

та збільшення урожайності і якості насіння, необхідно проводити сумісний посів цукрових буряків з вівсом чи ячменем.

Таблиця 2
Збереженість і продуктивність безвисадкових насінників залежно від способів сівби (1985-1987 рр.)

Варіанти сівби	Рослини перед збиранням шт/м	Збереженість взимку, %	Урожайність, ц/га	Схожість, %	Маса 1000 насінин, г
Чистий (контроль)	12,4	67	13,1	72	14,2
Сумісний з вівсом	22,6	88	15,5	79	13,5
Сумісний з ячменем	22,6	89	15,8	78	13,6
	НІР ₀₅	5,0-6,0	1,6-1,8		

Література

1. Гродзинський А.М. Основи хімічної взаємодії рослин // К.: Наукова думка, 1973. - С. 70-71.
2. Загородній О.М., Балан В.М., Ковнев І.І. Взаємозв'язок між ступінню розвитку і збереженістю безвисадкових насінників у зимовий період // Прийоми підвищення продуктивності фабричних цукрових буряків і насінників. К., ВНЦ, 1989, С. 50.

УДК 633.63:581.143.6

В.І.Редько, Т.М.Недяк, О.В.Дубін,
Г.П.Ніколаєнко

РОЗМНОЖЕННЯ ТА ЗБЕРЕЖЕННЯ СЕЛЕКЦІЙНИХ МАТЕРІАЛІВ ЦУКРОВИХ БУРЯКІВ В КУЛЬТУРІ

in vitro

Методами традиційної селекції, збагаченими відкриттями в області генетики і фізіології, створено немало сортів і гібридів цукрових буряків інтенсивного типу.

Селекційна робота потребує збереження в чистоті кращих генотипів, що є досить складним завданням для такої перехреснозапильної культури, як цукрові буряки. Цього можна досягти вегетативним розмноженням, яке здійснюється завдяки мітотичним процесам, що приводять до поділу клітин на дві донорні, генетично ідентичні материнські. Найбільш широко в селекційній практиці для отримання ідентичного потомства - клонів, використовувались способи різання коренеплоду на частини, прививки бруньок, укорінення вилучених від коренеплоду бруньок та черешків з пазушною брунькою з висадків. Але ефективність отримання рослин таким шляхом невелика у зв'язку з тим, що ушкоджені порізами коренеплоди легко загнивають, розмноження прививками досить складне, процент укорінення ізольованих бруньок невеликий.

Тому розробка методів культури органів тканин і клітин цукрових буряків *in vitro* є найбільш надійним способом розмноження та збереження цінних селекційних матеріалів, який дозволяє повторити схеми схрещувань і відтворити бажані комбінації генів. Із усіх біотехнологічних методів цим вимогам найбільше відповідає мікроклональне розмноження. Саме при цьому спостерігаються менші генетичні зміни вихідного генотипу. Ризик отримання мутантних форм не перевищує природню вірогідність мутагенезу.

Основними факторами, які впливають на коефіцієнт розмноження, є генотип і фізіологічний стан рослини - донора та умови культивування *in vitro*.

Оскільки всі морфогенні процеси у експлантів пов'язані в першу чергу, з відповідним співвідношенням ендо- і екзогормонів, то підбір оптимальних середовищ - необхідна умова для ефективного мікроклонального розмноження селекційних матеріалів.

Вихідним матеріалом для отримання стерильних рослин в культурі *in vitro* брали насіння сортів Молдавський 41 (М-41), Киргизський 25 (К-25), Ялтушківський 30 (Я-30), Уладівський 35 (У-35), Монохіл (Мон.) та пазушні бруньки висадків селекційних номерів.

Як поживні середовища використовували модифіковані нами середовища Гамборга і Евелєга В₅ та Мурастре і Скуга (3).

Стерилізацію насіння проводили 0,4 % розчином сулеми, а бруньок - 0,2 % протягом 30-40 хв., з триразовим промиванням стерильною дистильованою водою. Після чого матеріал ви-

саджували на безгормональне середовище для відбору стерильного. Субкультування бруньок на модифіковані варіанти середовищ проводили через 10-15 днів. Рослини культивували в умовах освітлення 8-5 кілолюксів при 18-ти годинному фотоперіоді, температурі $26 \pm 2^{\circ}\text{C}$ і відносній вологості 80 %.

Оскільки якісний склад компонентів поживного середовища та їх співвідношення є одним із основних факторів, які впливають на морфогенні процеси у експлантів, нами були проведені дослідження з оптимізації поживних середовищ.

Порівняльна характеристика різного складу мінеральної основи середовищ (за Гамборгом Евелєга та Мурасіре і Скуга) при однаковому забезпеченні гормонами, вуглеводними та органічними домішками показала, що ріст і розвиток експлантованих пазушних бруньок досліджуваних генотипів краще відбувається при використанні мінеральних компонентів за приписом Мурасіре і Скуга (табл. 1).

Таблиця 1

Вплив мінеральної основи поживного середовища та гелеутворюючої речовини на ростові процеси бруньок цукрових буряків

Показники росту	Середовище			
	Карагінан		Агар-агар	
	J ₅	MS	J ₅	MS
Новоутворені бруньки, шт.	4	5	5	7
Ширина листової пластинки, мм	3,0	5,5	6,0	7,5
Довжина черешка, мм	7	10	15	20
Придатність до нового пасажу, тижні	6	4	3	2

У зв'язку з тим, що з метою здешевлення поживного середовища в якості гелеутворюючої речовини було використано заміник імпортного агар-агару - вітчизняний карагінан, вивчається його вплив на експлантовані бруньки. Як виявилось, брунькоутворююча здатність знижується. За 21 день культивування утворюється 4-5 бруньок на середовищі з карагінаном і 5-7 - з агар-агаром. Оскільки ріст рослин у другому варіанті іде

більш інтенсивно, то пагони можна відсаджувати на нове поживне середовище уже через 2-3 тижні, а в першому - тільки через 4-6. При використанні карагінану спостерігається швидке почорніння і відмирання нижніх листків рослин.

Причиною цього може бути недостатня вивченість хімічного складу карагінану, який негативно впливає на морфогенні процеси у експлантів.

Метод мікроклонального розмноження використовується не тільки для збереження генотипу вихідної форми, але і як метод прискореного розмноження цінних матеріалів (1, 3).

Тому з метою збільшення коефіцієнту розмноження проводились дослідження з індукції адвентивних бруньок із кушочків черешків та листових пластинок розміром 5-6 мм мал. 1)

В якості поживного було використане модифіковане середовище MS, у якому містилось 0,05 мг/л гіберелової кислоти та змінювалась концентрація кінетину від 0,1 до 0,7 мг/л (табл. 2). Як виявилось, найбільш ефективним був вміст кінетину 0,2 мг/л. Він забезпечував органогенез у 50 % експлантів черешків, взятих із селекційної лінії МС-3 і стимулював індукцію в середньому 3,2 пагони на експлант.

Таблиця 2

Залежність ефективності регенерації адвентивних пагонів із черешкових експлантів селекційної лінії МС-3 від концентрації КІН

КІН Концентрація, (мг/л)	Органогенних експлантів, %	Пагонів на експлант, шт.
0,1	28,7	1,9
0,2	50,0	3,2
0,3	34,3	1,5
0,5	26,5	1,3
0,7	24,8	1,2

Слід відмітити, що у різних генотипів максимальна частота органогенезу та індукції пагонів на 1 експлант спостерігалась при різних концентраціях кінетину в поживному середовищі (табл. 3)



Мал. 1. Регенерація адвентивних бруньок, черешків та листових пластинок цукрових буряків.

Таблиця 3

Оптимальні концентрації кінетину для органогенезу у експлантів різних селекційних ліній цукрових буряків

Номер селекційної лінії	Концентрація кінетину, мг/л	Органогенез, %	Пагонів на експланті, шт
16	0,3	38,0	2,6
18	0,2	29,2	3,1
23	0,5	19,4	2,8
24	0,3	39,6	3,3

Отже, для індукції адвентивних бруньок необхідна наявність у поживному середовищі такої біологічно активної речовини, як кінетин. В той час як розвиток пазушних бруньок відбувається і без нього.

У рослині-регенерантів, отриманих із черешків, не було виявлено морфологічних відмінностей, у порівнянні з тими, які одержали при введенні в стерильну культуру пазушних бруньок. При визначенні плідності в обох випадках не спостерігалось відхилень від генотипу рослини-донора. Проте в дані, що цитологічні дослідження, виконані на рослинах адвентивного походження, дозволили виявити зміни як при аналізі мейозу мікроспороцитів, так і при вивченні рівня їх плідності (4).

Досить ефективним є також метод отримання вегетативних бруньок на введеннях в стерильну культуру верхівках генеративних пагонів, експлантованих на модифіковане середовище J_6 , яке містило 0,2 мг/л БАП. Через 2-3 тижні на експланті утворювалось 1-2 вегетативні бруньки. Здатність до їх ініціації залежала від стадії розвитку материнської рослини. Найбільш інтенсивно брунькоутворення відбувається на експлантах, взятих на початку цвітіння.

Таким чином, підбравши умови культивування експлантів в культурі *in vitro*, можна отримати нові бруньки індукцією розвитку існуючих пазушних меристем внаслідок пригнічення апікального домінування та утворення адвентивних бруньок на різних експлантах.

Нами також вивчалась реакція насіння різних сортів на стерилізацію та залежність морфогенної активності і хіміч-

ного складу культуральних рослин від генотипу (табл. 4).

Таблиця 4
Вплив генотипу на ріст рослини в культурі *in vitro*
та вміст хімічних елементів в них

Показники	Сорти				
	М-41	Я-30	У-35	К-25	Мон.
Схожість насіння після стерилізації, %	32	39	28	39	30
Бруньок на 21 день, шт.	4	5	5	5	5
Листків на 21 день, шт.	14	12	17	18	12
Коренеутворення на 15 день, %	57	75	53	85	50
Довжина коріння на 30 день, см	4,8	5,0	3,2	3,2	1,4
Калусоутворення, %	63	40	38	58	38
Сира маса на 30 день, г	2,48	1,84	1,28	1,65	1,84
Суха маса на 30 день, г	0,18	0,08	0,11	0,10	0,12
Вміст K_2O	9,20	8,60	9,58	9,58	10,35
№а	0,75	0,70	0,80	0,70	0,85
P_2O_5	0,85	0,80	0,92	0,81	0,84
№ ² б	4,13	3,50	4,41	3,43	3,85

Рослини культивувались на середовищі C_{200} укорітвовались на C_{203} (3).

Хоча зустрічались випадки утворення коренів на середовищі з цитокініном до перенесення бруньок на різогенне поживне середовище з ауксином, що, очевидно, пов'язано з високим вмістом ендогенних ауксинів.

Як видно з даних таблиці 4, сорт К-25 виділяється серед інших схожістю насіння, кількістю бруньок та листків, та коренеутворюючою здатністю. Більшу сирю і суху масу мали рослини сорту М-41. Це пояснюється тим, що на раневій поверхні.

експлантованої бруньки в 63 % випадків утворюється калус.

За 21 день культивування від однієї бруньки можна отримати 4-8 новоутворених. Це дозволяє за 6 місяців мати 3×10^5 бруньок і навіть при 50 % різогенезу $1,5 \times 10^5$ укорінених рослин-регенерантів. У той час як нарізання коренеплоду на частини дозволяє отримати від 2 до 12 рослин, а метод укорінення ізольованих від коренеплоду бруньок - від 18 до 42. Тим більше порушення цілісності коренеплоду спричиняє ушкодження гнилями, збільшується процент неплодоносних рослин, затримується дозрівання висадків (2).

На 1 м² лабораторної площі можна розмістити 588 рослин, висаджених в 100 мл колби, або 768 рослин у пробірках, які розміщені в штативах.

Укорінення рослини адаптовані в теплиці до умов навколишнього середовища, легко приживаються при пересадці у відкритий ґрунт теплиці чи поля. Упаковані в пластикові ящики із зволеним перлітом, вони витримують транспортування протягом кількох днів.

Таким чином, модифікація поживних середовищ та використання адвентивного брунькоутворення, підвищують коефіцієнт розмноження при мікроклональному розмноженні, що дозволяє на невеликій лабораторній площі вирощувати тисячі рослин, довгостроково їх зберігати і планувати необхідну їх кількість до певного строку посадки.

Література

1. Ахмедова Ж.В. Клональное микроразмножение в селекции сахарной свеклы. Автореферат к.дис., Алматыбак, 1998, 22 с.
2. Прядко Н.И. О методах сохранения в чистоте генотипа растений сахарной свеклы путем вегетативного размножения, К., 1981, 18 с.
3. Редько В.І., Ільєнко І.І., Павловська Л.Л., Вілсує В.О. Методичні рекомендації по мікроклональному розмноженню цукрового буряку, Київ, 1997, 10 с.
4. Свищевская А.М., Боршотов В.Е. Культура тканей сахарной свеклы, Минск, 1984, 141 с.
5. Gamborg O.L., Eveleigh D.E. Culture methods and detection of gluconases in cultures of wheat and barley // Can. J. Biochem. - 1968. - 46, N 5. - P. 417-421.

6. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // *Physiol. Plant.* - 1962. - 15, N 13. - P. 473-497.

УДК 633.63:581.1:541.144.7

В.І.Кляченко, О.Л.Кляченко

ФОТОСИНТЕТИЧНІ ПОКАЗНИКИ ЯК ОСНОВА ПРОДУКЦІЙНОГО ПРОЦЕСУ РОСЛИН ЦУКРОВИХ БУРЯКІВ

Згідно теорії продукційного процесу уявлення про високопродуктивний тип рослин базується на принципі інтеграції оптимальної морфологічної структури рослин з підвищеною активністю фотосинтетичного апарату, тобто, на оптимальному поєднанні структурних і функціональних показників фотосинтетичної діяльності (5, 8). В останні роки пошуки можливостей підвищення потенціалу продуктивності сільськогосподарських рослин проводяться чи то за рахунок відбору генотипів з високоактивним фотосинтетичним апаратом, чи інтенсифікації його роботи шляхом реконструкції за допомогою генетичних методів (1).

Метою досліджень було вивчення загальної мінливості деяких фотосинтетичних показників у різних генотипів цукрових буряків при підвищенні їх продуктивності.

За об'єкти були взяті диплоїдний сорт Ялтушківський одонасінний 64, триплоїдний гібрид Білоцерківський ЧС 32 та роздільноплодна короткостебельна лінія К 32, одержана шляхом дії мутагена 1,4-біс-діазаацетилбутану на насіння. Рослини цукрових буряків вирощували в контрольованих умовах вегетаційного дослідження на поживній суміші ВНІІ при 80 % ПВ. В процесі онтогенезу визначали площу асиміляційної поверхні, питому поверхневу густину листка (ППГ) (3), інтенсивність фотосинтезу за допомогою оптико-акустичного газоаналізатора ГІАМ-5М, вміст хлорофілу (8), функціональну активність ізольованих хлоропластів (ФХА) (3), вміст вуглеводів в листкових пластинках (8), накопичення сухої біомаси рослин і її розподіл у органах, цукристість коренеплодів - методом хо-