УДК 634.71

ВПЛИВ СКЛАДУ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА НА РІСТ І РОЗВИТОК ОЖИНИ СОРТУ «ТОРНФРІ» В УМОВАХ IN VITRO

***О.К. Олімпієва**, студент, elenaolimp0211@gmail.com*

Науковий керівник – к.т.н., доцент Юлевич О.І.

Миколаївський національний аграрний університет

Розглянуто вплив6-бензиламінопурину у різних концентраціях на ріст і розвиток мікроживців ожини сорту «Торнфрі», а також вплив наявності індолілмасляної кислоти (ІМК) і концентрації сахарози у поживному середовищі на коренеутворення мікрокущиків ожини того ж сорту в умовах in vitro.

Ключові слова: ожина сорту «Торнфрі», мікропагони, мікрокущики, мікроклональне розмноження, поживне середовище, фітогормони, ризогенез, корені.

Постановка проблеми. Ожина – кущова рослина, належить до сімейства розоцвітих і поширена на території Америки, Англії, Скандинавії, Росії, України та інших країн з теплим кліматом. В Україні популярна ожина двох видів: ожина сиза і ожина кущова. Селекціонери знають більше 290 сортів ожини, найпоширеніші з них Агавам, Блек Сатін, Кіттатіні, Лаутон, Логанберрі, Ері, УілсонсЕрлі, Ізобільна, Техас, Смутстем, Бойсенберрі і Силван. Розмножується ожина насінням, живцями і кореневими відводками.

У багатьох країнах ожину вирощують у промислових масштабах, зрозуміло, що в першу чергу з харчовою метою. Ожина також використовується у виготовленні косметики і парфумерії. Лідером з вирощування цієї культури є Північна Америка – понад 65 тис. тонн, з яких у США – 35 тис. тонн. Тут діють селекційні програми, які удосконалюють вже існуючі та створюють нові сорти ожини. Європа вирощує 47 тис. тонн ожини, у тому числі Сербія – 27,5 тис. тонн, Угорщина – 13 тис. тонн. Значний обсяг цієї ягоди виробляють в Англії, Румунії, Польщі, Німеччині і Хорватії. В Україні ожина менш поширена у садівництві, проте за останні роки спостерігається

позитивна тенденція зацікавленості цією культурою, як садівниками-аматорами, так і приватними підприємцями [1].

Протягом останніх років зі сторони виробників продукції садівництва і перероблюючих підприємств спостерігається високий інтерес до сорту ожини «Торнфрі» (англ. «без колючок») з високою якістю ягід і технологічної зручності рослини [2]. Для одержання максимальної кількості садибного матеріалу доцільним є використання методу мікроклонального розмноження в умовах invitro через ряд очевидних переваг: високий коефіцієнт розмноження (10^5-10^6 мериклонів за рік); скорочення площ у закритому грунті, що зайняті під маточними рослинами і рослинами, що розмножуються; можливість цілорічної роботи в лабораторії і планування випуску продукції в необхідний строк; можливість отримувати вегетативне потомство рослин, що погано або зовсім не розмножуються вегетативно; отримання рослин без патогенів; можливість депонування рослин при низьких позитивних температурах або кріозбереження.

Найбільш наочним прикладом реалізації потенціалу рослин до розмноження може служити мікроклональне розмноження. Даний прийом широко використовується для розмноження ряду плодових, ягідних, декоративних та інших культур [3,4].

Процес мікроклонального розмноження in vitro включає наступні основні етапи: ізолювання експланту і введення його в культуру; мікророзмноження; укорінення мікропагонів; адаптацію мікророслин до умов in vivo.

Успіх всієї роботи багато в чому залежить від першого етапу, тобто правильного вибору вихідної рослини-донора, відбору експлантів, а також підбору і оптимізації складу живильного середовища, що забезпечує найкращий ріст і розвиток експлантів [5].

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Дослідження залежності мікророзмноження і укорінення мікропагонів ожини від концентрацій гормонів та інших компонентів поживного середовища проводилися різними авторами [2, 3, 5, 6]. Так, у дослідженнях Решетової А. С. [5] вивчався вплив

концентрацій 6-БАП на розмноження ожини «Торнфрі» і були одержані наступні результати: на середовищі з концентрацією цитокініна 0,5 мг/л коефіцієнт розмноження мікропагонів з експланту складав 4,46±1,40, а при концентрації 6-БАП 5,0 мг/л – 15,04±0,34, однак мікропагони були слабко розвинуті, малих розмірів за неможливості їх відокремлення один від одного. А у роботі AbdAlla M.M. і Mostafa R.A.A. дослідження були спрямованіі на розмноження, і на укорінення ожини. За результатами своїх досліджень, вони зробили висновок, що на етапі власне мікророзмноження в поживне середовище слід додавати 2мг/л 6-БАП. Дослід по укоріненню проводився на поживних середовищах з різними концентраціями індолілмасляної і нафтилоцтової (НОК) кислот. Було встановлено, що найкращим середовищем для укорінення мікропагонів є середовище з 0,5 мг/л НОК + 2,0 мг/л ІМК (β-індоліл-3-масляна кислота) [6]. У роботах зазначених вчених основою для середовищ було середовище Мурасиге і Скуга (MS).

Постановка завдання. Оскільки кожен вид і навіть сорт рослин висуває свої специфічні вимоги до умов культивування, метою роботи було вивчення особливостей розвитку рослин ожини сорту Торнфрі на середовищі Гамборга з різними концентраціями цитокініну6-бензиламінопурину (6-БАП) і ІМК, а також процес укорінення мікрокущиків, одержаних в результаті мікророзмноження. А саме, дослідження впливу концентрацій біологічно активних речовин у поживних середовищах для укорінення.

Матеріали і методика. Об’єктом дослідження була ожина сорту «Торнфрі». Листя складне, з 3-7 пальчасторозміщених листочків. Плоди чорні, зрощенні з квітколожем і відділяються разом з його верхньою частиною [8].

Результати досліджень. Розмноження проводилося з урахуванням досвіду Ташматової Л.В. [7], Висоцького А.В. [3], Решетової А.С. зі співавторами [5].

Для першого досліду (впливу концентрації 6-бензиламінопурину) латеральні бруньки поверхнево були простерилізовані у 0,1% розчині сулеми протягом 3-ох хвилин, потім тричі промиті дистильованою водою. В якості

первинних експлантів були використані меристеми розміром 0,8-1,0 мм. З 130-ти введених експлантів-меристем неінфікованими і життєздатними виявилися 120 шт., що свідчить про достатню ефективність проведеної стерилізації вихідного матеріалу.

Виділені меристеми культивувалися на середовищі Гамборга [9], з додаванням цитокініну 6-бензиламінопурину (6-БАП) в концентрації від 0,5 до 10,0 мкМ. Пасаж тривав 25 діб. Фотоперіод за культивування складав 16/8 годин світло/темрява при 25ºС. Наприкінці пасажу здійснювалась оцінка показників росту і розвитку мікропагонів ожини (табл. 1)

Таблиця 1

Вплив концентрації цитокініна 6-БАП на показники розвитку ожини в умовах культивування in vitro (n=10)

Показники	Концентрація 6-БАП, мкМ					
	0,5	1,0	2,0	2,5	5,0	10,0
Кількість бруньок, шт.	1,8 ±0,2	5 ±0,8	8,3±0,5	9,7±0,8	11,3±1,1	15,5±1,4
Висота мікропагонів, мм	2,2±0,11	1,5±0,51	0,7±0,52	0,5±0,28	0,3±0,05	0,2±0,07
Калус,+/-	-	-	-	-	+	+

Як свідчать отримані дані збільшення концентрації 6-БАП у середовищі призводить до росту більшої кількості регенерованих бруньок, однак через явище апікального домінування вони не розвиваються. Слід зауважити, що при відносно високих концентраціях цитокініна спостерігався калусогенез на базальній частині експлантів.

На рисунку 1 наведено вплив концентрації 6-БАП на мікророзмноження ожини «Торнфрі». Пагони, що розвинулися на середовищі з 0,5 мкМ 6-БАП, використовувалися на етапі укорінення, у зв’язку з найкращими результатами у першому досліді як за кількістю бруньок, так і за висотою мікропагонів.

Рис.1. **Вирощування ожини сорту «Торнфрі» на середовищі Гамборга з 6-БАП у концентрації 1,0 мкМ**

Для другого досліду (вплив наявності індолілмасляної кислоти на укорінення) було відібрано 75 мікрокущиків, по 25 для укорінення на наступних середовищах: середовище, запатентоване Упадишевим і Висоцьким [9], безгормональні поживні середовища з концентрацією сахарози 20г/л і 25 г/л, ідентичні за своїм складом середовищу Упадишева й Висоцького за іншими компонентами. У досліді використовувалися мікропагони з першого досліду, що вирощені на середовищі з 0,5 мкМ 6-БАП. До укорінення допускалися рослини вільні від уражень грибковими і бактеріальними інфекціями. Кількість мікропагонів у кущиках – 10-15шт., листя зелене, довжина листя коливається від 3 мм до 12 мм, ширина – 1-9 мм.

Пасаж тривав 30 діб. Фотоперіод за культивування складав 16/8 годин світло/темрява при 25°С. На рис. 2 та 3 наведено результати культивування ожини на різних середовищах для укорінення.

Рис. 2. **Ризогенез ожини на середовищі Упадишева-Висоцького на 15 день культивування**

Рис. 3. **Корені ожини «Торнфрі» на безгормональному середовищі із концентрацією сахарози 20г/л на 30 день культивування**

Результати, що були отримані при культивуванні зразків ожини на різних середовищах наведено у таблиці 2.

Таблиця 2

Вплив середовищ різного складу на коренеутворення ожини сорту «Торнфрі»

Показники	Середовище		
	Упадишева-Висоцького	Безгормональне з концентрацією сахарози 20 г/л	Безгормональне з концентрацією сахарози 25 г/л
Наявність коренів, %	76	100	100
Середня кількість коренів, шт.	5,6±0,6	8,7±1,1	8,5±0,8
Середня довжина коренів, мм	34,7±0,9	41,3±1,4	52,4±1,1
Утворення калусу, %	24	0	0

За даними таблиці 2 видно, що середовище Упадишева-Висоцького, відмінною рисою якого є наявність ІМК у концентрації 0,9-1,1 мг/л. і 0,5-1 мг/л галової кислоти, запропоноване для укорінення пагонів ожини, у 24% випадків викликає утворення калусу, на середовищах без гормонів калус не утворювався.

Відсутність гормонів чинить сприятливий вплив на ризогенез, про що свідчить 100 відсоткова наявність коренів. Довжина коренів у зразках,

отриманих на безгормональних середовищах, на 55% більша порівняно з пагонами, що культивувалися на середовищі Упадишева-Висоцького.

Варто зазначити, що кількість коренів у пагонів, вирощених на безгормональному середовищі з концентрацією сахарози 20 г/л дещо більша, але їх довжина значно менша за довжину коренів зразків, що отримані на середовищі з 25г/л сахарози.

Таким чином показано, що безгормональне середовище з концентрацією сахарози 25 г/л, ідентичне за концентрацією інших компонентів середовищу Упадишева й Висоцького, є найсприятливішим для укорінення ожини сорту «Торнфрі».

Висновки і перспективи подальших досліджень. Вивчена регенераційна здатність бічних бруньок ожини сорту «Торнфрі» й встановлено доцільність використання невисоких концентрацій цитокініну 6-БАП (0,5-1,0 мкМ).

Досліджена коренеутворювальна здатність ожини сорту «Торнфрі» й проведена порівнювальна робота з укорінення мікрокущиків на середовищі Упадишева й Висоцького, безгормональних середовищах з концентрацією сахарози 20 і 25 г/л. Встановлено доцільність використання безгормональних середовищ для ризогенезу мікрокущиків ожини зазначеного сорту.

Для укорінення отриманих мікрокущиківу у поживне середовище необхідно додавати сахарозу у концентрації 25г/л, що сприятиме утворенню довших і міцніших коренів.

Список використаних джерел

1. Питательная среда [Електронний ресурс] – Електрон. текст. дані. – Режим доступу: https://ru.wikipedia.org/wiki/Питательная_среда
2. Сердюк О. В. Подбор сортимента и совершенствование технологии возделывания ежевики (Rubussubg. EubatusFocke) в Лесостепи Украины / О. В. Сердюк, В. О. Силенко. // Современное садоводство – 2010. – №1. – С. 29-30.

3. Высоцкий В. А. Микроразмножение здорового посадочного материала ягодных культур / В. А. Высоцкий, З. Т. Тарашвили // Садоводство. – 1982. – №2. – С. 34-36.
4. Упадышев, М. Т. Клональное микроразмножение ежевики и малины черной /М. Т. Упадышев, В. А. Высоцкий // Новое в ягодоводстве Нечерноземья. – Сб. науч тр. – М. : НИЗИСНП, 1990. – С. 57-65.
5. Решетова А. С. Введение в культуру ежевики (Rubuscaesius L. subsp. eubatusFocke, Rosaceae) сорта «Торнфри» / А. С. Решетова., С. Н. Тимофеева, А. С. Кашин // Бюллетень ботанического сада Саратовского государственного университета. – 2012. – Т. 10, № 1. – С. 131.
6. AbdAlla, M.M. In Vitro Propagation of Blackberry (Rubusfruticosus L.) / M. M. AbdAlla, R. A. A. Mostafa. // Assiut J. Agric. Sci. – 2015. – № 3(46). – P. 88-99.
7. Ташматова Л. В. Особенности клонального микроразмножения ежевики с различной формой роста / Л. В. Ташматова, Л. А. Грюнер, О. В. Мацнева // Современное садоводство. Электронный журнал. – 2014. – №4. – С. 60-63.
8. Маевский П.Ф. Флора средней полосы европейской части России. 11-е изд. / П. Ф. Маевский. – М. : Товарищество научных изданий КМК, 2014. – 635 с.
9. Gamborg O. L. Nutrient requirement of suspension culcultures of soybean root cells / O. L. Gamborg, R. A. Miller, K. Ojima // Exp. CellRes. – 1968. – № 50. – P. 598-600.
10. Питательная середа для укоренения побегов ежевики [Електронний ресурс] – Електрон. текст. дані. – Режим доступу: http://patents.su/4-1706481-pitatelnaya-sreda-dlya-ukoreneniya-pobegov-ezheviki.html. – Назва з екрану.