

В.І. РЕДЬКО, М.В. РОЇК, Т.М. НЕДЯК, Н.С. БЕХ, Н.П. СЛУЦЬКА
Інститут цукрових буряків УААН

**ПОВІЛЬНО РОСТУЧІ IN VITRO КОЛЕКЦІЇ ЦУКРОВИХ І КОРМОВИХ
БУРЯКІВ ЯК МЕТОД ЗБЕРЕЖЕННЯ ЇХ ГЕНЕТИЧНОГО РІЗНОМАНІТТЯ**

Розроблено умови культивування in vitro, які забезпечують високу життєздатність бруньок при довготривалому зберіганні різних генотипів цукрових і кормових буряків.

Вступ. Однією із важливих проблем сучасності є збереження генетичного різноманіття культурних і диких форм рослин. Традиційно цього досягають створенням банку насіння, яке відтворюють періодично, пересіваючи його.

На сучасному етапі розвитку біології все частіше з метою збереження генофонду використовують метод кріозбереження та інші біотехнологічні методи [1, 2, 3].

При кріоконсервації збереження рослинного матеріалу відбувається при повному припиненні росту. Не дивлячись на проведення інтенсивних розробок, ще не має універсального методу, придатного для кріозбереження клітин всіх чи більшості видів. Причиною повільного впровадження цього методу в практику є перш за все специфічність рослинних клітин: великі розміри, сильна вакуолізація, велика кількість води, надзвичайно широка пластичність їх метаболізму, оскільки вони знаходяться в значно більш мінливих умовах, ніж умови строгого гомеостазу внутрішнього середовища, яке оточує клітини тварин. Тому виживання рослинних клітин після відтавання навіть в кращих рідких випадках не перевищує 60-70% [1]. Слід відмітити також, що, хоч для кожної клітини характерна тотіпотентність, вихід регенованих рослин із клітин, які зберігались кріоконсервацією, не дуже високий.

У разі використання меристем необхідно проводити підготовку їх до кріоконсервації з метою збагачення культури меристемоїдними клітинами [1].

Збереження рослинного матеріалу можна здійснювати і уповільнюючи його ріст (ростучі колекції in vitro). Ця система повинна відповідати певним вимогам: 1) генетична стабільність; 2) можливість регенерації для будь-якого генотипу, який буде зберігатись у культурі in vitro; 3) мінімальні затрати на догляд за рослинами за рахунок збільшення строку культивування без пересадок і зменшення витрат на створення відповідних умов для підтримання життєздатності культури; 4) оптимальні умови культивування в разі необхідності швидкого нарощування депонованого матеріалу, які забезпечать високий коефіцієнт розмноження; 5) стерильність рослинного матеріалу; 6) можливість транспортування в разі необхідності на далекі відстані.

Найбільше цим вимогам відповідає метод клонального мікророзмноження, коли вихідним експлантом є пазушні та верхівкові бруньки. Він має високий коефіцієнт розмноження генетично ідентичного стерильного матеріалу і дає можливість постійно вести контроль за станом життєздатності рослин [5].

Завданням наших досліджень було вивчення умов для створення повільно ростучих колекцій цукрових і кормових буряків *in vitro*.

Матеріал і методика досліджень. Об'єктами експериментів були селекційна лінія цукрових буряків К 23 та гібрид Іванівський ЧС 33 і кормові буряки сортів Сонет і Роте Вальце.

В основу дослідів покладена методика клонального мікророзмноження цукрових буряків [6].

При депонуванні в живильному середовищі збільшували концентрацію осмотика (сахароза 60, 90 г/л) та зменшували вміст всіх компонентів в 2 і 4 рази порівняно з контрольним середовищем С₂₀₀, яке розроблене для клонального мікророзмноження цукрових буряків. Також було використано два температурні режими: 24±2⁰С і 4±1⁰С та інтенсивності освітлення 2000-3000 лк і 500 лк.

Колби з висадженими бруньками спочатку витримували протягом 7 днів у культуральній кімнаті при температурі 24±2⁰С, 16-ти годинному фотоперіоді з інтенсивністю освітлення 2000-3000 лк, а потім переносили в холодильну камеру з пониженою температурою до 4±1⁰С і інтенсивністю освітлення 500 лк. Оцінку рослинного матеріалу проводили через 6 і 12 місяців.

Результати досліджень та їх обговорення. В результаті досліджень було виявлено, що збільшення в живильному середовищі такої осмотично активної речовини як сахароза з 30 г/л в контрольному середовищі С₂₀₀ до 60 і 90 г/л підвищувало життєздатність у всіх депонованих матеріалів (рис. 1).

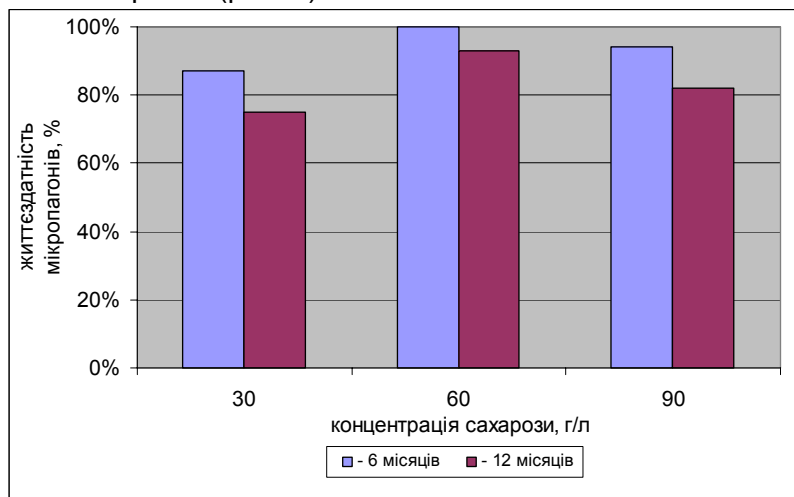


Рис. 1. Вплив концентрації сахарози і строків депонування на життєздатність мікропагонів гібриду цукрових буряків Іванівський ЧС 33

Проте інтенсивність ростових процесів знижувалась. Висота пагонів у досліджуваних варіантах середовищ (60, 90 г/л сахарози) через 6 місяців у гібриду Іванівський ЧС 33 відповідно становила 2,2; 1,6 і 1,1 см, у селекційної лінії К 23 – 1,8; 1,2 і 0,9 см, у сорту кормових буряків Сонет – 2,0; 1,3 і 0,7 см, а у Роте Вальце – 1,5; 1,1 і 0,6 см.

Подовжити строк культивування без пересадки можна також, використовуючи збіднені живильні середовища. У нашому досліді, культивування цукрових і кормових буряків без пересадок у варіантах живильних середовищ, в яких кількість всіх компонентів, крім сахарози, була зменшена в 2 і 4 рази при температурі $24 \pm 2^{\circ}\text{C}$, інтенсивності освітлення 2000-3000 лк, 16-ти годинному фотоперіоді продовжувалось 6 місяців.

Таблиця 1
Вплив живильного середовища на показники росту і розвитку бруньок цукрових і кормових буряків при депонуванні.

Селекційний матеріал	Сира маса рослини, г			Суха маса рослини, г			Життєздатних центральних бруньок, %			К-ть новоутворених бруньок, шт		
	C_{200}	$\frac{1}{2} C_{200}$	$\frac{1}{4} C_{200}$	C_{200}	$\frac{1}{2} C_{200}$	$\frac{1}{4} C_{200}$	C_{200}	$\frac{1}{2} C_{200}$	$\frac{1}{4} C_{200}$	C_{200}	$\frac{1}{2} C_{200}$	$\frac{1}{4} C_{200}$
Іванівський ЧС 33	0,38	0,58	0,40	0,02	0,04	0,02	100	100	100	6	6	7
К 23	0,28	0,28	0,40	0,02	0,03	0,02	20	20	50	2	6	5
Роте Вальце	0,48	0,42	0,42	0,03	0,03	0,02	100	80	100	5	5	6
Сонет	0,34	0,34	0,41	0,02	0,03	0,02	100	80	100	5	6	8
Середнє	0,37	0,40	0,41	0,02	0,03	0,02	80	70	88	4,5	5,8	6,5

Як видно з табл. 1, зменшення кількості всіх компонентів, крім сахарози, в стандартному живильному середовищі для клонального мікророзмноження C_{200} не тільки не привело до зменшення сирої і сухої маси рослин, а й сприяло збільшенню кількості новоутворених бруньок.

Зниження температури до $4 \pm 1^{\circ}\text{C}$, а інтенсивності освітлення до 500 лк викликало зменшення інтенсивності ростових процесів, але життєздатність бруньок при депонуванні за таких умов була вищою (табл. 2).

Таблиця 2
Життєздатність бруньок цукрових і кормових буряків при депонуванні протягом 6 місяців при зменшеній інтенсивності освітлення і зниженій температурі, %

Селекційний матеріал	Кількість сахарози, г/л	$24 \pm 2^{\circ}\text{C}$, 2000-3000 лк	$4 \pm 1^{\circ}\text{C}$, 500 лк
Іванівський ЧС 33	30	87	94
	60	100	97
К 23	30	77	84
	60	81	88
Сонет	30	90	93
	60	90	99
Роте Вальце	30	88	90
	60	92	95

Під час довготривалого зберігання цукрових і кормових буряків з використанням досліджуваних прийомів не спостерігалось відхилень від вихідного рівня геному та морфологічних змін у рослин-регенерантів.

Висновки. Таким чином, використовуючи збільшену кількість сахарози у живильному середовищі (60-90 г/л), збіднення його за рахунок зменшення мінеральних і гормональних компонентів, зниження температури до $4 \pm 1^{\circ}\text{C}$ при інтенсивності освітлення 500 лк, можна подовжити період між пересадками бруньок цукрових і кормових буряків до 6-12 місяців.

Це знизить затрати праці, дасть значний економічний ефект і дозволить створити повільно ростучі колекції цукрових і кормових буряків.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Попов А.С. Криоконсервация клеток растений // Методы культивирования клеток. – Л.: Наука. - 1988. - С. 70-77.
2. Engelmann F. In vitro conservation research activities at the International Plant Genetic Resources Institute (IPGRI) // Plant Tissue Culture and Biotechnology. – 1997. – 3, № 1. – P.46-52.
3. Towill L.E. Biotechnology and germplasm preservation // Plant Breed. Rev. – 1989. – 7. – P. 159-182.
4. Engelmann F. Present development and use of in vitro culture techniques for the conservation of plant genetic resources // Acta Horticulture. – 1997. - № 447. – P. 471-475.
5. Rani V., Raina S.N. Genetic fidelity of organized meristem derived micropropagated plants: a critical reappraisal // In vitro Cell Dev. Bid. Plant. – 2000. – 36. – P. 319-330.
6. Редько В.І., Ільєнко І.І., Павловська Л.Л., Білоус В.О. Методичні рекомендації по клональному мікророзмноженню цукрових буряків. – К.: ІЦБ. - 1997. – 10 с.

Аннотация

УДК 633.63:581.143.6

Медленно растущие in vitro коллекции сахарной и кормовой свеклы как метод сохранения их генетического разнообразия

В.И.Редько, Н.В.Роик, Т.Н.Недяк, Н.С.Бех, Н.П.Слуцкая

Разработаны условия культивирования in vitro, которые обеспечивают высокую жизнеспособность почек при длительном хранении различных генотипов сахарной и кормовой свеклы.

Annotation

UDC 633.63:581.143.6

Slowly growing in vitro collections of sugar beet and fodder beet as a method of preservation of their genetic diversity

V.Redko, M.Royik, T.Nedyak, N.Bekh, N.Slutska

There were worked out conditions of in vitro culture, which guaranteed high vitality of buds under long term conservation of different genotypes of sugar beet and fodder beet.