

Б.Ф. Кормільцев,
кандидат біологічних наук

Т.І. Козлик,
кандидат сільсько-
господарських наук

Н.П. Ратошнюк,
О.В. Черненко,
В.П. Левчук

Інститут сільського
господарства Полісся НААН

ВПЛИВ СКЛАДУ СЕРЕДОВИЩА НА РЕГЕНЕРАЦІЮ РІЗНИХ СОРТІВ ХМЕЛЮ У КУЛЬТУРІ *IN VITRO*

Наведено результати досліджень впливу складу середовища на регенерацію мікроживців хмелю у культурі *in vitro*. Найкраще регенерація експлантів сортів хмелю Кумир, Промінь, Альта спостерігалась на середовищі Мурасига і Скута, до якого додавали β-ІОК (β-індолілоцтова кислота) у концентрації 5 мг/л. Мікроживці сортів Слов'янка і Заграва краще розвивались на середовищі з індолілмасляною кислотою у концентрації 4 мг/л. Зменшення концентрації азоту у середовищі значно підвищувало відсоток регенерації мікроживців хмелю і сприяло більш швидкому утворенню коріння.

Ключові слова: хміль, мікроклональне розмноження, середовище, регенерація.

Успішний розвиток хмелярства на Україні певною мірою залежить від чистоти і якості садивного матеріалу. Збереження сортових якостей та забезпечення виробництва елітними саджанцями досягається на маточних плантаціях. Цінність хмелю дуже велика і його широко використовують у пивоварній, парфумерній, косметичній та харчовій промисловостях.

Важливим чинником підвищення ефективності виробництва при вирощуванні хмелю і забезпечення його високої продуктивності, є підбір перспективних сортів, оздоровлений садивний матеріал, дотримання технології вирощування та строків виконання всіх технологічних операцій. Використання під час садіння хмільників високоякісного, оздоровленого садивного матеріалу — один із найбільш доступних та економічно вигідних способів підвищення урожайності хмелю. Отримання якісного садивного матеріалу можливе лише за застосування мікроклонального розмноження в умовах *in vitro*, важливим етапом якого є оздоровлення садивного матеріалу від вірусних хвороб, які інтенсивно передаються за вегетативного розмноження рослин та призводять до зниження врожаїв і погіршення якості шишок хмелю [1, 5, 8, 9]. Успіх мікроклонального розмноження хмелю залежить від складу середовища та умов вирощування [4]. В ІСГП було розроблено біотехнологію оздоровлення і розмноження хмелю, яка дає змогу підвищити коефіцієнт розмноження у тисячу і більше разів [6]. Але у процесі виробничої перевірки було визначено, що процент регенерації деяких нових сортів хмелю у культурі

in vitro є меншим за 90 %, тоді як для традиційно розмножуваних сортів він становить від 92 до 100 %.

Мета досліджень — поглиблене вивчення морфогенного потенціалу нових сортів хмелю та розробка оптимальних, раціональних схем їх мікроклонального розмноження.

Методика досліджень. Дослідження по вивченню процесу впливу складу середовища на регенерацію різних сортів хмелю у культурі *in vitro* проводили протягом 2010–2011 рр. в лабораторії селекції, біотехнології та мікроклонального розсадництва хмелю Інституту сільського господарства Полісся НААН.

З метою мікроклонального розмноження нових сортів у селекційних розсадниках відбирали зразки за морфологічними сортовими ознаками. Відібрані рослини-донори пройшли перевірку в лабораторії біохімії хмелю і пива на відповідність сортових біохімічних характеристик. Відібраний від рослин-донорів розсадний матеріал (живці) сортів Кумир, Промінь, Слов'янка, Заграва, Альта висаджували у перліт і дорощували у культуральній кімнаті. Перед мікроклональним розмноженням проводили оздоровлення вихідного матеріалу. Одержані регенеранти проходили термотерапію [3, 7] та подальше укорінення в умовах *in vitro*.

Дорощування регенерантів проводили у світокультуральній кімнаті при температурі повітря 22–26°C, вологості 65–75 %, освітленні 2,5 кілолюкс і світловому періоді 16 год. При утворенні на регенерантах чотирьох–п'яти пар листків проводили вибраковку хворих рослин. Бактеріальні та грибові ураження добре виявляються вже через тиждень

після висадки на поживні середовища. Після перевірки на наявність хвороб, рослини передавали для мікроклонального розмноження. Розмноження проводилось у боксах за стерильних умов. Мікроживці висаджувались на поживне середовище Мурасіге і Скуга за прописом Каланіна [2], концентрація і склад фітогормонів визначались у процесі дослідження. Після того, як регенеранти утворювали 5–6 вузлів їх знову живцювали і процес регенерації повторювався.

Схема дослідів включала в себе варіанти середовищ: стандартне — контроль та середовища зі змінним вмістом ауксинів, кінетину та макроелементів. Вивчали вплив зміни складу середовища на регенерацію сортів хмелю: Кумир, Промінь, Слов'янка, Заграва, Альта.

Під час вивчення питань впливу складу середовища на регенерацію різних сортів хмелю у культурі *in vitro* використовували загальноприйняті методики, які затверджені в Інституті сільського господарства Полісся, а також діючі нормативні документи, ДСТУ.

Результати досліджень та їх обговорення. З метою підвищення ефективності методу мікроклонального розмноження нових сортів, введених у культуру *in vitro*, проводили модифікацію поживних середовищ. Регенерація мікроживців хмелю залежить більшою мірою від фітогормонального складу середовищ. Метод, розроблений дослідниками лабораторії, передбачає використання в якості стимулятора різогенезу β -індолілоцтову кислоту (ІОК) у концентрації 10 мг/л. Значна кількість досліджуваних нами сортів добре розвивається на такому середовищі. Але деякі нові сорти на даному середовищі регенерують повільно і утворюють малу кількість коренів та укорочене міжвузля.

Нами досліджувався вплив різних ауксинів на регенерацію мікроживців сортів Промінь,

Заграва, Альта, Слов'янка, Кумир. Як видно з отриманих результатів регенерація експлантів, майже усіх досліджених сортів, на середовищах з нафтілоцтовою кислотою (НОК) проходила більш повільно, ніж на середовищах з ІОК і мала нижчий процент приживлення (табл. 1). Зазвичай експланти, які вирощувались на середовищах з НОК, утворювали вдвічі менше корінців ніж на середовищах з ІОК. Ріст їх пагонів гальмувався, внаслідок чого стебла мали укорочене міжвузля.

Різогенез у мікроживців сортів Заграва, Промінь та Кумир краще проходив на середовищах з концентрацією β -ІОК 5 мг/л, ніж на середовищах до яких додавали β -ІОК у концентрації 10 мг/л (табл. 2). Експланти сорту Альта регенерували на середовищах з різним вмістом ауксинів майже однаково, але найкращі показники регенерації мікроживців цього сорту було відмічено на середовищі з ІОК у концентрації 5,0 мг/л. Маса кореневої системи мікроживців, які були висаджені на це середовище, була вищою за масу корінців у регенерантів, які росли на інших поживних середовищах.

Експланти сорту Альта на середовищі з ІОК у концентрації 5,0 мг/л утворювали більшу кількість корінців і мали більш розгалужену кореневу систему, при цьому у них відмічалось гальмування росту стебла.

Мікроживці сорту Слов'янка краще розвивались на поживному середовищі з індолілмасляною кислотою (ІМК) у концентрації 4 мг/л. Мікроживці сорту Заграва також позитивно реагували на заміну ІОК у середовищі на ІМК, проте у меншому ступені, ніж мікроживці сорту Слов'янка. Інші досліджувані сорти на середовищах із індолілмасляною кислотою (ІМК) мали укорочені міжвузля та недостатньо розвинену кореневу систему.

1. Вплив ауксинів на приживлення і регенерацію мікроживців хмелю.

№	Вміст ауксинів у середовищі, мг/л	Слов'янка		Альта		Заграва	
		приживлення, %	швидкість регенерації, дб	приживлення, %	швидкість регенерації, дб	приживлення, %	швидкість регенерації, дб
1	β -ІОК- 10,0	58	45	82	40	44	60
2	β -ІОК- 5,0	65	40	94	40	50	60
3	НОК- 10,0	62	50	34	55	52	65
4	НОК- 5,0	56	50	50	50	55	55
5	ІМК- 2,0	70	45	64	45	55	65
6	ІМК- 4,0	89	35	80	40	60	60
7	ІМК- 6,0	56	55	56	55	37	65

2. Вплив концентрації ауксинів на регенерацію мікроживців хмелю

№	Сорт	β-ІОК (10,0 мг/л) (К)		β-ІОК (5,0 мг/л) (62)	
		приживлення, %	швидкість регенерації, діб	приживлення, %	швидкість регенерації, діб
1	Кумир	85,0	45	91,0	45
2	Промінь	65,0	50	75,0	54
3	Слов'янка	68,0	45	65,0	40
4	Заграва	44,0	60	50,0	60
5	Альта	82,0	40	94,0	40

3. Вплив концентрації макроелементів у поживних середовищах на регенерацію мікроживців сортів хмелю *in vitro*

Мінеральна речовина у складі середовища	Концентрація, г/л	Слов'янка		Заграва	
		строки регенерації, діб	кількість коренів, шт.	строки регенерації, діб	кількість коренів, шт.
Азотнокислий амоній	3,800	54	2–3	62	1–2
	1,900	48	2–5	55	1–4
	0,950	40	4–8	47	2–5
Сірчаноокислий магній	0,740	46	3–5	58	1–3
	0,370	44	2–5	58	1–4
	0,180	45	2–6	55	1–4
Фосфорнокислий калій	0,340	42	3–6	53	1–5
	0,170	45	2–5	56	1–4
	0,085	45	2–5	55	1–3

Регенерація експлантів даних сортів на інших середовищах, які вивчались, також мала місце, але при цьому відсоток її був дещо нижчим, а термін довшим.

На другому етапі дослідів вивчали оптимальний склад поживних середовищ для регенерації мікроживців різних сортів хмелю.

Як відомо, до групи макроелементів відносять азот, фосфор, магній та кальцій, які найбільше впливають на ріст і розвиток рослин. Азот є складовою частиною більшості біоорганічних сполук рослинної клітини. Фосфор бере участь у передачі хімічної енергії в організмі рослини, завдяки якій здійснюється синтез білків та інших органічних сполук. Магній входить у склад хлорофілу, який забезпечує процес фотосинтезу рослин.

Нами вивчався вплив концентрації сполук азоту, фосфору і магнію на регенерацію мікроживців хмелю. За контроль було взято звичайну концентрацію цих елементів у середовищі Мурасига і Скуга.

Різогенез мікроживців сорту Заграва краще проходив у варіанті, де азотнокислий амоній додавали у середовище з концентрацією вдвічі нижчою за контроль, тобто 0,95 г/л (табл. 3). Експланти сорту Кумир добре реагували як на знижену, так і на підвищену концентрацію нітрату амонію у середовищі.

Зміна концентрації сірчаноокислого магнію і фосфорнокислого калію у середовищі не впливала на регенерацію мікроживців. У той же час, слід відмітити, що регенеранти, які росли на середовищах з удвічі підвищеним рівнем фосфору, мали потовщене стебло, а їх листя відрізнялось більш інтенсивним зеленим забарвленням.

За результатами дослідів було підбрано оптимальний склад середовищ для культивування сортів хмелю Промінь, Заграва, Альта, Слов'янка і Кумир у культурі *in vitro*, що дало можливість підвищити процент приживлюваності їх мікроживців до 90–95 %.

ВИСНОВКИ

Дослідження регенерації мікроживців різних сортів хмелю у культурі *in vitro* показали, що сорти хмелю мають різний морфогене-

тичний потенціал і по різному реагують на внесення до середовища тих чи інших ауксинів і їх концентрацію. Для більшості вивчених

сортів найвищий процент регенерації досягається при введенні у середовище гетероауксину у концентрації 5 мг/л. Зменшення

концентрації азоту у середовищі значно підвищує відсоток регенерації мікроживців хмелю і сприяє швидшому утворенню коріння.

БІБЛІОГРАФІЯ

1. Бойко А.Л. Вирусы и вирусные болезни хмеля, способы борьбы с ними / А.Л. Бойко, Г.С. Литвинов, Е.А. Кондратюк, С.А. Ромашев [и др.] // Хмелеводство. — 1983. — № 12. С. 31–35.
2. Калинин Ф.Л. Методы культуры тканей в физиологии и биохимии культурных растений / Ф.Л. Калинин, В.В. Сарнацкая, В.Е. Полищук. — К.: Наук. думка, 1980. — 488 с.
3. Кормильцев Б.Ф. Використання методу культури апікальних меристем для оздоровлення хмелю від деяких вірусів / Б.Ф. Кормильцев, А.Л. Бойко, Л.Т. Горшкова // Хмелярство. — 1992. — Вип. 14. — С. 20–23.
4. Кормильцев Б.Ф. Эффективность микрклонального метода при размножении хмелю *in vitro* / Б.Ф. Кормильцев // Хмелярство. — 2006. — Вип. 23. — С. 38–44.
5. Мельничук М.Д. Проблема карлавірусної інфекції хмелю в Україні / М.Д. Мельничук // Науковий вісник Національного аграрного університету. — К., 1998. — № 4. — С. 28–33.
6. Патент № 92168. 2010. Україна. МПК (2009) А01Н4/00 С12Н5/04. Кормильцев Б.Ф., Бадамшина Л.П., Левчук М.Г. Спосіб мікроклонального розмноження регенерантів хмелю, вирощених з апексів *in vitro* / Заявник і патентоутримувач Інститут сільського господарства Полісся № Заявка 25.10.2007. Дата публікації 10.06.2008 р., бюл. № 11.
7. Adams A.N. Elimination of viruses of hop (*Humulus lupulus* L.) by heat therapy and meristem culture / A.N. Adams // J. Hort. Sci. — 1975. — Vol. 58. — P. 151–160.
8. Hataya T. Molekular characterion of Hop mosaic virus: ist serological and molecular relationships to Hop latent virus / T. Hataya, R. Arimoto, N. Suda, I. Uyeda // Arch. Virol. — 2001. — Vol. 146. — P. 1935–1948.
9. Samun G. Producing a “nuclear stock” of virusfree hop plants / G. Samun, W. Welvaert // Med. Fac. Landbouw Rijksuniv Gent. — 1983. — Vol. 48. — P. 877–881.

ІЛЮСТРОВАНІЙ КАТАЛОГ СОРТІВ ХМЕЛЮ УКРАЇНСЬКОЇ СЕЛЕКЦІЇ

Розробник — Інститут сільського господарства Полісся НААН.

**Автори — Штанько І. П., Шабликін В. В., Михайліченко К. П.,
Юрківський Й. М., Ляшенко М. І., Проценко Л. В.**

В Інституті сільського господарства Полісся НААН проведена робота, яка узагальнила результати досліджень із селекції хмелю за останні два десятиріччя. З метою широкого ознайомлення з селекційними досягненнями та для їх реклами, було розроблено ілюстрований каталог сортів хмелю, дозволених до поширення в Україні.

До каталогу включено інформацію про 32 сорти хмелю, в тому числі 23 — селекції Інституту сільського господарства Полісся, які рекомендовані для вирощування в різних зонах України і суттєво різняться за морфологічними, селекційними, виробничими і пивоварними якостями. Для кожного сорту наведені паспортні характеристики (загальні відомості), основні показники господарсько-цінних, якісних та пивоварних ознак, які проілюстровані кольоровими світлинами (загальний вигляд рослини, гроно шишок, найбільш характерна за формою шишка).

Розрахований на спеціалістів, які проводять кваліфікаційну експертизу сортової приналежності рослин хмелю на ВОС-тест, дозволяє підвищити якість робіт по підготовці агрономів-апробаторів, проведенню сортопідтримуючої селекції та апробації сортових маточних і проміслових насаджень.

За додатковою інформацією звертатися на адресу:

Інститут сільського господарства Полісся НААН.

*Україна, 10007, Житомир, шосе Київське, 131, лабораторія селекції,
біотехнології та мікроклонального розмноження хмелю.*

Тел. (0412) 42-92-31, E-mail: isgpo_zt@ukr.net; shtanko_hop@meta.ua