

ІНДУКЦІЯ РИЗОГЕНЕЗУ ЖИТА ОЗИМОГО В ІЗОЛЬОВАНІЙ КУЛЬТУРІ

Л. О. Рябовол, доктор сільськогосподарських наук;

Ф. М. Парій, доктор біологічних наук;

Я. С. Рябовол

Уманський національний університет садівництва

*В статті представлено результати досліджень умов оптимізації ризогенезу клонованих рослин жита озимого (*Secale cereale* L.) в культурі *in vitro*. Визначено склад модифікованого живильного середовища та вплив екзогенних ауксинів на укорінення рослинного матеріалу.*

Ключові слова: жито озиме, ризогенез, *in vitro*, мікроклональне розмноження, ауксини.

Для збереження та прискореного розмноження в селекційному процесі цінних генотипів доцільно застосовувати в технологічній схемі біотехнологічну ланку, зокрема мікроклональне розмноження. Даний метод базується на регенераційній здатності тотипотентних рослинних клітин, що дає можливість нескінченно довго розмножувати та зберігати незмінними генотипи біоматеріалів [1].

Одним із етапів мікроклонального розмноження рослин є укорінення клонованого матеріалу в культурі *in vitro*.

Укорінення рослин – це проблемне питання для переважної більшості видів, особливо після тривалого вирощування в ізольованій культурі.

Вченими встановлено, що для формування коренів необхідно переносити рослини на живильне середовище для ризогенезу, яке включає зменшені у два, а іноді й в чотири рази концентрації макро- і мікросолей основного складу ростового живильного середовища, або замінити його середовищем Уайта та зменшувати кількість сахарози до 0,5–1,0 %. Крім того, із субстрату слід повністю виключити цитокиніни та додавати підвищені концентрації ауксинів. Препарати даної групи регуляторів росту є основними для індукування коренеутворення [1–3].

Під впливом ауксинів (індолілоцтова кислота (ІОК), нафтилоцтова кислота (НОК), індолілмасляна кислота (ІМК) стимулюється поділ клітин паренхіми, що зумовлює диференціацію корневих зачатків у базальній частині тканини [4–6].

Однак не тільки від присутності ауксину в середовищі залежить процес коренеутворення. У класичній роботі Ф. Скуга та К. О. Міллера [5] відзначалось, що наявність чи відсутність регенерації визначається вмістом та співвідношенням ауксинів і цитокинінів у рослині. У роботах К. З. Гамбурга відмічалось, що співвідношення ендогенних ауксинів та цитокинінів відіграє важливу роль не тільки при дедиференціації та закладанні меристематичних зон, але й при їх детермінації (розвинуться вони в стеблові бруньки чи корені). Для багатьох ізольованих рослинних тканин оптимальним для процесу коренеутворення є співвідношення ауксинів до цитокинінів як 4:1 чи 5:1 [4, 7–9].

Аналізуючи дані літературних джерел, можна припустити, що певне співвідношення ауксин:цитокинін, яке сприяє процесу ризогенезу, мають і культуральні рослини жита озимого *in vitro*. Зміна даного співвідношення в той чи інший бік може викликати недиференційований поділ клітин та зумовлювати калюсоутворення.

Метою нашої роботи був підбір умов індукції ризогенезу та укорінення рослин жита озимого (*Secale cereale* L.) в культурі *in vitro* після клонального розмноження, оскільки повної інформації щодо поставленої проблеми в опублікованій науковій літературі не знайдено.

На укорінення висаджували клонований в ізольованій культурі матеріал жита озимого двох сортів – Карлик 1 та Карлик 2. В основу живильного субстрату входили макро- та мікроелементи за прописом середовища Мурасіге-Скуга. Модифікували середовища підвищеними концентраціями ауксинів. Вміст рiстактивууючої речовини залежно від варіанту коливався в межах 0,5–2,0 мг/л. Дослідження проводили в триразовій повторності.

На укорінення висаджували рослинний матеріал з початковою висотою 2,0–2,5 см. Кількість сформованих коренів та інтенсивність їх наростання визначали на 15-ту добу культивування.

Рослинний матеріал вирощували при 16-годинному фотоперіоді з інтенсивністю освітлення 3–4 ккал, температурному режимі 22–24 °С та відносній вологості 75%.

Щоб підвищити активність ризогенезу, в живильне середовище для останнього розмноження додавали вищі концентрації гіберелінової кислоти та виключали цитокініни. Даний прийом дав можливість на середовищі для розмноження отримати видовження міжвузлів та формування початкових корінців у базальній частині рослини. Проте повне виключення цитокініну уповільнювало ріст листового апарату рослин. Тому для підвищення інтенсивності наростання біомаси до живильного середовища додавали 0,5 мг/л 6-бензиламінопурину.

При проведенні досліджень встановлено, що для укорінення клонованого рослинного матеріалу жита озимого доцільно використовувати модифіковане середовище Мурасіге-Скуга з додаванням до його складу 0,5 мг/л 6-бензиламінопурину та індолілоцтової кислоти в концентраціях 0,5–2,0 мг/л.

Найкращі результати було отримано при введенні до живильного середовища 1,0 мг/л індолілоцтової кислоти. Це дало можливість простежити відповідну закономірність. За 15–20 діб у середньому за повторностями з 50 висаджених на ризогенез рослин більше 98 % утворювало корені (табл. 1).

Разом з укоріненням спостерігали інтенсивне наростання біомаси та кущення, видовження міжвузля та листкових пластинок. Кількість сформованих початкових корінців у рослини (5,1±0,6 шт) та інтенсивне наростання кореневої системи (23,2±1,4 мм) дало можливість виділити дану концентрацію як оптимальну для ризогенезу рослин жита озимого.

1. Укорінення клонованих рослин жита озимого *in vitro* залежно від концентрації індолілоцтової кислоти у живильному середовищі

Концентрація в живильному середовищі* ІОК, мг/л	Кількість укорінених рослин, %	Формування калюсу в базальній частині клону, %	Кількість сформованих коренів у рослини, шт	Інтенсивність наростання кореневої системи, мм (15-та доба культивування)
0,5	37,5±1,5	0,0	2,5±0,8	8,5±0,8
1,0	98,7±1,2	0,0	5,1±0,6	23,2±1,4
1,5	90,6±2,1	1,5±0,7	4,0±0,9	19,8±0,5
2,0	19,2±1,2	23,8±1,1	1,6±0,6	6,3±0,9
НІР ₀₁	1,5	0,9	0,7	0,9

*Базове середовище – модифіковане живильне середовище MS; у кожній повторності висаджували на укорінення 50 рослин.

Концентрація в живильному середовищі ІОК 1,5 мг/л індукувала дещо меншу кількість укорінених рослин (90,6±2,1 %) за довший відрізок часу (від 18 до 20 діб). Знижувалась й інтенсивність закладання та розвиток початкових корінців (4,0±0,9 шт; 19,8±0,5 мм).

Вміст ІОК 2,0 мг/л викликав значне зменшення кількості укорінених рослин, хоча на початковому етапі спостерігалось формування початкових коренів у переважної більшості клонів. Крім того, підвищення концентрації ауксину призводило до утворення калюсних формувань у базальній частині рослини. Понад 23 % клонованого матеріалу індукувало формування щільного світло-зеленого калюсу.

Вміст ауксину впливав і на тривалість формування кореневої системи. Якщо при концентрації в живильному середовищі ІОК 1,0 мг/л укорінені рослини отримували на 15–17-ту добу культивування, то при концентрації 0,5 мг/л – лише на 30-ту добу розвитку.

У процесі досліджень також встановлено, що генотип вихідного матеріалу істотно не впливає на ризогенну активність та галуження кореневої системи клонованого матеріалу жита озимого в культурі *in vitro*.

Висновки. Отже, в ході роботи визначено склад живильного середовища для індукції розвитку кореневої системи рослин жита озимого. Концентрація індолілоцтової кислоти 1,0 мг/л у модифікованому живильному середовищі Мурасіге-Скуга є оптимальною для ризогенезу біоматеріалу та інтенсивного наростання коренів при мікроклональному розмноженні рослин.

Бібліографічний список

1. *Калинин Ф. Л.* Технология микроклонального размножения растений / *Ф. Л. Калинин, Г. П. Кушнир, В. В. Сарнацкая* – К.: Наук. думка. – 1992. – 232 с.
2. *Подвигина О. А.* Индукция ризогенеза у сахарной свеклы в культуре *in vitro* / *О. А. Подвигина, В. В. Знаменская, В. В. Фролова* // VI Междунар. конф. [«Регуляторы роста и развития растений в биотехнологии»]: тез. докл., (Москва, 2001). – М.: Изд-во МСХА, 2001. – С. 160.
3. *Рябовол Л. О.* Клональне мікророзноження рослин / *Л. О. Рябовол* // Методичні рекомендації для проведення лабораторно-практичних занять з «Біотехнології рослин». – Умань: УДАА, 2001. – 16 с.
4. *Гамбург К. З.* Метаболизм ауксинов и рост культур растительных тканей / *К. З. Гамбург, Л. А. Леонова, Н. И. Рекославская* // Культура клеток растений. – К.: Наук. думка, 1978. – С. 47–52.
5. *Skoog F.* Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissue cultures *in vitro* / *F. Skoog, C. O. Miller* // 11-th. Symp. Soc. Exp. Biol. – 1957. – Vol. II. – P. 118–131.
6. *Бутенко Р. Г.* Культура клеток растений и биотехнология / *Р. Г. Бутенко* – М.: Наука, 1986. – 236 с.
7. *Калинин Ф. Л.* Методы культуры тканей в физиологии и биохимии растений / *Ф. Л. Калинин, В. В. Сарнацкая, В. Е. Полищук*. – К.: Наук. думка, 1980. – 487 с.
8. *Рябовол Л. О.* Використання фітогормонів при розмноженні *in vitro* інтродукованих сортів цикорію коренеплідного / *Л. О. Рябовол* // Зб. наук. пр. УДАА. – Умань, 2001. – С. 131–133.
9. *Шевелуха В. С.* Сельскохозяйственная биотехнология / *В. С. Шевелуха, Е. А. Калашикова, Е. С. Воронин* [и др.]. – М.: Высш. шк., 2003. – С. 106–132.