

УДК 631.811/57.085.2+633.791

Т. І. Козлик

к. с.-г. н.

В. Б. Ковальов

д. с.-г. н.

І. А. Джус

Н. П. Ратошнюк

Інститут сільського господарства Полісся НААН

ВПЛИВ АГРОПЕРЛІТУ ТА ПІСКУ У ПОЖИВНОМУ СЕРЕДОВИЩІ НА РЕГЕНЕРАЦІЮ МІКРОЖИВЦІВ ХМЕЛЮ РІЗНИХ СОРТІВ

За результатами досліджень рівень приживлення мікроживців хмелю сортів *Заграва* та *Альта* на поживних середовищах із агроперлітом або піском знаходився у межах 55–85 %. При цьому, показник кількості утвореного коріння за використання агроперліту у поживному середовищі на 36 % переважав варіант з використанням піску.

Внесення у поживне середовище агроперліту або піску не сприяє збільшенню показників висоти та маси у рослин хмелю сортів *Альта* і *Заграва*. Проте, використання у поживному середовищі як агроперліту, так і піску у якості підтримуючого елементу для регенерантів, є можливим.

Ключові слова. *Хміль, регенерант, мікросаджанці, приживлення, корнетворення, in vitro, пісок, агроперліт.*

Постановка проблеми

Досвід впровадження біотехнологічних методів розмноження хмелю у виробництво, в останні роки, довів їх високу ефективність і здатність за малий термін забезпечити виробників хмелю здоровим високоякісним садивним матеріалом [8].

Існуючі біотехнологічні методи дозволяють швидко і надійно звільнити рослини від вірусних, грибкових та бактеріальних захворювань [12] та забезпечити їх прискорене розмноження [6; 9; 13]. Плантації, закладені на основі такого матеріалу, більш вирівняні за розвитком, дають прибавку до 30 % урожаю шишок хмелю і до 20 % вмісту альфа-кислот у сировині. Тому розробка та удосконалення біотехнологічних методів має велике значення для подальшого розвитку хмелярства.

Аналіз останніх досліджень і публікацій

При використанні біотехнологій *in vitro* у виробничих масштабах важливим моментом є зниження їх собівартості і підвищення економічної ефективності. Як показують розрахунки, найбільші витрати при приготуванні поживних середовищ припадають на гелеутворюючий компонент - агар-агар, доля вартості якого у складі середовищ досягає 70 %. Тому заміна цього препарату на більш дешевий могла б значно знизити собівартість біотехнології розмноження хмелю.

Як альтернативу агар-агару останнім часом пропонується використовувати різні форми модифікованого крохмалю, зокрема ДДКамод. Як свідчать літературні джерела, використання ДДКамоду значно покращує регенерацію рослин при мікроклональному розмноженні деяких овочевих культур [3;5], стимулює утворення андрогенних структур і рослин-регенерантів у культурі пильників *in vitro* ярого ячменю [2;1]. Проте, ще одним із способів здешевлення виробництва садивного матеріалу рослин хмелю вищих фітосанітарних гатунків є заміна агар-агару у поживному середовищі агроперлітом або піском.

Мета, завдання та методика досліджень

Мета досліджень – поглиблене вивчення морфогенного потенціалу різних сортів хмелю та розробка раціональних схем мікроклонального розмноження.

Дослідження з вивчення процесу впливу агроперліту та піску, порівняно з агар-агаром, у поживному середовищі на регенерацію мікроживців хмелю різних сортів проводили протягом 2014–2015 рр. у лабораторії селекції та біотехнології 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) сорту Заграва та Альта висаджували у перліт і дорошували у культуральній кімнаті. Перед мікроклональним розмноженням проводили оздоровлення вихідного матеріалу. Одержані регенеранти проходили термотерапію [7; 11] та подальше укорінення в умовах *in vitro*.

Дорошування регенерантів проводили у світокультуральній кімнаті при температурі повітря 22–26°C, вологості 65–75 %, освітленні 2,5 кілолюкс і світловому періоді 16 годин. При утворенні на регенерантах чотирьох–п'яти парох листків проводили вибірку хворих рослин. Бактеріальні та грибові ураження добре виявляються вже через тиждень після висадки на поживні середовища. Після перевірки на наявність хвороб, оздоровлені рослини передавали для мікроклонального розмноження, яке проводилося у боксах за стерильних умов. Мікроживці висаджувалися на поживне середовище Мурасіге і Скуга за прописом Калініна [4] з нашими доопрацюваннями для хмелю [10]. Концентрацію і склад фітогормонів визначали у процесі дослідження. Після того, як регенеранти утворювали 5–6 вузлів, їх знову живцювали і процес регенерації повторювався.

Схема дослідів включала в себе варіанти: 1. Контроль – поживне середовище – агар-агар; 2. Поживне середовище – перліт; 3. Поживне середовище – пісок.

У досліді використовували мікроживці сортів хмелю: Заграва, Альта. Повторність у досліді чотириразова.

У досліді використовували кварцевий пісок, який вважається найпоширенішим мінеральним матеріалом нашої планети. Його добувають в результаті дріблення кварцу. Цей пісок має матовий молочний колір.

Сухий кварцевий пісок має такі властивості, як стійкість до хімічних препаратів, міцність, гарну сипкість. Також цей пісок має здатність до сорбування, на нього не впливає кисле середовище і різкі перепади температур.

За розміром зерен піски класифікують на тонкозернисті (0,05–0,1 мм), дрібнозернисті (0,1–0,25 мм), середньозернисті (0,25–0,5 мм), крупнозернисті (0,5–1,00 мм), грубозернисті (1–2 мм). У досліді використовували середньозернистий пісок.

При вивченні впливу поживного середовища агроперліту та піску на регенерацію мікроживців хмелю у культурі *in vitro* використовували загальноприйняті методики, які затверджені в Інституті сільського господарства Полісся, а також діючі нормативні документи, ДСТУ.

Результати досліджень

Результати досліджень впливу поживного середовища агар-агару агроперліту та піску на регенерацію мікроживців хмелю сортів Заграва, Альта показали, що рівень приживлення регенератів знаходився у межах 55–85 % залежно від наповнювача середовища та сорту хмелю. Найнижчим даний показник був зафіксований за культивування сорту Альта (табл. 1) у варіанті застосування піску у поживному середовищі. Найкращі результати було отримано на варіантах застосування агар-агару у поживному середовищі за культивування усіх досліджуваних сортів хмелю.

Таблиця 1. Вплив агроперліту та піску у поживному середовищі на регенерацію живців рослин хмелю сорту Альта, %

Варіант	Кількість коренів,		Довжина коренів,		Висота рослин,		Маса рослин,		Приживлюваність	
	шт.	%	см	%	см	%	г	%	%	%
1. Агар-агар (контроль)	4,1	100	1,4	100	4,8	100	0,128	100	75	100
2. Агроперліт	5,0	122	1,6	114	4,3	90	0,127	99	63	84
3. Пісок	3,2	78	1,2	86	2,7	56	0,104	81	55	73
НР ₀₅	0,2		0,3		0,15		0,4		2,5	

При цьому приживлюваність регенератів за використання агроперліту виявилася на 8% вищою порівняно з показником використання піску.

Одним з основних і вагомих факторів у розвитку рослин, її приживлюваності та рості відіграє коренева система – кількість утвореного коріння та їх довжина. Показник коренетворення у досліді, як і показник приживлення, залежав від фіксатора рослин у вертикальному положенні – агар-агару, агроперліту чи піску,

а також сорту хмелю. На контрольному варіанті (поживне середовище + агар-агар) показник кількості коренів у рослин хмелю сорту Альта був 4,1 шт, що на 22 % менше, ніж у варіанті з агроперлітом. Варіант з піском у поживному середовищі за показниками кількості утвореного коріння поступався контролю також на 22 %. Кількість утвореного коріння у варіанті з використанням агроперліту була на 36 % більшою порівняно з кількістю у варіанті з використанням піску.

Показник довжини коренів також був кращим у варіанті з агроперлітом та переважав показник контрольного варіанту на 14 % (табл.1.), а варіант з піском на 25 %.

Показники висоти та маси рослин за культивування сорту Альта у даному досліді на контрольному варіанті та варіанті з агроперлітом були близькими. Відставання від показників контролю спостерігали у варіанті з піском на 44 % – висота рослин та 19 % – показник маси рослин. Використання у поживному середовищі, у якості підтримки рослин, агроперліту на показники висоти та маси рослин за культивування сорту Альта мали перевагу над показниками використання піску на 37 % і 18 % відповідно.

За вивчення впливу у поживному середовищі агар-агару агроперліту та піску на приживлюваність живців рослин хмелю сорту Заграва (табл. 2) відсоток приживлення був у межах 68–85 залежно від досліджуваного варіанту. Найнижчим даний показник був на варіанті з піском у поживному середовищі і становив 68 %, що на 20 % нижче від показника на контрольному варіанті та на 19 % нижче від варіанту застосування агроперліту у якості наповнювача поживного середовища.

Таблиця 2. Вплив агроперліту та піску у поживному середовищі на регенерацію живців рослин хмелю сорту Заграва, %

Варіант	Кількість коренів		Довжина коренів		Висота рослин		Маса рослин		Приживлюваність	
	шт.	%	см	%	см	%	г	%	%	%
1. Агар-агар (контроль)	3,5	100	2,3	100	4,2	100	0,155	100	85	100
2. Агроперліт	4,4	126	1,7	74	2,7	64	0,112	72	84	99
3. Пісок	7,4	211	0,7	30	2,1	50	0,097	62	68	80
НІР ₀₅	0,3		0,41		0,2		0,4		1,8	

Слід відмітити, що показники приживлюваності у досліді за культивування мікроживців рослин хмелю сорту Заграва, у порівнянні з мікроживцями хмелю сорту Альта, виявилась у цілому на 15 % вищими.

За кількістю утвореного коріння кращі результати було отримано у варіанті з піском, перевага над показником контрольного варіанту становила 111 %, а над

варіантом із використанням агроперліту – 85 %. Проте за показником довжини коренів, висоти рослин і маси рослин даний варіант значно поступався контролю та варіанту з агроперлітом.

Показник довжини коренів на досліджуваних варіантах не перевищував контрольний. Відставання становило 70 % на варіанті з піском та 26 % на варіанті з агроперлітом. За показником довжини коренів перевага застосування у поживному середовищі агроперліту порівняно з піском становила 59 %.

Заміна у поживному середовищі агар-агару агроперлітом або піском не сприяла збільшенню показників висоти рослин у досліді. Дані варіанту поживного середовища з агроперлітом були менші від показників на контрольному варіанті на 36 %. Показники контрольного варіанту переважали варіант з піском на 50 %, а дослідного варіанту з агроперлітом – на 22 % (табл. 2). Дані маси рослин мали такі ж закономірності, як і показник висоти рослин у досліді. Відставання від контролю досліджуваних варіантів становило при застосуванні агроперліту – 28 %; а піску – 38 %. Порівнюючи внесення у поживне середовище агроперліту або піску, переважали дані варіанту з агроперлітом на 13 % над варіантом з піском.

Висновки та перспективи подальших досліджень

Аналізуючи загальну картину досліджень, варто відмітити, що внесення у поживне середовище агроперліту або піску не сприяє збільшенню показників висоти та маси у рослин хмелю сортів Альта і Заграва. Проте використання у поживному середовищі як агроперліту, так і піску у якості підтримуючого елемента для регенерантів, є можливим.

Перспективи подальших досліджень полягають у вивченні нових ресурсозберігаючих елементів технологій та удосконалення біотехнологічних методів вирощування хмелю.

Література

1. *Белинская Е. В.* Модифицированный крахмал как компонент питательной среды для получения гаплоидов ячменя в культуре пыльников *in vitro* / *Е. В. Белинская, П. Г. Дульнев* // Физиология и биохимия культурных растений. – 2007. – Т. 39, № 2. – С. 136–143.
2. *Білінська О. В.* Вплив гелеутворюючих і поживних вуглеводних компонентів живильного середовища на індукцію гаплоїдів ячменю у культурі пиляків *in vitro* / *О. В. Білінська* // Наук. вісн. нац. аграр. ун-ту. Сер. Біологія. – 2009. – Вип. 1. – С. 91–98.
3. *Гончарова С. А.* Вивчення впливу замінників агар-агару на гідратацію тканин у рослин-регенерантів колекційних сортозразків огірка / *С. А. Гончарова* // Генетичні ресурси рослин. – 2004. – № 1. – С. 47–50.

4. 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.

5. Особенности физиологического действия заменителей агар-агара в опытах по выращиванию *in vitro* двулетних овощных культур / С. И. Кондратенко, Т. В. Ивченко, Т. В. Чернышенко, П. Г. Дульнев // Современные проблемы генетики, биотехнологии и селекции растений : тез. междунар. конф. молодых ученых.– Х., 2001. – С. 30.

6. Кормильцев Б. Ф. Біотехнологічні прийоми розмноження і оздоровлення сортів хмелю селекції Інституту сільського господарства Полісся / Б. Ф. Кормильцев. – Суч. стан та перспективи розв. насін. в Україні. – 2008. – Вип. 107. – С. 148–150.

7. 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.

8. Кормильцев Б. Ф. Ефективність мікроклонального методу при розмноженні хмелю *in vitro* / Б. Ф. Кормильцев // Хмелярство. – 2006. – Вип. 23. – С. 38–44.

9. Мельничук М. Д. Технологія отримання морфогенного калюсу хмелю гірких сортів на безвірусній основі *in vitro* / М. Д. Мельничук, А. Н. Клюваденко, К. П. Михайличенко // Аграр. наука і освіта. – 2003. – Т. 4, № 24. – С. 15–21.

10. Патент № 92168. 2010. Україна. МПК (2009) А 01 Н 4/00 С 12 N 5/04. Спосіб мікроклонального розмноження регенерантів хмелю, вирощених з апексів *in vitro* / Б. Ф. Кормильцев, Л. П. Бадамшина, М. Г. Левчук; заявник і патентоутримувач Інститут с/г Полісся; заявка 25.10.2007; опубл. 10.06.2008, Бюл. № 11.

11. Adams A. N. Elimination of viruses of hop (*Humulus lupulus* L.) by heat therapy and meristem culture / A. N. Adams // J Hort Sci. – 1975. – V. 58. – P. 151–160.

12. Probasko E. G. The use shoot – tip culture to eliminate viruses from hop varieties grown in the Unites States / E. G. Probasko, S. Vinslow // Technical quarterly – Master. – 1986. – V. 23, № 1. – P. 26–29.

13. Svoboda P. Diagnostika viro ve slechtitelскеv materialu chmele / P. Svoboda. – Zatec, 1994. – 23 s.