

УДК 633.63:631.1.

СТВОРЕННЯ ВИХІДНОГО СЕЛЕКЦІЙНОГО МАТЕРІАЛУ ВІВСА ПОСІВНОГО (*Avena sativa* L.) З ВИКОРИСТАННЯМ ЕМБРІОКУЛЬТУРИ

ОРЛОВ С. Д.,

д.с.-г.н., с.н.с. Інституту біоенергетичних культур і цукрових буряків НААН України;

НЕЧИПОРЕНКО Л. П.,

с.н.с. Верхняцької ДСС ІБКЦБ;

ВОЙТОВСЬКА В. І.,

к.с.-г.н., с.н.с. Інституту біоенергетичних культур і цукрових буряків НААН України.

Вступ. Вирощування вівса посівного в умовах недостатнього зволоження та стійких до ураження хворобами є одним із напрямів інтенсифікації виробництва зерна. Дослідження вихідного матеріалу — це першочергове завдання щодо скорочення зусиль та витрат, які спрямовано на виділення відповідних батьківських ліній вівса посівного. Використання в селекційному процесі соматоклональних варіантів, отриманих шляхом ембріокультури, дозволяє суттєво розширити генетичну варіабельність експериментального матеріалу та прискорити селекційний процес.

Постановка проблеми та аналіз останніх досліджень і публікацій. Інтенсифікація селекційного процесу вівса посівного неможлива без використання нових технологій, зокрема, біотехнологічних методів, що сприяє розширенню генетичного різноманіття вихідного матеріалу вівса посівного для потреб сучасної селекції [1].

Використання біотехнологічних методів у селекції вівса посівного значною мірою залежить від здатності генотипу до індукції калусу та подальшої регенерації рослин від різних експлантів [2, 3].

Для отримання калусних культур вівса посівного (*Avena sativa* L.) дослідники використовували різні тканини, включаючи незрілі ембріони, молоде листя, апікальні меристеми, тканини мезокотилі і пилки [4–10]. Кращі результати з індукції калусу отримано за використання незрілих зародків вівса посівного, однак незрілі зародки можливо отримати в обмежений період вегетації та вимагає росту рослин у контрольованих умовах [11]. Зрілі зародки, хоча і продукують менше калусу, їх наявність упродовж тривалого часу робить їх відмінним джерелом експлан-

тів для ембріокультури вівса посівного.

Отримання генетичного різноманітня вихідного селекційного матеріалу вівса посівного дає можливість створювати нові сорти, які забезпечують приріст урожаю, підвищену якість зерна, стійкість до ураження грибковими хворобами, вилягання та осипання. Від впровадження нових сортів вівса з щорічною площею посіву до 25 тис. га з урожайністю насіння до 6 т/га, сільськогосподарське виробництво додатково буде одержувати 0,4–0,6 т/га, що загалом становитиме 10–15 тис. т., вартістю 16–26 млн. грн.

Тому актуальним є добір рослинного матеріалу вівса посівного з цінними ознаками в культурі *in vitro* й отримання нового вихідного матеріалу.

Метою роботи було дослідження морфогенного потенціалу зрілих зародків вівса в культурі *in vitro*.

Методика дослідження. Дослідження проводили в польових умовах Верхняцької дослідної селекційної станції згідно з методами, описаними в «Основах наукових досліджень в агрономії» [12], та лабораторії біотехнології Інституту біоенергетичних культур і цукрових буряків упродовж 2017–2021 рр.

Матеріал досліджень — зразки вівса ярого (плівчастого та голозерного), що характеризуються різноманітністю морфологічних і біологічних ознак, властивостей. У період вегетації сортозразків вівса проводили фенологічні спостереження, оцінюючи їх ознаки за п'ятибальною системою: стан сходів, кущення, вирівняність за висотою стебла, однотипність рослин, форма куща й волоті, стійкість до вилягання, ураження летючою сажкою та корончастою іржею. Проведено вивчення селекційних

матеріалів вівса на стійкість до ураження летючою сажкою та корончастою іржею на інфекційному фоні.

Оцінку сортозразків вівса на стійкість до хвороб проводили згідно вимог «Методики Державної науково-технічної експертизи сортів рослин. Методи визначення показників якості продукції рослинництва» [13]. Аналіз якості насіння проведено згідно зі стандартом ДСТУ 4138–2002, за яким визначено вологість зерна, %; маса 1000 зерен, г; натурна маса зерна, г/л; плівчастість зерна, %; схожість зерна, %.

З метою отримання експлантів для культури *in vitro* зрілих зародків насіння очищали від приквіткових (плівчасті форми) та стерилізували поверхнево в слабкому розчині перманганату калію впродовж 10 хв, двічі промивали стерильною дистильованою водою, витримували додатково 45 хв. у розчині гіпохлориту натрію «Білизна». В подальшому зливали гіпохлорит та заливали на 10 хв. 0,01н розчином HCl, з наступним п'ятиразовим промиванням стерилізованою дистильованою водою. Для набухання стерилізоване насіння інкубували при +5–8 °C впродовж доби в стерилізованій дистильованій воді. Підбір умов стерилізації волотей вівса посівного вели наступним чином: а) заливали матеріал розчином препарату «Білизна» з додаванням поверхнево-активної речовини TWIN80 та витримували впродовж 20 хв. і 30 хв. Зливали стерилізуючий розчин і додавали 0,01 н. розчин HCl (10 хв.) з наступним п'ятиразовим промиванням стерилізованою дистильованою водою. Для індукції калусу зрілі зародки вилучали пінцетом з насіння під мікроскопом МБС (виділені зародки були різні за розміром і ступенем дифе-

Таблиця 1.

Формування калусу в зрілих зародках різних потомств вівса посівного на живильному середовищі в залежності від концентрації 2,4-Д, 2019–2021 рр.

2,4-Д Генотип	Концентрація отримано калусів, %		
	2 (мг/л)	4 (мг/л)	6 (мг/л)
471-1117 (голозерний)	39,00 ± 2,88*	32,64 ± 4,69	41,05 ± 3,92
570-6 (голозерний)	41,31 ± 1,92*	34,29 ± 4,75	37,69 ± 2,85*
479-1342 (плівчастий)	94,69 ± 1,73*	97,21 ± 1,30*	92,62 ± 2,07*
583-35 (плівчастий)	97,33 ± 1,27*	89,75 ± 2,40*	95,71 ± 1,60*

Примітка: * – достовірно при $p < 0,05$

ренціації) та переносили в банки (200 мл) щитком вгору на живильне середовище MS, доповнене 60 мг/л цукрози, 2 мг/л, або 4 мг/л, або 6 мг/л 2,4-Д, 400 мг/л глютаміну, 400 мг/л проліну, 8 г/л агару [11]. Інкубували експланти при 25 °С 21 добу без освітлення. В кінці інкубаційного періоду було отримано калуси, які переносили на середовище MS без гормонів (20 мг/л цукрози) для ініціювання регенерації рослин і інкубували впродовж 35 діб при 25 ± 1 °С з 16 год фотоперіодом (4000 лк) до появи проростків і добре розвинутої кореневої системи.

Рослини-регенеранти висотою 1–2 см, пересаджували на живильне середовище MS із половинною концентрацією солей, 15 г/л цукрози, які ще культивували впродовж 1 місяця. Потім відмивали від середовища та висаджували в ґрунтосуміш (50% перегній + 50% переліт), зверху рослини накривали агроволокном на 5–7 діб для створення сприятливих умов. Отримані результати опрацьовані методами статистичного аналізу [14, 15].

Результати дослідження. Одержання індукованого калусу засновано на використанні як джерела, експлантів незрілих і зрілих зародків вівса посівного в культурі *in vitro*.

Для отримання калусної культури вівса посівного, в культурі *in vitro* ми досліджували зрілі зародки потомств — плівчастого (№ 479–1342, 583–35) та голозерного (№ 471–1117, 570–6). Утворення калусу в культурі ізольованих зрілих зародків різних потомств вівса посівного на живильному середовищі в наших дослідженнях відбувалося в межах від 32,6% у № 471–1117 при концентрації 4 мг/л 2,4-Д, — до 97,33% — у № 583–35 з концентрацією 2 мг/л (табл. 1).

Індукція калусу в зрілих зародках вівса посівного розпочиналась упродовж третьої-п'ятої доби культивування. Залежно від концентрації 2,4-Д в середовищі MS структура та розмір калусу були різними. Наприкінці періоду культивування (21 доба) на живильному середовищі з додаванням 2 мг/л 2,4-Д незалежно від потомства формувалася калус

діаметром 8–10 мм, кулястої форми від білого до кремового забарвлення, щільної структури (рис. 1).

На живильному середовищі, де використано 4 мг/л 2,4-Д, формування калусу було менш активним (пригніченим): розміром від 5 до 8 мм водянистої структури (рис. 2).

На живильному середовищі, де використано 6 мг/л 2,4-Д, формування калусу було пригніченим: розміром також від 5 до 8 мм, а його структура — рихла й водяниста (рис. 3).

Дослідженнями з'ясовано, що регенераційна здатність калусів із різних зрілих зародків потомств вівса посівного, отриманих на живильному середовищі із концентрацією 2,4-Д у індукційному середовищі 2 мг/л, становила від 9,87 ± 2,42 у плівчастого потомства 479–1342 та до 14,63 ± 5,52% — у голозерного (табл. 2.).

Після 21–28 доби культивування зародків вівса посівного калуси пересаджували на безгормональне живильне середовище MS з пониженою концентрацією цукрози (20 мг/л) для регенерації рослин (рис. 4).



Рис. 1. Утворення калусу в середовищі MS з 2 мг/л 2,4-Д на 21 добу культивування у зрілих зародках вівса посівного (генотип 583–35).

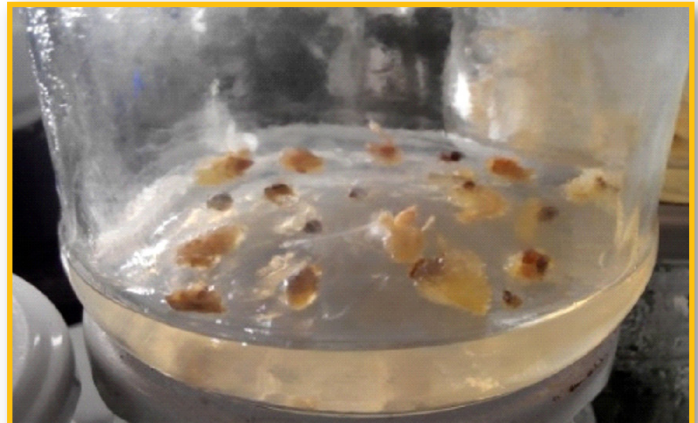


Рис. 2. Утворення калусу в середовищі MS з 4 мг/л 2,4-Д на 21 добу культивування у зрілих зародках вівса посівного (генотип 471–1117).



Рис. 3 Утворення калусу в середовищі MS з 6 мг/л 2,4-Д на 21 добу культивування в зрілих зародках вівса посівного (генотип 583–35).



Рис. 4. Регенерація вівса посівного генотипу № 583–35 з калусної культури зрілих зародків на 35 добу культивування.



Рис. 5. Регенерація рослин з калусної культури зрілих зародків вівса посівних генотипів *Закат* / *К-596*, *Дарунок* / *Закат*.



Рис. 6. Рослини-регенеранти вівса посівного.

Таблиця 2.

Регенерація рослин в культурі ізольованих зрілих зародків різних потомств вівса посівного, 2019 - 2020 рр.

Генотип	шт.	калусоутворення, %
471-1117 (голозерний)	25	12,82 ± 5,35
570-6 (голозерний)	36	14,63 ± 5,52
479-1342 (плівчастий)	25	9,87 ± 2,42
583-35 (плівчастий)	21	13,46 ± 2,73

Примітка: Достовірної різниці між регенераційною здатністю в культурі зрілих зародків чотирьох генотипів вівса не виявлено.

Із калусної культури зрілих зародків, які культивувались на живильних середовищах із підвищеною (4 та 6 мг/л) концентрацією 2,4-Д, нами не отримано регенераційні рослини, тоді як у середовищі 2 мг/л таких була значна кількість.

У подальшому в культуру *in vitro* вводили зрілі зародки генотипів F1 вівса посівного. Із насіння плівчастої форми вівса знято плівку та простерилізовано потомства вівса посівного, які введені в культуру зрілих зародків. Через високий відсоток (70%), інфікованого (грибами та бактеріями) рослинного матеріалу, отримано калусну культуру в гібридів *Закат* / *К-596*, *Дарунок* / *Закат*; у подальшому — рослини-регенеранти (рис. 5).

Складнішим етапом при отриманні рослин-регенерантів методом культури *in vitro* є їхня адаптація до умов *ex vitro*. Рослини-регенеранти вівса посівного відмивали від середовища та висаджували в ґрунтову суміш, рослини накривали агроволокном на 5–7 діб для створення сприятливих умов, але в наших дослідженнях загинув була високою (до 70%). Нами адаптовано рослини № 479–1342, № 583–35, № 471–1117, № 570–6 (рис. 6).

Створено лінії — регенеранти вівса посівного для одержання насіння і подальшого використання у селекційному процесі для створення нових сортів (рис. 7).

Висновок. Отримання калусу вівса посівного, що є соматоклональним варіантом, одержаного шляхом ембріокультури із зрілих зародків на живильному середовищі MS показало, що їх потенціал становить від 32,6% у № 471–1117 при концентрації 4 мг/л 2,4-Д до 97,33% у № 583–35 з концентрацією 2 мг/л.

Регенераційна здатність калусів із зрілих зародків потомств вівса посівного, отриманих на живильному середовищі із концентрацією 2,4-Д у індукційному середовищі 2 мг/л становила від 9,87 ± 2,42 до плівчастого потомства 479–1342 до 14,63 ± 5,52% — у голозерного.

Одержано лінії-регенеранти вівса посівного для вирощування насіння та їх подальшого використання в селекційному процесі.



Рис. 7. Лінії-регенеранти вівса посівного для одержання насіння

ПЕРЕЛІК ПОСИЛАНЬ

1. Біотехнологія рослин: навч. посіб. / Мусієнко М. М., Панюта О. О. К.: Видавничо-поліграфічний центр «Київський університет», 2005. 114 с.
2. Zhang S., Zhang H., Sticklen H. B. Production of multiple shoots from shoot apical meristems of oat (*Avena sativa* L.). *Journal of Plant Physiology*. 1996. Vol. 148(6). P. 667–671.
3. Rines, H.W., Mc Coy, T. J. Tissue culture initiation and plant regeneration in hexaploid species of oats. *Crop Sci*. 21. 1981. P. 837–842.
4. Bursun M. A., Nde S., Zgen M. Callus induction and plant regeneration from mature embryos of oat (*Avena sativa* L.). *Turk. J. Biol*. 2001. Vol. 25. P. 427–434.
5. Bregitzer P., Rines H. W., Mc Coy T. J. Development and characterisation of friable, embryogenic oat callus. *Crop Sci*. 1989. Vol. 29. P. 789–803.
6. Bregitzer P., Bushnell W. R., Rines H. W., Somers D. A. Callus formation and plant regeneration from somatic embryos of oat (*Avena sativa* L.). *Plant Cell Reports*. 1991. Vol. 10. P. 243–246.
7. Chen H., Xu G., Loschke D. C., Tomaska L., Rolfe B. G. Efficient callus formation and plant regeneration from leaves of oats (*Avena sativa* L.). *Plant Cell Reports*. 1995. Vol. 14. P. 393–397.
8. Chen Z. H., Zhuge Q. G., Sundqvist C. Oat leaf base tissue with an efficient regeneration capacity. *Plant Cell Reports*. 1995. Vol. 14(6). P. 354–358.
9. Kiviharju E., Puolimatka M., Pehu E. Regeneration of anther-derived plants of *Avena sterilis*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 1997. Vol. 48. P. 147–152.

10. Torbert, K. A., Rines H. W., Somers D. A. Transformation of oat using mature embryo-derived tissue cultures. *Crop sci.* 1998. Vol. 38. P. 226–231.

11. Шестопап О. Л., Замбріборщ І. С., Ігнатова С. О., Нечепоренко Л. П. Калюсоутворення та регенерація рослин в культурі зародків *Avena sativa* L. Science. in ua «Актуальні наукові дослідження в сучасному світі». Сборник научных трудов. вып. 2(22), часть 3. 2017. С. 21–27.

12. Єщенко В. О., Копитко П. Г. Опришко В. П., Костогриз П. В. Основи наукових досліджень в агрономії. Підручник. К.: Дія, 2005. 288 с.

13. Методика Державної науково-технічної експертизи сортів рослин. Методи визначення показників якості продукції рослинництва. Київ: Укр. ін-т експертизи сортів рослин, 2015. 133 с.

14. Гопцій Т. І., Проскурін М. В. Генетико-статистичні методи селекції: навч. посіб. Харківський нац. аграр. ун-т ім. В. В. Докучаєва. Харків, 2003. 103 с.

15. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта М.: 1985. 315 с.

АНОТАЦІЯ

УДК 633.63:631.1.

Створення вихідного селекційного матеріалу вівса посівного (*avena sativa* L.) з використанням ембріокультури

Орлов С. Д., Нечипоренко Л. П., Войтовська В. І.

Використання у селекційному процесі соматональних зразків вівса посівного, дозволяє суттєво розширити генетичну варіабельність експериментального матеріалу. Отримано калус шляхом ембріокультури із зрілих зародків вівса посівного на живильному середовищі MS від 32,6% у № 471–1117 при концентрації 4 мг/л 2,4-Д до

97,33% у № 583–35 з концентрацією 2 мг/л. Регенераційна здатність калусів із різних зрілих зародків потомств вівса посівного, отриманих на живильному середовищі з концентрацією 2,4-Д у індукційному середовищі 2 мг/л, становила від $9,87 \pm 2,42$ у плівчастого потомства 479–1342, до $14,63 \pm 5,52\%$ — у голозерного. Створено лінії-регенеранти вівса посівного для одержання насіння та їх подальшого використання в селекційному процесі.

Ключові слова: овес голозерний, плівчастий, ембріокультура, регенерація, лінії.

ABSTRACT

UDC633.63:631.1.

Creation of seed breeding material of oat (*Avena sativa* L.) using embryo culture

Orlov S. D., Nечyporenko L. P., Voitovska V. I.

The use of somaclonal seed oat samples in the breeding process allows to significantly expand the genetic variability of the experimental material. Callus was obtained by embryo culture from mature oat embryos sown on MS nutrient medium from 32.6% in No. 471–1117 with a concentration of 4 mg/l 2,4-D to 97.33% in No. 583–35 with a concentration of 2 mg/l. The regeneration ability of calli from different mature embryos of seeded oat offspring obtained on a nutrient medium with a concentration of 2,4-D in an induction medium of 2 mg/l ranged from 9.87 ± 2.42 in membranous offspring 479–1342 to $14.63 \pm 5.52\%$ in whole grains. As a result, regeneration lines of oat for obtaining seeds and further use in the breeding process were created.

Key words: whole-grain, shelled oat, embryo culture, regeneration, lines.

УДК 631.8:633.282:620.952

ПРОБЛЕМАТИКА ВИРОБНИЦТВА САДИВНОГО МАТЕРІАЛУ МІСКАНТУСУ ГІГАНТСЬКОГО

¹КРАВЧУК В.І.,

д.т.н., професор

ORCID0000–0002–7991–0351

¹КВАК В.М.

к.с.-г.н.

ORCID0000–0001–8996–0101

¹ЦВІГУН В.Г.,

н.с.

¹ІВАНЮТА М.В.,

к.т.н.,

ORCID0000–0002–2180–1929

¹КОНОНЮК Н.О.,

к.с.-г.н.

¹АТАМАНЮК О.М.,

к.с.-г.н.

²ГУМЕНЮК Ю.О.,

к.т.н.,

ORCID0000–0003–2463–1950

1. Інститут біоенергетичних культур

і цукрових буряків НААН

2. Національний університет біоресурсів

і природокористування України

високих і стабільних врожаїв є якісний садивний матеріал [42, 43]. Ще однією важливою умовою створення біоенергетичних плантацій є наявність достатньої кількості садивного матеріалу біоенергетичних культур на ринку. Тому постає необхідність дослідити та впровадити практичні заходи на основі світового та вітчизняного досвіду виробництва садивного матеріалу міскантусу гігантського.

Матеріали та методика досліджень.

Матеріалом досліджень були літературні джерела, патенти та інші нормативні документи щодо технології виробництва садивного матеріалу міскантусу гігантського. Методика досліджень передбачала формування гіпотези вирішення задачі на основі аналізу існуючої інформації, багаторічного виробничого та наукового досвіду вирощування, збирання та підготовки садивного матеріалу.

Результати досліджень.

Технологія вирощування міскантусу гігантського передбачає використання на 70% універсальних технічних засобів і на 30% — спеціальних [23]. Тому наші дослідження були зосереджені на спеціальних технічних засобах та елементах технології. А саме: термінах заготівлі садивного матеріалу (осінні чи весняні), густоті садіння для маточної плантації, дослідженні впливу підгортання рослин у рядку на формування кореневищ, кількості підгортань і термінах їх проведення, дослідженні ефективної системи удобрення для росту та розвитку кореневої системи

й оптимальних строків збирання, умов зберігання, підборі комплексу машин, який забезпечуватиме мінімізацію людської праці.

Підготовка садивного матеріалу.

У промислових масштабах міскантус гігантський розмножують вегетативним способом, саджанці отримують подрібненням маточних кореневищ на ризоми [1].

Сортування ризом міскантусу потрібно проводити відразу або за кілька днів перед садінням. Правильно проведений поділ маточного кореневища має в подальшому велике значення на їх ріст і розвиток.

Довжина ризом повинна бути близько 8–10 см і більше, а кількість бруньок (вічок) — не менше трьох. Проте на деяких ризомах їхня кількість може досягати навіть більше десяти. Однак найменша ризома повинна бути не менше 5 см, так зване «Правило мізинця», тобто ризома не повинна бути менше мізинця [22]. Недостатньо вичищеним залишається й питання про час їх сортування — восени перед закладанням на зберігання чи весною перед садінням.

Агротехнічні вимоги до садіння.

В літературних джерелах наведена велика кількість досліджень стосовно густоти садіння міскантусу гігантського у промислових насадженнях, проте ці результати мають значні розбіжності. Lewandowski, Clifton-Brown, та ін. дослідники пропонують висаджувати від 10000 до 40000 шт./га [18]. Pyter, Heaton, та ін. вважають, що оптимальним є від 10000 до 12000 шт./га для Іллінойс, США [19].

Постановка проблеми. Одним із важливих стратегічних питань енергетичної незалежності нашої країни є розвиток біоенергетичної галузі. Вирощування біоенергетичних культур і перероблення їх на біопаливо сприяє зменшенню використання викопних енергоносіїв. Для того, щоб стабільно працювали переробні підприємства, їм потрібно мати високопродуктивні плантації біоенергетичних культур. А запорукою