

МІНІСТЕРСТВО АГРАРНОЇ ПОЛІТИКИ ТА ПРОДОВОЛЬСТВА УКРАЇНИ
МИКОЛАЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

ВІСНИК
АГРАРНОЇ НАУКИ ПРИЧОРНОМОР'Я
Науковий журнал

*Виходить 4 рази на рік
Видається з березня 1997 р.*

Випуск 3 (73) 2013

Миколаїв
2013

Засновник і видавець: Миколаївський національний аграрний університет.

Свідоцтво про державну реєстрацію КВ №19669-9469ПР від 11.01.2013.

Згідно з Постановою ВАК України від 14.04.2010 р. № 1-05/3 видання включено до переліку фахових видань.

Головний редактор: В.С. Шибанін, д.т.н., проф., чл.-кор. НААНУ

Заступники головного редактора:

І.І. Червен, д.е.н, проф.
К.М. Думенко, д.т.н., доц.
В.П. Клочан, к.е.н., доц.
М.І. Гиль, д.с.-г.н., проф.
В.В. Гамаюнова, д.с.-г.н., проф.

Відповідальний секретар: Н.В. Потриваєва, д.е.н., доц.

Члени редакційної колегії:

Економічні науки: О.В. Шибаніна, д.е.н., проф.; Н.М. Сіренко, д.е.н., проф.; О.І. Котикова, д.е.н., проф.; Джулія Олбрайт, PhD, проф. (США); І.В. Гончаренко, д.е.н., проф.; О.М. Вишневська, д.е.н., доц.; А.В. Ключник, д.е.н., доц.; О.Є. Новіков, д.е.н., доц.; О.В. Скрипнюк, д.ю.н., проф.; О.Д. Гудзинський, д.е.н., проф.; О.Ю. Єрмаков, д.е.н., проф.; В.І. Топіха, д.е.н., проф.; В.М. Яценко, д.е.н., проф.; М.П. Сахацький, д.е.н., проф.; В.С. Дога, д.е.н., проф. (Молдова).

Технічні науки: Б.І. Бутаков, д.т.н., проф.; К.В. Дубовенко, д.т.н., проф.; В.І. Гавриш, д.е.н., проф.; В.Д. Будаков, д.т.н., проф.; С.І. Пастушенко, д.т.н., проф.; А.А. Ставинський, д.т.н., проф.; В.П. Лялякіна, д.т.н., проф. (Росія).

Сільськогосподарські науки: В.С. Топіха, д.с.-г.н., проф.; Т.В. Підпала, д.с.-г.н., проф.; Л.С. Патрева, д.с.-г.н., проф.; В.П. Рибалко, д.с.-г.н., проф., академік НААН України; І.Ю. Горбатенко, д.б.н., проф.; І.М. Рожков, д.б.н., проф.; В.А. Захаров, д.с.-г.н., проф. (Росія); С.Г. Чорний, д.с.-г.н., проф.; М.О. Самойленко, д.с.-г.н., проф.; Л.К. Антипова, д.с.-г.н., доц.; В.І. Січкарь, д.б.н., проф.; А.О. Лимар, д.с.-г.н., проф.; А.П. Орлюк, д.б.н., проф.; В.Я. Щербаков, д.с.-г.н., проф.; Майкл Бьоме, проф. (Німеччина).

Рекомендовано до друку вченою радою Миколаївського національного аграрного університету. Протокол № 2 від 29.10.13 р.

Посилання на видання обов'язкові.

Точка зору редколегії не завжди збігається з позицією авторів.

Адреса редакції, видавця та виготовлювача:

54020, Миколаїв, вул. Паризької комуни, 9,

Миколаївський національний аграрний університет,

тел. 0 (512) 58-05-95, www.mnau.edu.ua, e-mail: visnik@mnau.edu.ua

© Миколаївський національний аграрний університет, 2013

ВЛИЯНИЕ ГОРМОНАЛЬНОГО СОСТАВА ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ НА ИНТЕНСИВНОСТЬ РОСТА МАЛИНЫ В КУЛЬТУРЕ IN VITRO

Л.В. Иванова-Ханина, кандидат сельскохозяйственных наук

Южный филиал Национального университета биоресурсов и природопользования Украины «Крымский агротехнологический университет»

Представлены результаты исследований эффективности получения асептической культуры ремонтантной малины в осенний период. Установлено, что наиболее эффективным при введении в культуру in vitro исследуемых сортов является добавление в питательную среду БАП (0,5 мг/л) и ГК (0,2 мг/л).

Ключевые слова: асептическая культура, контаминация, эксплант, культура in vitro, клональное микроразмножение.

Постановка проблемы. Плоды ягодных культур в Крыму пользуются повышенным спросом, особенно в курортный сезон. При этом в промышленных условиях культивируют в основном землянику, а такие ягодные культуры, как малина, ежевика, смородина и крыжовник возделываются преимущественно на приусадебных участках и в фермерских хозяйствах [1]. Такая ситуация обусловлена в первую очередь климатическими условиями региона – скудные осадки, жара и сухость воздуха, поздневесенние заморозки и непредсказуемая зима способствуют необходимости постоянного обновления ассортимента ягодных на приусадебном участке. В то же время, появление на рынке новых сортов, отличающихся высокой урожайностью, крупным размером и привлекательным внешним видом ягоды, имеющих бесшипные или слабошипованные побеги, не нуждающиеся в опоре или подвязке, вызывает интерес и, соответственно, рождает спрос на посадочный материал.

В связи с тем, что закладка питомников ягодных культур на территории Крыма ограничена погодно-климатическими условиями, актуальным стал вопрос возможности использования биотехнологических методов, в частности, клональ-

ного микроразмножения в культуре *in vitro*. Этот метод характеризуется высоким коэффициентом размножения (до 1:107), что позволяет ускорить внедрение новых высокопродуктивных сортов, пользующихся повышенным спросом, в производство [2].

Анализ последних исследований и публикаций. Благодаря исследованиям многих авторов [2-7] накоплен достаточно большой опыт культивирования *in vitro* ягодных культур, в том числе малины красной (*Rubus idaeus* L.). Однако в этих работах подчеркивается, что необходимо учитывать влияние генотипа на процессы морфогенеза в культуре *in vitro*, что обуславливает необходимость подбора и оптимизации состава питательных сред и условий культивирования в зависимости от видовой и сортовой специфичности эксплантов.

Цель наших исследований – выявить особенности морфогенеза малины в культуре изолированных почек *in vitro* и подобрать оптимальный гормональный состав питательной среды.

Материалы и методы исследования. Материалом для исследований служили растения малины (*Rubus idaeus* L.) сортов Брусвяна, Joan J (Джоан Джи) и Примара.

При проведении экспериментальной работы использовали методы, общепринятые в исследованиях по культуре изолированных клеток, тканей и органов растений [8-9]. Поверхностную стерилизацию растительного материала осуществляли последовательной обработкой 70% этанолом (40 с) и препаратом Domestos в нескольких вариантах разведения и экспозиции, затем промывали в трех сменах автоклавированной дистиллированной воды. Культивирование почек осуществляли на питательной среде Мурасиге и Скуга (МС), содержащей 0,7% агары и дополненной регуляторами роста группы ауксинов, цитокининов и гиббереллинов в различных соотношениях. Условия культивирования: температура 24-26 °С, относительная влажность воздуха 60-70%, фотопериод 16 ч, освещенность 2 тыс. люкс. Для статистической обработки экспериментальных данных использовали пакет прикладных программ Excel 7.0 для Microsoft Windows®.

Результаты исследований. Анализ результатов влияния концентрации и длительности воздействия препарата Domestos на эффективность получения асептической культуры исследуемых сортов малины показал, что оптимальным было разведение 1:1 (табл. 1).

Таблица 1

Влияние концентрации и экспозиции препарата Domestos на эффективность освобождения эксплантов малины от контаминаций

Вариант	Процент свободных от контаминации растений по сортам			
	Экспозиция, мин.	Брусвяна	Joan J	Примара
1:9	11 (к)	10,2±4,0	0	0
	15	16,5±8,3	10,8±1,4	8,8±2,1
2:8	10	20,6±1,8	10,0±2,0	6,0±1,4
	15	33,3±1,8	33,3±5,3	28,4±7,6
1:1	8	64,6±6,5	55,0±4,8	53,2±8,6
	10	86,7±6,2	80,5±8,2	60,0±12,4

Выявлено, что уровень свободных от контаминации эксплантов на этапе введения в культуру *in vitro* варьировал от 6,0 до 86,7%. Наиболее полное освобождение от сапрофитной микрофлоры было отмечено при использовании препарата Domestos в 50% концентрации. Анализ литературных источников за последние годы позволил выделить этот препарат, как наиболее доступный и дешевый для использования в качестве стерилизующего вещества, однако концентрации, рекомендованные авторами [3, 4], предусматривали разведение его на уровне 5-10% раствора. В нашем эксперименте, вероятнее всего, высокий уровень контаминации был обусловлен осенним сроком введения в изолированную культуру. Оптимальные результаты для эксплантов исследуемых сортов были получены при использовании 50% Domestos в экспозиции 10 мин. с предварительной обработкой этанолом в течение 40 секунд. Снижение концентрации стерилизующего агента, как и времени воздействия, способствовало повышению процента контаминаций. Увеличение же экспозиции приводило

к значительному снижению жизнеспособности эксплантов, поскольку длительное воздействие химически активных веществ оказывало губительное влияние на растительные ткани. Следует отметить, что указанный вариант поверхностной стерилизации был оптимальным для всех исследуемых сортов, в результате было получено 60-87% свободных от контаминаций эксплантов.

Первым этапом работ по клональному микроразмножению растений является введение эксплантов в культуру *in vitro* и индукция их интенсивного роста и развития путем создания оптимальных условий для культивирования. Успешность этого этапа, особенно для многолетних растений, во многом определяет срок изоляции экспланта. В данном эксперименте введение в культуру *in vitro* осуществляли в осенний период, поскольку мягкие погодные условия сентября и октября в Крыму способствовали успешному выделению жизнеспособных почек. Проведенными исследованиями было установлено, что для изучаемых сортов характерен достаточно высокий уровень приживаемости изолированных почек на искусственной питательной среде МС (рис.).

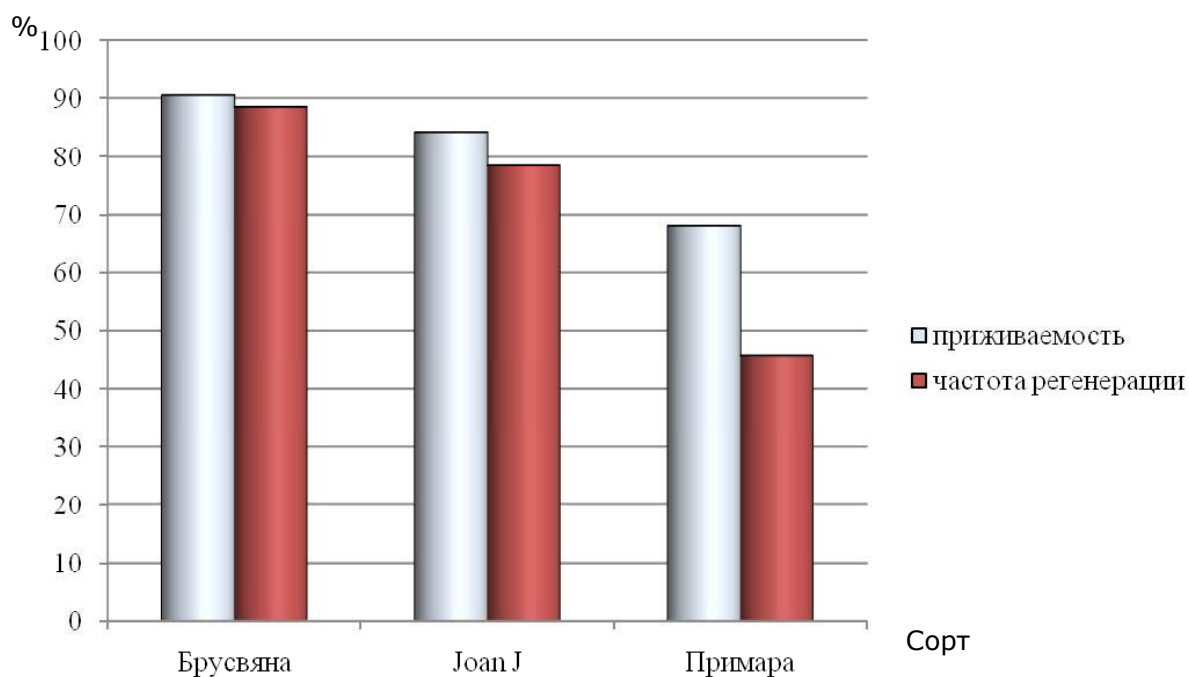


Рис. Уровень приживаемости и частота регенерации у исследуемых сортов малины в осенний срок введения в культуру *in vitro*

Следует отметить, что сорт Брусвяна отличался большей приживаемостью на этапе введения в культуру *in vitro* (90,5%). Несколько ниже были показатели приживаемости у сорта Joan J (84,2%). Частота регенерации варьировала по сортам от 45,8 до 88,5%. Наиболее высокие показатели были характерны для сорта Брусвяна (88,5%). Почки сорта малины Примара характеризовались невысокими показателями: приживаемость составила 68,0, а частота регенерации – 45,8%.

Исследованиями некоторых авторов [2, 5, 7] показано, что особую трудность при введении в культуру *in vitro* ягодных растений вызывает выделение ими в питательную среду фенольных веществ, приводящих к снижению регенерационных и ростовых процессов и в дальнейшем – к некрозу. В наших экспериментах потемнение питательной среды вокруг экспланта вследствие выделения фенольных соединений было отмечено уже через 1-1,5 часа после помещения их на питательную среду. Поэтому в соответствии с рекомендациями авторов [2, 5] мы добавляли в питательную среду аскорбиновую кислоту в концентрации 1 мг/л. В качестве гормональных добавок в среду использовали цитокинины (БАП), ауксины (ИМК) и гиббереллины (ГК) в различных концентрациях.

Следует отметить, что после введения в изолированную культуру почки на 5-7 день культивирования начинали раскрываться и образовывать первые листочки. В течение 30 суток культивирования экспланты формировали небольшой кустик с одним-тремя облиственными побегами различной длины.

Использование в качестве экспланта организованной структуры (почки) и добавление в питательную среду регуляторов роста группы цитокининов позволяло снять апикальное доминирование и вызвать образование побегов сразу из нескольких точек роста (табл. 2, 3).

Таким образом, в результате проведенных исследований выявлены особенности подготовки растительного материала

для отбора эксплантов и оптимизированы условия введения почек исследуемых сортов малины в культуру *in vitro*.

Таблица 2

Влияние гормонального состава питательной среды на рост микропобегов малины в культуре *in vitro* (30 сут. культивирования)

Параметры роста	Содержание и концентрация гормонов, мг/л				
	БАП 0,2 ГК 0,1	БАП 0,5 ГК 0,1	БАП 0,5 ГК 0,2	БАП 1,0 ГК 0,5	БАП 1,0 ИМК 0,5
Брусвяна					
Высота основного побега, мм	17,3±1,2	26,7±2,1	29,7±0,8	30,3±2,3	26,3±0,8
Количество побегов, шт.	2,2±0,2	1,8±0,2	2,4±0,1	2,0±0,2	2,4±0,1
Joan J					
Высота основного побега, мм	22,8±1,1	26,3±1,6	28,5±2,1	27,3±1,4	27,1±1,5
Количество побегов, шт.	1,2±0,6	1,0±0,25	1,2±0,6	2,3±0,4	1,6±0,2
Примара					
Высота основного побега, мм	13,6±1,2	15,2±0,9	15,8±1,3	16,4±0,7	13,4±0,8
Количество побегов, шт.	1,1±0,2	1,4±0,5	1,3±0,2	1,6±0,3	1,0±0,0

Анализ полученных нами биометрических данных показал, что при культивировании почек малины сорта Брусвяна формировалось и развивалось несколько побегов (1,8-2,4 шт.), тогда как у остальных исследуемых сортов формировался преимущественно один интенсивно развивающийся побег. Высота побегов варьировала в зависимости от используемых питательных сред. Так, у сорта Брусвяна наибольшей высотой характеризовались побеги при культивировании на питательной среде с добавлением БАП (0,5 и 1,0 мг/л) и ГК (0,2 и 0,5 мг/л). При этом между этими вариантами не было существенных различий, увеличение концентрации БАП до 1,0 мг/л и ГК до 0,5 мг/л не оказало значительного эффекта. Подобная ситуация наблюдалась и у сорта Joan J – варианты питательной среды с добавлением БАП (0,5 и 1,0 мг/л) и ГК (0,1, 0,2 и 0,5 мг/л) не имели существенных различий по высоте формирующихся на них побегов. Однако, повышение концентрации БАП до 1,0

мг/л в сочетании с ГК (0,5 мг/л) способствовало образованию дополнительных побегов ($2,3 \pm 0,4$ шт.). Таким образом, указанная концентрация оказалась оптимальной для данного сорта. Сорт малины Примара характеризовался меньшей силой роста, более длительным развитием после введения его в культуру *in vitro*. Отмечено, что экспланты этого сорта формировали преимущественно один побег, высота которого за 30 суток культивирования составила 13,4-16,4 мм. Добавление в питательную среду ИМК на этапе введения у всех исследуемых сортов способствовало формированию нормально развивающихся побегов и появлению корней у единичных микропобегов, но частота ризогенеза не превышала таковую в других вариантах и была отмечена только в отдельных вариантах.

Выводы:

1. Установлено, что наиболее эффективным для введения в культуру *in vitro* изолированных почек малины в осенний срок является 50% концентрация препарата Domestos, что обеспечивает освобождение от контаминаций на уровне 60,0-86,7%.
2. Оптимальной модификацией питательной среды МС на этапе введения в культуру *in vitro* для большинства исследуемых сортов малины является добавление БАП (0,5 мг/л) и ГК (0,2 мг/л).

Список використаних джерел:

1. Копылов В. И. Плодоводство Крыма в XXI веке / В. И. Копылов, В. В. Шевченко, Н. М. Щербатко // Агропромышленный комплекс Крыма в XXI веке : научн. труды КГАУ. — Симферополь, 2002. — Вып. 68. — С. 68 — 77.
2. Соловых Н. В. Клональное размножение ягодных культур *in vitro* / Н. В. Соловых, С. А. Муратова, М. Б. Янковская // Актуальные проблемы размножения ягодных культур и пути их решения : матер. междунар. научн.-метод. дистанционной конф., 2010. — Режим доступа к журн. : <http://konferenc2010.narod.ru>.
3. Микрклональное размножение малины как метод сохранения биоразнообразия растений в Казахстане / И. Ю. Ковальчук, З. Р. Мухитдинова, Т. Т. Турдиев [и др.] // Биотехнология как инструмент сохранения биоразнообразия растительного мира — 2008 : матер. II Всероссийской научн.-практич. конф. 19-21 авг. 2008 г. — Волгоград, 2008. — Режим доступа к журн. : <http://botanicblog.ru/public/biotech-2008/stat410>
4. Клональное размножение растений красной малины (*Rubusidaeus L.*) *in vitro* / Г. К. Оразбаева, И.Л. Майсупова, В.Т. Хасанов, В.К. Швидченко // Вестник науки КазАТУ им. С. Сейфуллина. — 2012. — №1 (72). — С.140 — 149.

5. Соловых Н. В. Использование биотехнологических методов в работе с ягодными культурами / Соловых Н. В. // Методические рекомендации. — Научноград РФ : ГНУ ВНИИГиСПР им. И.В. Мичурина, 2009. — 47 с.
6. Туровская Н.И. Микрклональное размножение малины / Н. И. Туровская, О.В. Стрыгина // Садоводство и виноградарство. — 1990. — № 8. — С. 26 — 29.
7. Таварткиладзе О. К. Размножение ежевики в культуре *in vitro* / О. К. Таварткиладзе, Н. А. Вечернина // Известия Алтайского государственного университета. Биологические науки. : электронный журнал. — № 3 (55). — Режим доступа к журн. : <http://izvestia.asu.ru/2007/3/biol/TheNewsOfASU-2007-3-biol-06.pdf>
8. Калинин Ф. Л. Методы культуры тканей в физиологии и биохимии растений / Калинин Ф. Л., Сарнацкая В. В., Полищук В. Е. — К. : Наукова думка, 1980. — 488 с.
9. Бутенко Р. Г. Культура изолированных тканей и физиология морфогенеза растений / Бутенко Р. Г. — М. : Наука, 1964. — 272 с.

Л.В. Іванова-Ханіна. Вплив гормонального складу живильного середовища на інтенсивність росту малини в культурі in vitro.

*Представлено результати досліджень з ефективності отримання асептичної культури ремонтантної малини в осінній період. Встановлено, що найбільш ефективним при введенні в культуру *in vitro* досліджуваних сортів є добавлення в живильне середовище БАП (0,5 мг/л) та ГК (0,2 мг/л).*

L. Ivanova-Khanina. Influence of the nutrient medium hormonal composition on the growth intensity of raspberries in the *in vitro* culture.

*The research results of efficiency receiving remontant raspberries aseptic culture in autumn are presented. It is found that the most effective for the introduction *in vitro* culture the addition in nutrient medium BAP (0,5 mg/l) and GA (0,2 mg/l) for studied sorts of raspberries.*

ЗМІСТ

ЕКОНОМІЧНІ НАУКИ

В.С. Шибанін, О.І. Котикова, Ю.А. Кормишкін.

Сільськогосподарські обслуговуючі кооперативи –
інструмент розвитку сільських територій3

О.В. Шибаніна, Р.В. Данильченко, Т.М. Борисова.

Удосконалення механізму експортно-імпортних операцій
аграрних підприємств Миколаївської області з країнами СНД12

О.М. Вишневська. Напрями і складові вдосконалення
методики оцінки зовнішнього середовища економічної системи.19

Н.М. Сіренко, Р.Є. Нікітіна. Сучасний стан садівництва та
логістика реалізаційної діяльності садівничих підприємств
Миколаївської області.....29

В.П. Ключан, Н.І. Костаневич, А.Г. Костирко.

Оцінка існуючих моделей і застосування методу „ККК” для
діагностики банкрутства37

Г.М. Рябенко. Стан та перспективи розвитку регіонального
ринку агрострахування.....43

Т.І. Лункіна. державне фінансування соціального
розвитку населення в Україні.....49

В.М. Метелиця. Об'єкти бухгалтерської професії в аграрному
секторі.54

О.Ф. Кирилюк. Державне регулювання якості і безпечності
продукції птахівництва в умовах глобалізації продовольчих
ринків61

В.А. Ткачук. Розвиток соціальної інфраструктури сільських
територій України в контексті їх сталого розвитку.69

І.Ю. Кочетова. Трансформаційне підґрунтя успішного
функціонування підприємства на ринку.....81

Г.В. Токарчук. Інтегральний метод оцінки інноваційної
складової туристичного потенціалу регіону.88

М.С. Гордієнко. Зарубіжний досвід підтримки
розвитку сільськогосподарської обслуговуючої кооперації в
контексті регіонального економічного розвитку.....97

О.С. Тупчий. Методичні основи дослідження економічної ефективності виробництва продукції садівництва..... 106

СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКІ НАУКИ

С.Г. Чорний, О.В. Письменний, О.С. Левкова. Вивчення впливу мікродобрив (triamin radicular, granfol k та quicelum) на урожайність та якість капусти білокачанної..... 111

С.Г. Хаблак, Я.А. Абдуллаєва. Расовий склад вовчка (orobanche cumana wallr.) в посівах соняшнику в умовах північного Степу України. 116

Р.І. Беспалько, С.Ю. Хрищук. Стан використання ГІС для потреб сільського господарства..... 122

Л.В. Иванова-Ханина. Влияние гормонального состава питательной среды на интенсивность роста малины в культуре in vitro. 128

О.В. Видинієвська. Вплив технології No-till на вміст поживних елементів в чорноземі південному. 136

О.Л. Семенченко, А.С. Даніліна. Ефективність застосування біоглобіну на посівах буряка столового у повторній культурі на зрошенні дощуванням в умовах північного Степу України. 144

О.О. Гаврюшенко. Обґрунтування динаміки щільності складання моделей техноземів при сільськогосподарському освоєнні в умовах Нікопольського марганцеворудного басейну. 149

І.П. Сатановська. Оцінка моделей технологій вирощування кукурудзи на силос середньостиглого гібрида Моніка 350 МВ. .. 155

О.Т. Бусенко. Функція гіпофіза, наднирників і сім'яників у бичків за зниженого рівня згодовування молока. 162

А.В. Гуцол. Перетравність поживних речовин раціону і баланс азоту у свиней при згодовуванні ферментних препаратів..... 168

І.Ю. Горбатенко. Методи молекулярної біології в детекції та типуванні патогенних вірусів та бактерій 174

ТЕХНІЧНІ НАУКИ

В.С. Шобанін, Л.П. Шобаніна, В.Г. Богза. Розрахунок сталевих каркасів з універсальних елементів змінного перерізу з гнучкою стінкою 180

С.М. Анастасенко, В.А. Гайворонський. Аналіз параметрів системи сервоприводу модернізованої газорізальної машини....	186
Л.І. Бугрім, І.С. Білюк, О.С. Кириченко. Підвищення ефективності електропривода стенда для налагодження паливорегулюючої апаратури.....	193
І.С. Швець, В.Г. Жекул, С.Г. Поклонов, О.П. Смірнов, Ю.І. Мельхер, В.В. Литвинов, С.В. Конотоп, О.В. Хвоцан, Є.І. Залого. Електророзрядний спосіб відновлення продуктивності артезіанських свердловин	201

Наукове видання

Вісник аграрної науки Причорномор'я
Випуск 3(73) – 2013

Технічний редактор: *О.М. Кушнарьова.*
Комп'ютерна верстка: *М.Г. Алексєєв.*

Підписано до друку 29.10.2013. Формат 60 x 84 1/16.
Папір друк. Друк офсетний. Ум.друк.арк. 13,2.
Тираж 300 прим. Зам. № ____ . Ціна договірна.

Надруковано у видавничому відділі
Миколаївського національного аграрного університету
54020, м.Миколаїв, вул.Паризької комуни, 9

Свідоцтво суб'єкта видавничої справи ДК № 4490 від 20.02.2013 р.