

УДК 581.133.8.001.73:58.085:633.85

МОДИФІКАЦІЯ ЖИВИЛЬНИХ СЕРЕДОВИЩ ДЛЯ ІНДУКУВАННЯ КАЛЮСОГЕНЕЗУ *IN VITRO* РИЖІЮ ЯРОГО

І. О. ЛЮБЧЕНКО, аспірант*

А. І. ЛЮБЧЕНКО, кандидат сільськогосподарських наук, доцент

Л. О. РЯБОВОЛ, доктор сільськогосподарських наук, професор

Уманський національний університет садівництва

E-mail: Lybchenko@meta.ua

Анотація. Рижій ярий є перспективною сільськогосподарською культурою різнобічного використання. Важливе значення для збільшення об'ємів виробництва культури має впровадження нових високопродуктивних сортів. Використання біотехнологічних методів дає змогу значно скоротити тривалість селекційного процесу та підвищити ефективність створення нових форм рослин з бажаними господарсько-цінними ознаками. Одним із перших етапів досліджень *in vitro* є отримання у достатній кількості калюсної біомаси з високими морфогенними показниками, як основного вихідного матеріалу для створення нових генотипів. На процес калюсогенезу впливає низка чинників, зокрема склад живильного середовища та його модифікація регуляторами росту.

У статті наведено результати досліджень з вивчення впливу складу живильного середовища, концентрації і співвідношення в ньому регуляторів росту на інтенсивність калюсогенезу рижію ярого в умовах *in vitro*. В якості експлантів використовували сегменти проростків сорту Степовий 1. Живильні середовища за прописами Мурасіге-Скуга, Шенка-Хильдебранта та Гамборга модифікували регуляторами росту ауксинової (2,4-дихлорфеноксоцтова кислота) та цитокінінової (6-бензиламінопурин) природи в концентраціях 0,1; 0,5; 1,0; 1,5 мг/л.

Встановлено, що найінтенсивніше проліферація калюсної тканини з високими морфогенними показниками проходить на живильному середовищі Мурасіге-Скуга за модифікації 0,1 мг/л 2,4-Д і 1,0 мг/л 6-БАП. Найвпливовішим чинником індукції калюсогенезу рижію ярого визначено концентрацію в культуральному субстраті ауксину.

Ключові слова: рижій ярий, регулятори росту рослин, калюсогенез, *in vitro*

Актуальність. Завдяки короткому періоду вегетації, стійкості до хвороб та шкідників, невибагливості до умов вирощування виробництво рижію ярого з

* Науковий керівник — доктор сільськогосподарських наук Л. О.Рябовол

високими показниками економічної ефективності можливе у різних ґрунтово-кліматичних умовах [1, 2]. Насіння рижію містить до 45 % олії з високим вмістом олеїнової (до 16 %), лінолевої (до 20 %), ліноленової (до 35 %) жирних кислот та низьким вмістом ерукової кислоти (1,6–2,2 %), що робить її придатною для використання в харчуванні. Олія рижію має лікувальні та дієтичні властивості [3]. Вона головним чином використовується на технічні цілі, і є цінною сировиною для виробництва біодизелю, пластмас, лаків, фарби, мила тощо [1, 2]. Завдяки високому вмісту енергії у насінні, олії та соломі (відповідно 26,4, 38,2 та 17,7 Дж/г), рижій ярий може використовуватись як високопродуктивна енергетична культура [4].

Незважаючи на цінність рижію ярого об'єми виробництва його у нашій країні залишаються незначними. Однією із причин є незадовільна селекційна робота та брак конкурентно-спроможних сортів. Залучення до селекційного процесу біотехнологічної ланки дає змогу суттєво інтенсифікувати та пришвидшити створення рослинних форм з бажаними господарсько-цінними ознаками.

Аналіз основних досліджень та публікацій. Культура *in vitro* дає можливість працювати протягом року незалежно від погодних умов, повністю контролювати фізичні та трофічні параметри вирощування біоматеріалу, моделювати будь-яку селективну систему та регулювати силу стресового чинника, проводити добір на клітинному рівні, тощо. Цього важко досягти при роботі з рослинами в нативних умовах [5].

Першим етапом за проведення біотехнологічних досліджень є створення первинної культури. Одним з основних типів рослинних біоматеріалів, які застосовуються в дослідженнях *in vitro*, є калюсна тканина. Калюс використовують безпосередньо в роботі або як вихідний матеріал для створення інших об'єктів: ізольованих протопластів, суспензійної культури тощо [5, 6].

У процесі дедиференціації клітин виникає соматоклональна мінливість, яка є джерелом генетичного різноманіття калюсних тканин та отриманих з них

рослин-регенерантів. При цьому спостерігають зміну кількості та морфології хромосом, точкові мутації, транспозиції генетичних елементів, ампліфікацію генів, зміну експресії в мультигенних локусах та перегрупування цитоплазматичних геномів, соматичний кросинговер тощо. Природа виникнення соматональної мінливості пояснюється двома основними причинами: генетична гетерогенність соматичних клітин експланта вихідної рослини та генетична і епігенетична мінливість, що індукується умовами культивування [6–10].

Внаслідок мінливості *in vitro* в рослинах виникають морфологічні, фізіологічні та біохімічні зміни, що можуть мати як позитивні, так і негативні наслідки. У багатьох сільськогосподарських культур виділено соматональні варіації, що характеризуються високою продуктивністю, якістю продукції та стійкістю до несприятливих чинників довкілля [5, 10].

З наукових джерел відомо, що на процес калюсогенезу впливають багато факторів, зокрема склад живильного середовища та модифікація його регуляторами росту. Для більшості біовидів обов'язковою умовою для індукції калюсогенезу *in vitro* є присутність регуляторів росту ауксинової та цитокінінової природи. Ауксини викликають процес дедиференції клітин, підготовлюючи їх до поділу, а цитокініни — проліферацію дедиференційованих клітин [6].

Склад живильного середовища, концентрація та співвідношення регуляторів росту підбирають експериментальним шляхом для кожного біовиду [10–15]. Для рижію ярого дане питання залишається маловивченим, що і спонукало нас до проведення досліджень у цьому напрямку.

Мета досліджень — підбір оптимального складу живильного середовища та його модифікацій для індукування калюсогенезу *in vitro* рижію ярого.

Матеріали та методика досліджень. Дослідження проводились у біотехнологічній лабораторії Уманського національного університету садівництва. В якості експлантів використовували сегменти проростків рижію ярого сорту Степовий 1. Живильні середовища за прописами Мурасіге-Скуга, Шенка-

Хильдебранта та Гамборга модифікували регуляторами росту ауксинової (2,4-дихлорфеноксиоцтова кислота) та цитокінінової (6-бензиламінопурин) природи в концентраціях 0,1; 0,5; 1,0; 1,5 мг/л.

Культивування біоматеріалу проводили за інтенсивності освітлення 4 кЛк, 16-годинному фотоперіоді, температурному режимі 20–24 °С, відносній вологості повітря 75 %. Тривалість між пасажного періоду становила 25–30 діб.

Ефективність кожного варіанту середовища оцінювали за активністю проліферації (відсоток експлантів на яких спостерігали калюсогенез) та морфогенними показниками калюсних тканин. Морфогенними вважали мікрокалюси жовтого або світло-жовтого кольору з зеленими осередками, цілком структуровані без розпушених водянистих ділянок.

У кожному варіанті досліджень висаджували 50 експлантів. Повторність досліду триразова.

Результати досліджень та їх обговорення. У процесі досліджень встановлено залежність калюсогенезу експлантів рижію ярого від основного складу живильного середовища. Найінтенсивніше індукування калюсної маси отримано на модифікованому живильному середовищі Мурасіге-Скуга. В середньому на цьому субстраті у 25,3 % висаджених експлантів відмічено проліферацію калюсної тканини. За оптимальною модифікацією регуляторами росту вказаного середовища показник калюсогенезу склав 76,6 % (табл.). За використання культуральних субстратів за прописами Шенка-Хильдебранта і Гамборга у середньому інтенсивність індукування калюсогенезу становила 18,8 та 17,5 %, максимальне значення — 55,9 та 42,2 % відповідно. Показано вплив вмісту в живильному середовищі регуляторів росту на показники проліферації калюсної маси рижію ярого. На безгормональних середовищах не відмічено ініціації калюсних тканин. Найінтенсивніше калюсогенез рижію ярого проходив за введення до живильного субстрату 0,1 мг/л 2,4-Д і 1,0 мг/л 6-БАП. На середовищі Мурасіге-Скуга частка експлантів з дедиференціацією та проліферацією калюсних тканини становила 76,6 %. За використання середовищ за прописом Шенка-Хильдебранта і Гамборга вказаний показник складав 55,9 та

52,1 % відповідно. Підвищення концентрації 2,4-дихлорфеноксиоцтової кислоти викликало пригнічення тканин експлантів рижію ярого і суттєво знижувало інтенсивність калюсогенезу. Проте, у варіанті за концентрації у культуральному субстраті 1,0 мг/л ауксинів та 1,0 мг/л цитокинінів зафіксовано підвищення інтенсивності калюсогенезу до 31,8—46,7 %.

Вплив модифікації живильного середовища на інтенсивність калюсогенезу рижію ярого, %

Концентрація регуляторів росту, мг/л		Базове живильне середовище (фактор А)					
2,4-Д (фактор В)	6-БАП (фактор С)	Мурасіге-Скуга		Шенка-Хильдебранта		Гамборга	
		калюс	морфогенний калюс	калюс	морфогенний калюс	калюс	морфогенний калюс
0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	0,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	1,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	1,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,1	0,0	23,4±4,1	21,2±3,2	17,1±1,8	14,2±1,7	15,9±2,0	12,8±0,4
	0,1	53,3±7,4	51,8±9,4	38,9±4,4	24,3±3,4	36,2±3,8	20,2±3,1
	0,5	60,7±8,0	59,2±5,5	44,3±2,9	32,4±2,9	41,3±5,0	30,4±3,9
	1,0	76,6±2,2	73,4±8,9	55,9±4,2	46,2±5,5	52,1±4,4	42,4±1,4
	1,5	60,2±5,5	58,7±5,9	43,9±3,9	30,3±2,7	40,9±4,4	30,1±2,6
0,5	0,0	33,3±3,2	17,2±2,3	24,3±4,4	13,3±1,5	22,6±2,4	10,2±2,2
	0,1	27,3±4,5	20,4±4,1	19,9±2,2	15,2±1,1	18,6±1,3	13,4±1,5
	0,5	23,3±3,3	18,4±2,9	17,0±0,5	12,3±0,9	15,8±3,2	12,3±2,2
	1,0	26,8±4,0	20,3±4,1	19,6±0,5	13,4±0,9	18,2±1,0	11,3±1,0
	1,5	26,7±3,2	21,8±4,7	19,5±1,3	14,2±1,7	18,2±2,8	12,6±1,3
1,0	0,0	13,3±1,4	8,2±1,2	9,7±0,7	3,2±0,3	9,0±0,2	2,4±0,2
	0,1	23,3±3,0	8,6±1,3	17,0±2,2	5,8±0,6	15,8±2,6	3,8±0,5
	0,5	33,3±3,3	8,4±0,8	24,3±3,2	5,6±0,5	22,6±0,8	3,4±0,2
	1,0	46,7±7,1	8,9±1,6	34,1±3,7	5,3±0,4	31,8±3,9	3,8±0,2
	1,5	30,0±3,8	8,7±1,2	21,9±2,8	4,8±0,4	20,4±1,7	3,8±0,5
1,5	0,0	13,3±2,0	2,3±0,3	14,3±0,6	1,8±0,2	12,6±5,0	1,5±0,2
	0,1	14,2±2,8	2,5±0,2	10,4±1,2	1,8±0,2	9,7±0,9	1,5±0,3
	0,5	15,8±2,4	2,4±0,2	11,5±1,1	2,2±0,2	10,7±0,0	2,0±0,2
	1,0	10,8±0,3	2,8±0,3	7,9±0,8	2,5±0,3	7,3±0,6	2,1±0,3
	1,5	10,9±2,0	2,1±0,2	8,0±0,5	1,9±0,2	7,4±0,3	1,8±0,0

НІР₀₅ факторів: А — 0,49; В — 0,63; С — 0,55; взаємодії факторів: АВ — 1,09; АС — 0,95; ВС — 1,34; АВС — 2,42

Однією з головних характеристик, які вказують на придатність калюсів для

використання як вихідного матеріалу у подальших біотехнологічних дослідженнях, є їхні морфогенні показники. Найвищий показник індукції морфогенних калюсів відзначено за модифікації живильного середовища невисокими (0,1 %) концентраціями ауксинів і підвищеними (1,0 %) цитокінінів. За вказаного співвідношення регуляторів росту 73,4 % експлантів рижію ярого висаджених на середовище Мурасіге-Скуга формували морфогенну калюсну тканину, за використання середовищ Шенка-Хильдебранта і Гамборга — 46,2 і 42,4 % відповідно. Калюси були середньо обводнені, білого або світло-зеленого забарвлення, мали напівцільну консистенцію з великою кількістю морфогенно активних осередків.

Підвищення концентрації 2,4-Д у субстраті пригнічувало індукцію отримання морфогенного калюсу. Утворені мікрокалюси мали біле забарвлення, розпушену або обводнену структуру та низький регенераційний потенціал.

Порівняльний аналіз впливу досліджуваних чинників (склад живильного середовища, концентрація 2,4-дихлорфеноксиоцтової кислоти та 6-бензилоамінопурину) на показники проліферації калюсної тканини рижію ярого визначив їх частку дії (рисунок).

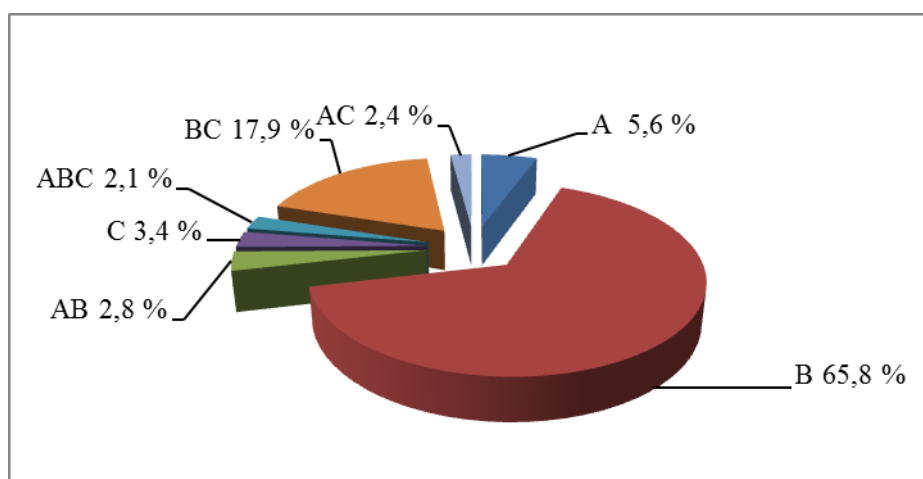


Рис. Частка впливу досліджуваних чинників на індукцію калюсогенезу рижію ярого фактор А — склад базового живильного середовища; фактор В — концентрація 2,4-Д; фактор С — концентрація 6-БАП; АВ, АС, ВС, АВС — взаємодія факторів.

На основі трьохфакторного дисперсійного аналізу було встановлено, що на

індукцію калюсогенезу істотно впливали вміст та співвідношення регуляторів росту в живильному середовищі. Частка впливу концентрації 2,4-Д на процес проліферації була найвищою і становила 65,8 %, взаємодія факторів В і С (концентрація ауксинів та цитокінінів) мала менший вплив у порівнянні з попереднім чинником і становила 17,9 %. Частка впливу складу живильного середовища склала всього 5,6 %.

Висновки та перспективи подальших досліджень. У процесі досліджень розроблено модифіковане живильне середовище для індукції калюсогенезу рижію ярого. Встановлено, що найінтенсивніше проліферація калюсної тканини рижію ярого проходить на живильному середовищі Мурасіге-Скуга за модифікації 0,1 мг/л 2,4-Д і 1,0 мг/л 6-БАП. Найвпливовішим чинником індукції калюсогенезу визначено концентрацію в культуральному субстраті ауксину.

Список використаних джерел

1. Комарова І. Б., Рожкован В. В. Рижій — альтернативна олійна культура та перспективи його використання. *Пропозиція*. 2003. № 1. С. 46–47.
2. Москва І. С. Стан та перспективи вирощування рижію ярого на півдні Степу України. *Вісник аграрної науки Причорномор'я*. 2016. Вип. № 1. С. 99–109.
3. Лях В. О., Комарова І. Б. Вміст та жирнокислотний склад олії рижію ярого. *Бюлетень Інституту зернового господарства*. 2010. № 38. С. 137–142.
4. 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.
5. Растение как объект биотехнологии / А. В. Бабилова и др. *Комаровские чтения*. 2007. Вип. LV. С. 184–211.
6. Кунах В. А. Біотехнологія лікарських рослин. Генетичні та фізіолого-біохімічні основи. Київ: Логос, 2005. 730 с.
7. Чеченева Т. Н. Изменчивость злаков в культуре *in vitro* и в процессе регенерации растений. *Физиология и биохимия культурных растений*. 2006. Т. 38. № 2. С. 163–175.
8. Константинов Ю. М., Ривкин М. И. Возможный свободнорадикальный механизм возникновения соматональной изменчивости растений. *Молекулярные механизмы генетических процессов: сборник докладов Всесоюзного симпозиума*. Москва: Наука, 1991. С. 166–185.

9. Эпигенетическая изменчивость у растений: наследуемость, адаптивность, эволюционное значение / В. В. Ашапкин и др. *Физиология растений*. 2016. Т. 63. № 2. С. 191–204.
10. Larkin P. G., Scorcoft W. R. Somaklonal variation — source of variability from cell cultures for improvement. *Theoretical and Applied Genetics*. 1981. № 4. P. 197–214.
11. Индукция каллуса и регенерация растений из зрелых зародышей подсолнечника / И. И. Озигит и др. *Физиология растений*. 2006. Т. 53. № 4. С. 621–624.
12. Получение каллусной культуры донника лекарственного (*Melilotus officinalis* L.) и ее цитоморфологические особенности / Л. М Теплицкая и др. *Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского*. 2011. Т. 24 (63). № 2. С. 284–290.
13. Константинов А. В. Влияние состава гормонов в среде прекультивирования на регенерацию в каллусных культурах березы повислой (*Betula pendula* Roth.). *Modern Phytomorphology*. 2013. № 4. С. 241–244.
14. Сельдимирова О. А., Круглова Н. Н. Баланс эндогенных и экзогенных гормонов и пути морфогенеза в андроклинных каллусах пшеницы *in vitro*. *Известия Уфимского НЦ РАН*. 2015. № 1. С. 33–39.
15. Коломієць Ю. В. Клональне мікророзмноження цукрових буряків *in vitro*: можливості для розмноження і збереження біологічного різноманіття. *Наукові доповіді НАУ*. 2008. № 1 (9). URL: <http://www.nbu.gov.ua/e-Journals/nd/2008-1/08kjvobv.pdf> (дата звернення 26.11.2017).

Reference

1. Komarova, I. B., Rozhkovan, V. V. (2003). Ryzhij — al'ternatyvna olijna kul'tura ta perspektyvy joho vykorystannia [Camelina is an alternative oil-bearing culture and prospects of her development]. *Proposycia*. 1, 3–12.
2. Moskva, I. S. (2016). Stan ta perspektyvy vyroschuvannia ryzhiu iaroho na pivdni Stepu Ukrainy [The state and prospects of growing camelina in the south of the Ukrainian steppe]. *Bulletin of the agrarian science of the black sea region*. 1, 99–109.
3. Liakh, V. O., Komarova, I. B. (2010). Vmist ta zhyrnokyslotnyj sklad olii ryzhiu iaroho [The content and fatty acid composition of camelina oil]. *Bulletin of the Institute of grain farming*. 38, 137–142.
4. Kalens'ka, S. M., Yunyk, A. V. (2011). Rol' olijnykh kul'tur u vyrishenni enerhetychnoi bezpeky Ukrainy [Oilseeds role in addressing the energy security of Ukraine]. *Collection of scientific works of the Institute of bioenergetic plants and sugar beet*. 2, 90–96.
5. Babikova, A. V., Gorpenchenko, T. Ju., Zhuravlev, Ju. N. (2007). Rastenie kak ob'ekt biotekhnologii [Plants as object biotechnology]. *Komarovskie readings*. LV, 184–211.

6. Kunakh, V. A. (2005) Biotekhnolohiia likars'kykh roslyn. Henetychni ta fiziolooho-biokhimichni osnovy [Biotechnology of medicinal plants. Genetic and physiological and biochemical basis]. Logos, 730.
7. Checheneva, T. N. (2006). Izmenchivost' zlakov v kul'ture *in vitro* i v processe regeneracii rastenij [Variability of cereals in culture *in vitro* and in the process of plant regeneration]. Physiology and biochemistry of cultivated plants. 38, 2, 163–175.
8. Konstantinov, Yu. M., Rivkin, M. I. (1991). Possible free-radical mechanism of occurrence of somaclonal plant variability [Vozmozhnyj svobodnoradikal'nyj mekhanizm vznickoveniya somaklonal'noj izmenchivosti rastenij]. Collected papers of the All-Union Symposium «Molecular mechanisms of genetic processes». 166–185.
9. Ashapkin, V. V., Kutuev, L. I., Vanyushin, B. F. (2016). Epigenetic variability in plants: heritability, adaptability, evolutionary significance [Ehpigeneticheskaya izmenchivost' u rastenij: nasleduemost', adaptivnost', ehvolyucionnoe znachenie]. Physiology of plants. 63, 2, 191–204.
10. Larkin, P. G. (1981). Somaklonal variation — source of variability from cell cultures for improvement. Theoretical and Applied Genetics. 4., 197–214.
11. Ozigit, I. I., Gozukirmizi, N., Ozigit, I. I., Semiz, B. D. (2006). Indukciya kallusa i regeneraciya rastenij iz zrelyh zarodyshej podsolnechnika [Induction of callus and plant regeneration from mature sunflower embryos]. Physiology of plants. 53, 4. 621–624.
12. Teplickaya, L. M., Yurkova, I. N., Sidiyakin, A. I., Zhupanov, I. V. (2011). Poluchenie kallusnoj kul'turi donnika lekarstvennogo (*Melilotus officinalis* L.) i ee citomorfologicheskie osobennosti [Obtaining of callus culture of the drug (*Melilotus officinalis* L.) and its cytomorphological features]. Uchenye zapiski Tavricheskogo National University im. V.I. Vernadskogo. 24 (63), 2. 284–290.
13. Konstantinov, A. V. (2013). Vliyanie sostava gormonov v srede prekul'tivirovaniya na regeneraciyu v kallusnyh kul'turah berezy povisloj (*Betula pendula* Roth.) [Influence of the composition of hormones in the precultivation medium on regeneration in callus cultures of birch (*Betula pendula* Roth.)]. Modern Phytomorphology. 4, 241–244.
14. Sel'dimirova, O. A., Kruglova, N. N. (2015). Balans ehndogennyh i ehkzogennyh gormonov i puti morfogeneza v androklinnyh kallusah pshenicy *in vitro* [Balance of endogenous and exogenous hormones and pathways of morphogenesis in androclinic callus of wheat *in vitro*]. Izvestiya Ufimskogo NC RAN. 1. 33–39.
15. Kolomiets', Yu. V. (2008). Klonal'ne mikrorozmnozhennia tsukrovyykh buriakiv *in vitro*: mozhlyvosti dlia rozmnozhennia i zberezhenia biologichnoho riznomanittia [Clonal micropropagation of sugar beets *in vitro*: opportunities for the reproduction and conservation of biological diversity]. Scientific reports of NAU. 1 (9). <http://www.nbuu.gov.ua/e-Journals/nd/2008-1/08kjvobv.pdf>

МОДИФИКАЦИЯ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД ДЛЯ ИНДУКЦИИ КАЛЛУСОГЕНЕЗА *IN VITRO* РЫЖИКА ЯРОГО

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

Аннотация. Рыжик ярый является перспективной сельскохозяйственной культурой разностороннего использования. Важное значение для увеличения объёмов производства этой культуры имеет внедрение новых высокопродуктивных сортов. Использование биотехнологических методов позволяет значительно сократить продолжительность селекционного процесса и повысить эффективность создания новых форм растений с желаемыми хозяйственноценными признаками. Одним из первых этапов исследований *in vitro* является получение в достаточном количестве каллусной биомассы с высокими морфогенными показателями, как основного исходного материала для создания новых генотипов. На процесс каллусогенеза влияют многие факторы, в том числе состав питательной среды и модификация ее регуляторами роста.

В статье изложены результаты исследований по изучению влияния состава питательной среды, концентрации и соотношения в ней регуляторов роста на интенсивность каллусогенеза рыжика ярого в условиях *in vitro*. В качестве эксплантов использовали сегменты проростков сорта Степной 1. Питательные среды Мурасиге-Скуга, Шенка-Хильдебранта и Гамборга модифицировали регуляторами роста ауксиновой (2,4-дихлорфеноксисукусная кислота) и цитокининовой (6-бензиламинопурин) природы в концентрациях 0,1; 0,5; 1,0; 1,5 мг/л.

Наиболее интенсивно пролиферация каллусной ткани с высокими морфогенными показателями проходит на питательной среде Мурасиге-Скуга при модификации 0,1 мг/л 2,4-Д и 1,0 мг/л 6-БАП. Наиболее влиятельным фактором индукции каллусогенеза рыжика ярого определена концентрация в культуральном субстрате ауксина.

Ключевые слова: рыжик ярый, регуляторы роста растений, каллусогенез, *in vitro*

MODIFICATION OF NUTRICULTURE MEDIUM FOR INDUCING CALLUSOGENESIS *IN VITRO* OF CAMELINA SATIVA

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

Abstract. *Camelina sativa* is a promising agricultural crop of multi-use. Introduction of new high-quality varieties is important to increase the volume of crop production. The use of biotechnological methods makes it possible to reduce significantly the duration of selection process and increase the efficiency of creating new plant forms with desirable economic and valuable features. One of the first stages of *in vitro* research is to obtain callus biomass in sufficient quantities with high morphogenic parameters as the main source material for the creation of new genotypes. A number of factors influence the process of callusogenesis.

The purpose of our research is to determine the optimal composition of nutriculture medium and its modifications to induce callusogenesis in vitro of camelina sativa.

The work was carried out in the biotechnological laboratory of Uman National University of Horticulture. Segments of camelina sativa seedlings of Stepovyi 1 variety were used as explants. Murashige and Skoog, Schenck and Hildebrant and Gamborg nutriculture media were modified with growth regulators of auxin (2,4-dichlorophenoxyacetic acid) and cytokinin (6-benzylaminopurine) at concentrations of 0.1; 0.5; 1.0; 1.5 mg/l.

The effectiveness of each variant of the nutriculture medium was evaluated by the activity of proliferation and morphogenic characteristics of callus tissues.

There is no initiation of callus tissues on the non hormonal media. The most intense callusogenesis of camelina sativa was carried out for introduction of 0.1 mg/l 2,4-D and 1.0 mg/l 6-BAP to the nutritional substrate. In Murashige and Skoog nutriculture medium, the proportion of explants with dedifferentiation and proliferation of callus tissues was 76.6 %. In Schenck and Hildebrant and Gamborg nutriculture media, the indicator was 27–45 % lower.

Calluses were average filled with water, white or light green, having loose or semi-solid consistency with a large number of morphogenically active cells.

The increase in the concentration of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid caused the inhibition of explant tissues of camelina sativa, significantly reduced the intensity of callusogenesis and morphogenetic characteristics of calluses.

On the basis of the dispersion analysis, it is found that 2,4-D concentration (65.8 %) and the ratio of growth regulators in the nutriculture substrate (17.9 %) had the greatest influence on the induction of callusogenesis. The share of influence of the nutriculture medium was only 5.6 %.

Consequently, during the research, the nutriculture medium was modified to obtain the callus tissue of camelina sativa with high morphogenic characteristics.

Key words: *camelina sativa, plant growth regulators, callusogenesis, in vitro.*