беспересадочное сохранение растений свёклы сахарной на протяжении десяти месяцев, а цикория корнеплодного – восьми.

**УДК 631.52:581.143.5:633.63+633.78**

**Riabovol, L.** Determination of temperature rate for formation of active collection of plant material of the coffee chicory (*Cichorium intybus* L.) and sugar beet (*Beta vulgaris* L.) // Сортовивчення та охорона прав на сорти рослин: науково-практичний журнал. / М-во аграрної політики України, Державна служба з охорони прав на сорти рослин, Український інститут експертизи сортів рослин; голов. ред. Хаджиматов В. А. [та ін.]. – К., 2010. – № 1 (11).

The conditions for creating active collection of genetic material of sugar beets and coffee chicory by using the method of temperature limitations for *in vitro* culture are defined. It is proved that the temperature rate in culture rooms at 10 degrees

Celsius ensures storing of sugar beets for ten months and chicory for eight months without transplanting.