

Т. І. Козлик,
кандидат
сільськогосподарських наук

Б. Ф. Кормільцев,
кандидат біологічних наук
Інститут сільського
господарства Полісся НААН

В. Б. Ковальов,
доктор
сільськогосподарських наук

Житомирський національний
агроекологічний університет

регенерація експлантів сортів Нортерн Бревер, Норгард, Тардіф і ОЗ-79, у той же час регенерація експлантів сорту ОЗ-55 майже на усіх випробуваних середовищах була нижчою за 50 % і тільки на середовищі А4 регенерувало 67 % мікроживців. **Висновки.** У результаті проведених досліджень з метою збереження генофонду та для використання в селекційному процесі до колекції *in vitro* було введено сім сортів селекції Великобританії. Проведено їх морфологічну ідентифікацію та відібрано кращі генотипи рослин хмелю. Проведено оздоровлення рослин від хвороб і введення до культури *in vitro*. Підібрано склад середовищ для культивування сортів хмелю в умовах *in vitro*.

Ключові слова: хміль, сорт, регенерант, приживлення, колекція, ідентифікація, *in vitro*.

Збереження генофонду культурних рослин з кожним роком набуває все більшого значення. Погіршення екологічних і геофізичних факторів, значне посилення антропогенного впливу на навколишнє середовище, недостатнє фінансування на підтримку колекцій рослин та природних біоценозів значно посилюють загрозу безповоротної втрати цінних видів та сортів рослин.

Методи *in vitro* в пробірці можуть вносити цінний вклад на кожному етапі селекційного процесу та в розсадництві хмелю. Використання клонального мікророзмноження дозволяє скоротити терміни розмноження нових сортів у порівнянні з традиційними методами в 4-5 разів. Переваги мікророзмноження в пробірці полягають в необхідності мати невелику кількість вихідного матеріалу, мінімальну лабораторну площу, за яких забезпечується високий коефіцієнт розмноження [5]. Клональне мікророзмноження також є складовою частиною інтегрованого захисту хмеленасаджень. Крім цього, застосування сучасних біотехнологічних наукових розробок з тестування рослинного матеріалу на наявність вірусних патогенів, оздоровлення, прискорене розмноження та попередження реінфікування вірусами на всіх етапах виробництва гарантує раціональне використання природних та матеріальних ресурсів, сприяє практичному запровадженню програми вирощування сертифікованого садивного матеріалу та відповідає доктрині екологізації сучасного сільськогосподарського виробництва [4; 3; 7; 6].

ВВЕДЕННЯ ТА КУЛЬТИВУВАННЯ СОРТІВ ХМЕЛЮ ВЕЛИКОБРИТАНІЇ У КОЛЕКЦІЮ *IN VITRO*

Вступ. Збереження генофонду культурних рослин з кожним роком набуває все більшого значення. Метою роботи був добір найкращих за кількісними та якісними характеристиками рослин хмелю кращих сортів світової селекції, ідентифікація їх за морфологічними, біохімічними і генетичними ознаками, оздоровлення та введення у культуру *in vitro* для збереження і подальшого використання в селекційному процесі. **Методи досліджень.** Дослідження по вивченню впливу фітогормонів на регенерацію хмелю у культурі *in vitro* проводили за загальноприйнятими методами. **Результати досліджень.** Проведено обстеження колекційних рослин сортів Англійської селекції: Кент, Норгаард, Ерлі Проміз, Тардіф, ВГВ, Нортерн Бревер, ОЗ-79 та ОЗ-55. Для введення їх до колекції *in vitro* були відібрані рослини, які за всіма морфологічними та біохімічними показниками найбільш відповідали паспортним даним сорту і відрізнялись високими показниками врожаю та вмісту α -кислот. Найбільш успішно відбувалася регенерація експлантів сортів Нортерн Бревер, Норгард, Тардіф і ОЗ-79, у той же час регенерація експлантів сорту ОЗ-55 майже на усіх випробуваних середовищах була нижчою за 50 % і тільки на середовищі А4 регенерувало 67 % мікроживців. **Висновки.** У результаті проведених досліджень з метою збереження генофонду та для використання в селекційному процесі до колекції *in vitro* було введено сім сортів селекції Великобританії. Проведено їх морфологічну ідентифікацію та відібрано кращі генотипи рослин хмелю. Проведено оздоровлення рослин від хвороб і введення до культури *in vitro*. Підібрано склад середовищ для культивування сортів хмелю в умовах *in vitro*.

Ключові слова: хміль, сорт, регенерант, приживлення, колекція, ідентифікація, *in vitro*.

Найбільш надійним методом оздоровлення посадкового матеріалу хмелю є культури мікророзмноження оздоровлених рослин [2]. Оздоровлений посадковий матеріал є базисним для створення маточних насаджень і переходу хмелярства на елітну основу, що забезпечить подовження експлуатації хмільників і підвищення їх продуктивності на 30-40 %.

Визначення та збереження рослин з цінними або унікальними сортовими ознаками з метою їх подальшого використання у селекції чи для розмноження є основою одержання чистосортного високоякісного садивного матеріалу, що у свою чергу гарантує стабільність та високу якість врожаю. Тому створення банку найбільш перспективних сортів хмелю є важливою складовою сучасних біотехнологій одержання супер-супер еліти. Створення колекції *in vitro* найкращих генотипів світового генофонду хмелю дозволить забезпечити тривале збереження здорового генетично ідентичного сортового матеріалу найкращих зразків світової селекції, що дасть можливість селекціонерам швидко проводити цілеспрямований добір батьківських пар для схрещування і забезпечити сортову і фітосанітарну чистоту маточних насаджень.

Метою роботи був добір найкращих за кількісними та якісними характеристиками рослин хмелю кращих сортів світової селекції, ідентифікація їх за морфологічними, біохімічними і генетичними ознаками, оздоровлення та введення

у культуру *in vitro* для збереження і подальшого використання в селекційному процесі.

Методика досліджень. Робота виконувалась відділом селекції та інноваційних технологій хмелю Інституту сільського господарства Полісся НААН у 2011-2015 роках. Дослідження проводились з використанням методичних підходів, які використовуються у вітчизняній і міжнародній практиці, зокрема викладені у роботі Калініна Ф. Л. та інш. “Методи культури тканин в фізіології і біохімії рослин” [1]. Схема дослідів включала в себе варіанти середовищ: стандартне – контроль, та середовища зі зміненням вмістом ауксинів, кінетину, мікро- та макроелементів.

Результати досліджень та їх обговорення. З метою відбору найкращих рослин хмелю було проведено обстеження колекційних рослин сортів Кент, Норгаард, Ерлі Проміз, Тардіф, ВГВ, Нортерн Бревер, OZ-79 та OR-55.

Проводили негативний відбір рослин за основними морфологічними ознаками, такими як: форма куща, довжина бокових гілок,

колір стебла, форма, аромат та щільність шишок. Рослини, які викликали сумнів з якогось з вище вказаних показників вибраковували. Серед рослин, які залишилися, проводили позитивний відбір за якісними показниками. Відбирали рослини з кращими якісними показниками, які не мали ознак захворювання та відрізнялись високою врожайністю.

Шишки з цих рослин піддавали біохімічному аналізу на визначення основних сортових біохімічних ознак, таких як: співвідношення β -кислот до α -кислот, яке для кожного сорту є постійною величиною, а також кількість когумулону у складі α -кислот і кількість колупулону у складі β -кислот. Важливою сортовою ознакою хмелю є склад ефірних олій. Зазвичай, у ароматичних сортів при невеликій кількості мірцену у складі ефірної олії знаходиться велика кількість фарнезену. Тоді, як у гірких сортів фарнезен майже зовсім відсутній, але утримується велика кількість гумулену чи постгумуленових кислот. Більшість сортів, традиційних для виро-

1. Паспортні данні основних сортів хмелю Великобританії

Сорт	Нортерн Бревер	Кент	Таргет
Строки стиглості	Ранній до середнього строку стиглості	середнього строку стиглості	Пізнього строку стиглості
Регіони вирощування	Англія, Німеччина, Польща, Словенія, Іспанія	Великобританія	Великобританія
Врожайність (т/гектар)	1,6	1,65	1,75
Альфа-кислоти*	6,0 – 10,0% w/w (у ваговому відношенні)	4,5 – 6,5% w/w (у ваговому відношенні)	9,5 – 12,5% w/w (у ваговому відношенні)
Бета-кислоти	3,0 – 5,0% w/w (у ваговому відношенні)	1,9 – 2,8% w/w (у ваговому відношенні)	4,3 – 5,7% w/w (у ваговому відношенні)
Співвідношення альфа- и бета-кислот	0,46-0,50	0,42 – 0,56	0,41 – 0,51
Когумулон	27 - 32% альфа-кислот	28 - 32% альфа-кислот	35 - 40% альфа-кислот
Колупулон	48 - 53% бета-кислот	46 - 49% бета-кислот	57 - 62% бета-кислот
Загальний вміст олії	1,2 – 1,4 мл /100 г	0,4 – 0,8 мл/100 г	1,2 – 1,4 мл/100 г
мірцену	45 - 55% загального вмісту олії	відсутній	70% від загального вмісту олії
фарнезену	< 1% загального вмісту олії	< 1% загального вмісту олії	< 1% загального вмісту олії
гумулену	17 - 22% загального вмісту олії	38 - 44% загального вмісту олії	17 - 22% загального вмісту олії

Таблиця 2. – Біохімічна характеристика сортів Великобританії, які введені до колекції *in vitro*

Сорт	Нортерн Бревер		ВГВ		Кент	
	Зразок	Паспортні дані	Зразок	Паспортні дані	Зразок	Паспортні дані
Альфа - кислоти (%)	10,7	6,0 - 10,0	6,5	4 - 7	5,4	4,5 – 6,5
Бета - кислоти (%)	4,8	3,0 – 5,0	4,1	1,9-2,8	2,2	1,9 – 2,8
Співвідношення β / α	0,47	1,2 – 3,3	0,61	4,8 – 6,5	0,41	0,42 – 0,56
Загальний вміст олії (мл /100 г)	2,5	1,2 – 1,4	1,6	1,3 – 1,7	0,7	0,4 – 0,8
Мірцену (%)	32,2	45 - 55	20,6	25	30,4	n/a
Фарнезену (%)	-	-	7,9	6,8 – 8,7	-	-
Гумулену (%)	19,7	17 - 22	23,2	21 - 28	39,6	38 - 44
	OZ-79		Тардіф,		OR-55.	
Альфа - кислоти (%)	8,0	6,4-8,8	7,0	8-13	7,6	7,0 – 9,0
Бета - кислоти (%)	4,6	3,2 – 4,6	3,3	4,3-5,7	5,4	4,5 – 5,2
Співвідношення β / α	0,56	0,5 – 0,6	0,47	0,45 – 0,72	0,74	0,55 – 0,8
Загальний вміст олії (мл /100 г)	1,6	1,5 – 2,4	0,8	0,7 – 1,3	2,6	2,0 – 3,5
Мірцену (%)	35,8	22 – 39	25,4	45-55	30,9	26 -41
Фарнезену (%)	-	-	-	-	-	-
Гумулену (%)	1,4	0,8 – 2,4	0,11	9-10	3,0	2,2 – 4,0

3. Вплив складу середовищ на регенерацію мікроживців хмелю сортів селекції Великобританії у культурі *in vitro*

Сорти	Процент регенерації на різних середовищах (%)				
	A	A ₁	A ₂	A ₃	A ₄
Нортерн Бревер	46	67	53	71	99
Норгаард	77	72	100	69	57
Кент	64	71	53	89	96
Тардіф	68	96	66	72	100
OZ-79	98	76	53	45	76
OR-55	32	49	28	55	67
ВГВ	90	74	58	69	97

щування у Великобританії відносяться до групи гірких сортів. Нижче приведено характеристики деяких найбільш поширених на плантаціях Великобританії сортів (табл. 1).

Northern Brewer (Нортерн Бревер). Сорт введено в Англії, він має високий вміст альфакислот. Є одним з основних сортів, які вирощуються в регіоні. Target (Таргет). Сорт з дуже високим вмістом гірких речовин і ароматом середньої інтенсивності. Kent (Кент). Ніжний, ароматичний сорт, який історично походить зі східного Кенту, визнано сортом з найтипівішим англійським ароматом і кращим смаком. Fuggle (Фаггл) цей сорт є найбільш відомим з усіх сортів англійського хмелю. Fuggle має типовий англійський смак. Його часто змішують з сортами Голдінг для покращення якості пива. Інші сорти і номери хмелю англійської селекції у тому чи іншому ступеню отримані від цих сортів.

Для підтвердження сортових характеристик введених до колекції сортів хмелю було проведено їх біохімічний аналіз. Усі відібрані сорти відповідали сортовим паспортним даним, на що було отримано відповідні посвідчення.

У таблиці № 2 приведено основні сортові біохімічні показники, одержані при аналізі шишок рослин, відібраних для введення у колекцію сортів *in vitro*. Для введених до колекції *in vitro* були відібрані рослини, які за всіма морфологічними та біохімічними показниками найбільш відпові-

дали паспортним даним сорту і відрізнялись високими показниками врожаю та вмісту α -кислот.

З підземної частини рослин, які були відібрані за морфологічними і біохімічними характеристиками, вирізували двовузлові живці з чотирма етильованими бруньками. Для оздоровлення рослин використовували термотерапію протягом десяти діб за температури 35⁰ – 37⁰С, після чого рослини перевіряли на наявність вірусної інфекції за допомогою імуноферментного аналізу, стерилізували і вводили до культури *in vitro*.

Найбільш успішно відбувалась регенерація експлантів сортів Нортерн Бревер, Норгард, Тардіф і OZ-79, у той же час регенерація експлантів сорту OR-55 майже на усіх випробуваних середовищах була нижчою за 50 % і тільки на середовищі A4 регенерувало 67 % мікророслин. Експланти сорту Ерлі Проміз зовсім не вдалось ввести до культури, але причиною цього був дуже слабкий і нежиттєздатний вихідний матеріал.

Як видно з табл. 3, більшість англійських сортів краще за себе регенерувала на середовищі з 200 мг/л азотнокислого амонію і 6 мг/л β -ІОК (A4), за виключенням сорту OZ-79, регенерація якого краще відбувалась на середовищі, до якого вносили 1/2 макроелементів по М.С. і β -ІОК – 12 мг/л (A), і сорту Норгард, у якого 100 % регенерація спостерігалась на середовищі, до якого вносили β -ІОК – 6 мг/л і ІМК – 1 мг/л (A2).

ВИСНОВКИ

У результаті проведених досліджень з метою збереження генофонду та для використання в селекційному процесі до колекції *in vitro* було введено сім сортів селекції Великобританії. Проведено їх морфологічну ідентифікацію та відібрано кращі генотипи рослин хмелю, проведено їх оздоровлення від хвороб і введення до культури *in vitro*. Підібрано склад середовищ для культивування сортів хмелю в умовах *in vitro*.

В Інституті сільського господарства Полісся існує світова колекція, яка включає 240 сортів і номерів хмелю і постійно поповнюється. Підтримання такої колекції потребує великих матеріальних та виробничих витрат. Створена колекція *in vitro* наразі складається з 56 генотипів хмелю, постійно поповнюється та розширюється. Використання її забезпечує економію в межах 100 тис. грн щорічно, які на даний час витрачаються на підтримку і оновлення колекційного розсадника.

БІБЛІОГРАФІЯ

- 1.Калинин Ф. Л. Методи культури тканин в фізіології і біохімії культурних рослин. / Ф.Л. Калинин, В. В. Сарнацкая, В.Е. Полищук. - К.: Наукова думка, 1980. - 488с.
- 2.Кормільцев Б. Ф. Використання методу культури апікальних меристем для оздоровлення хмелю від деяких вірусів / Б. Ф.Кормільцев, А. Л.Бойко, Л. Т. Горшкова // Хмелярство, 1992. –Вип. 14. – С. 20-23.
- 3.Кондратенко П. В. Стан і перспективи безвірусного розсадництва в Україні / П. В. Кондратенко, В. М. Удовиченко // Садівництво: Міжвідомч. тематичн. наук. зб. – 2010. – № 63. – С. 80 – 87.
- 4.Наукові засади виробництва оздоровленого садивного матеріалу плодкових і ягідних культур/ Гриник І. В., Бублик М. О., Удовиченко В. М. [та ін.] // Садівництво: Міжвідомч. тематичн. наук. зб. – 2013. – № 67.. – С. 5-11.
- 5.Патент № 92168. 2010. Україна. МПК (2009) A01H4/00 C12N5/04. Кормільцев Б. Ф., Бадамшина Л. П., Левчук М. Г. Спосіб мікроклонального розмноження регенерантів хмелю, вирощених з апексів *in vitro*/ Заявник і патентотримувач Інститут с/г Полісся Заявка 25.10.2007. Дата публікації 10.06.2008, бюл.№11.
- 6.European Commission. Proposal for a Regulation of the European Parliament and the Council on protective measures against pests of plants. (Electronic resource) COM 267 final, 6 May 2013. – Mode of access: http://ec.europa.eu/dgs/health_consumer/pressroom/docs/proposal-regulation-pests-plants_en.pdf
- 7.Safeguarding Fruit Crops in the Age of Agricultural Globalization / R. C. Gergerich, R. A. Welliver, S. Gettys [et al.] // Plant Disease. – 2015. – № 99. – P.176 – 187.