

УДК 633.791:631.52.527:
631.578.083

Б.Ф. Кормільцев,
кандидат біологічних наук

І.П. Штанько,
кандидат сільсько-
господарських наук

К.П. Михайліченко,
О.В. Черненко

Інститут сільського
господарства Полісся НААН

ВИКОРИСТАННЯ БІОТЕХНОЛОГІЧНИХ МЕТОДІВ ПРИ РОЗМНОЖЕННІ ВИХІДНОГО СЕЛЕКЦІЙНОГО МАТЕРІАЛУ ХМЕЛЮ

За даними комплексного аналізу вихідного гібридного матеріалу виявлено високий потенціал селекційних та агрономічних ознак окремих генотипів, які порівняно зі стандартом мають достовірні переваги. Проведені дослідження з модифікації поживних середовищ та підбрано умови культивування і розмноження виділених зразків. Показано, що застосування біотехнологічних методів оздоровлення та розмноження вихідного матеріалу хмелю дає можливість одержати необхідну кількість рослин для проведення селекційних випробувань, що скорочує тривалість селекційного процесу і підвищує його ефективність.

Ключові слова: хміль, селекція, біотехнологія, гібриди, мікроклональне розмноження.

Постановка проблеми. Відомо, що успіх селекційної роботи визначається правильним добором батьківських форм і використанням ефективних методів створення вихідного селекційного матеріалу [1]. Селекція хмелю на сучасному етапі базується на використанні багатоступеневої гібридизації генетично-дивергентних форм у поєднанні з індивідуальним клоновим добором, застосуванням поліплоїдії, мутагенезу та новітніх біотехнологічних методів. Результатом розвитку біотехнології в останні десятиріччя є розробка методів, які дали змогу значно скоротити процес виведення нових сортів рослин і строки впровадження їх у виробництво [2, 3].

Хміль є дводомною перехреснозапильною культурою зі значною гетерозиготністю ознак, тому при схрещуванні нащадки кожної пари значно відрізняється за генотиповим комплексом морфологічних, господарських і якісних ознак. Ініціальну вихідну гібридну форму, яка може стати новим сортом, селекціонер одержує у кількості однієї рослини. Враховуючи низький коефіцієнт традиційних методів клонового розмноження хмелю, процес первинного відбору і визначення якісних показників селекційних номерів та їх виробничої перевірки може тривати десять і більше років. В той же час, застосування біотехнологічних методів розмноження, може не тільки скоротити строки виведення і впровадження нових сортів у два-три рази, а й дає можливість отримати оздоровлений ви-

сокоякісний розсадний матеріал для виробництва.

Нами розроблені методи оздоровлення рослин від вірусних хвороб шляхом культури апікальних меристем [4] і термотерапії [5], а також метод мікроклонального розмноження хмелю [6], виробнича перевірка якого показала, що за рік можна отримати від однієї рослини хмелю до ста тисяч оздоровлених саджанців. На нинішньому етапі важливим є використання цих методів у селекційному процесі створення і впровадження нових сортів.

В той же час, результати досліджень вказують на сортові особливості культивування рослин хмелю в культурі *in vitro* і залежність ефективності їх регенерації від концентрації азоту і фітогормонів у середовищі [7].

Метою роботи є визначення можливості використання сучасних біотехнологічних методів для скорочення селекційного процесу створення сортів хмелю та встановлення особливостей культивування і розмноження *in vitro* відібраних селекційних клонів гібридних розсадників.

Матеріал і методи досліджень. Вихідний матеріал ініціальних рослин відбирали в гібридних розсадниках 221 плантації Інституту сільського господарства Полісся. Після настання фази спокою рослин, в листопаді заготовляли для дослідів живці із тих селекційних номерів хмелю, які за кількісними показниками господарських ознак, особливими біологічними ознаками та біохімічними

якісними оцінками були визначені як цінні для подальшої селекційної роботи.

Живці витримували 1,5–2,0 місяці в умовах холодильника при температурі +4°C. Для ініціації виходу живців зі стану спокою їх висаджували у суміш торфу та піску (3:1) і пророщували в умовах культуральних кімнат.

Перед введенням у культуру *in vitro* проводили оздоровлення вихідного матеріалу. З цією метою, після утворення живцями пагонів, з останніх відбирали верхівкову меристему, яку стерилізували у 3%-му розчині хлораміну протягом 5 хв. Після цього, верхівки відмивали в стерильній дистильованій воді протягом 30 хв і висаджували на спеціально підібрані середовища для регенерації. Одержані регенеранти переносили до термостата і витримували протягом тижня за температури 36°C.

Подальшу регенерацію проводили у культуральній кімнаті при температурі повітря 22–26°C, вологості 65–75%, освітленні 2,5 клюкс і світловому періоді 16 годин. При утворенні у регенерантів чотирьох–п'яти пар листя, проводили вибраковку рослин з ознаками грибкових захворювань. Для ідентифікації вірусних інфекцій використовували серологічний аналіз [8].

Після перевірки, оздоровлені рослини передавались для мікроклонального розмноження. Нами було випробувано різні середовища культивування за вмістом фітогормонів і азотнокислого амонію (табл. 1).

На середовища висаджували по 20 експлантів кожного селекційного номера. Операції з розмноження проводили в боксах в стерильних умовах. Мікророзмноження висаджували на поживні середовища Мурасига і Скуга за прописами Калініна [9] з додаванням глюкози (30 г/л) і підбраного складу фітогормонів. Пробірки з експлантами переносили у культуральну кімнату і витримували за температури 22–26°C, освітленні 2,5 клк при світловому періоді 16 годин на добу. Після

утворення 5–6 вузлів стебел, їх знову живцювали і процес регенерації повторювали. Після утворення достатньої кількості регенерантів і утворення кореневої системи у мікророзмножувачів, їх висаджували у касети з субстратом (торф–пісок 1:3). Акліматизацію проводили у культуральній кімнаті при температурі повітря 20–22°C, освітленні 6 клк при світловому періоді 16 год на добу.

Результати досліджень. В результаті селекційної оцінки генотипів гібридних розсадників протягом 2011–2013 рр. встановлено, що одержані генотипи різняться за параметрами врожайності та якості, визначено високий потенціал окремих відібраних селекційних номерів за проявом агрономічних ознак. За трьохрічними даними значна кількість генотипів виявили гетерозисний ефект продуктивності порівняно із сортом-стандартом. Особливо це стосується номерів 7353, 7447, які мали найвищу продуктивність (3,0–3,2 кг/кущ) сирого хмелю, що перевищує стандартний сорт Слов'янку у 1,5 раза за даною ознакою (табл. 2).

Виділені гібридні генотипи мають покращені показники якості, наділені підвищеним вмістом альфа-кислоти (7,3–13,5%), а номери 7353 та 7447 вирізняються невисоким вмістом когумулону — (19,6–23,9%) і мають високий вміст ефірної олії до 2,0–2,8 мм на 100 г [10].

Для повнозначної оцінки в системі селекційних випробувань визначених гібридів хмелю необхідно мати певну кількість рослин кожного генотипу. З метою їх прискореного розмноження ми досліджували здатність до регенерації в умовах *in vitro* виділених номерів хмелю. У попередніх дослідженнях нами було встановлено, що різні сорти хмелю мають різний морфогенетичний потенціал і інтенсивність регенерації їх експлантів в культурі *in vitro* відрізняється та залежить від певного складу середовища.

За основу в експерименті використовували середовища, які були розроблені при визна-

1. Склад поживних середовищ в дослідках

Середовище	Індолицетова кислота (мг/л)	Індолимасляна кислота (мг/л)	Кінетин (мг/л)	Азотнокислий амоній (мг/л)
M ₁	10,0	—	0,1	825,0
M ₂	6,0	—	0,5	825,0
M ₃	6,0	1,0	0,1	825,0
M ₄	10,0	—	0,1	200,0
M ₅	6,0	—	0,1	200,0

2. Характеристика виділених гібридних генотипів (середні дані за 2011–2013 рр.)

№ з/п	Селекційний номер	Група стиглості	Врожай сирого хмелю, кг/кущ	± до стандарту	Вміст альфа-кислот, %	Вміст бета-кислот, %	β/α	Когумулон, %	Ксантогумол, %	Ефірна олія, мм на 100 г
1	Слов'янка, ст.	С	1,7	0	5,4	6,7	1,26	28,9	—	1,8
2	7053	С	2,6	+0,9	7,3	5,7	0,77	30,2	0,42	2,8
3	7062	С	2,2	+0,5	13,5	4,7	0,35	25,9	0,39	2,2
4	7307	С	2,5	+0,8	9,4	3,6	0,44	32,4	0,41	2,7
5	7353	С	3,2	+1,5	9,8	8,8	0,63	23,9	0,40	1,6
6	7425	С–П	2,4	+0,7	8,3	2,8	0,35	24,0	0,32	1,4
7	7447	С	3,0	+1,3	9,4	3,5	0,37	19,6	0,33	2,7

Примітка. С — середньостиглий; С–П — середньопізній.

3. Регенерація селекційних номерів хмелю на різних середовищах (%)

Селекційні номери	Середовища				
	M ₁	M ₂	M ₃	M ₄	M ₅
7053	85	70	95	75	35
7062	90	80	100	60	55
7307	95	100	90	60	65
7353	90	75	65	50	60
7425	95	65	60	55	45
7447	85	80	95	50	50

чені особливостей вирощування в культурі *in vitro* реєстрованих сортів хмелю та зразків колекції генофонду хмелю. Більшість з відібраних селекційних номерів добре розмножувались на середовищі M₁. Водночас, регенерація номерів 7053 і 7062 краще відбувалась на середовищі M₃, а мікроживці номера 7307 краще приживлювались і розвивались на середовищі M₂ (табл. 3). В результаті підбору середовищ усі номери хмелю були успішно введені до культури *in vitro* і розмножені до необхідної кількості.

Таким чином, враховуючи час, необхідний для відбору зразків, виведення їх зі стану спокою, оздоровлення, введення їх до культури *in vitro* та проведення необхідних досліджень по модифікації поживних середовищ, за осінньо-зимовий період можливо здійснити тричотири цикли розмноження і одержати до 200 рослин кожного селекційного номера, що достатньо для проведення необхідних селекційних досліджень, зокрема для закладання конкурсного випробування, в якому за 3–4

роки проводиться остаточно повнозначна оцінка нових клонів щодо їх унікальності, стабільності, однорідності та придатності до поширення в Україні. При цьому строки розмноження селекційних номерів зменшуються у кілька разів, а тривалість селекційного процесу скорочується на 5–6 років.

З позиції селекційно-генетичної перспективи практичного використання біотехнологічних методів, слід відмітити, що виділені гібридні форми, які оздоровлені та розмножені із застосуванням біотехнологічних методів в умовах дослідів виявляють вищий рівень прояву господарсько-цінних ознак в порівнянні із рослинами розмноженими живцями і пагонами за традиційними методами розсадництва хмелю. Крім цього, для кожного генотипу експериментально встановлено оптимальний склад поживного середовища, сформовано базу даних середовищ, яка дає змогу, при умові реєстрації певного селекційного сорту, розпочати його промислове розмноження без додаткових наукових пошуків.

ВИСНОВКИ

В результаті досліджень виявлено значний потенціал використання біотехнологічних методів розмноження гібридів хмелю, які отримані методами багатоступеневої

гібридизації, що проявляється в підвищенні показників продуктивності та якості номерів селекційних випробувань. Підтверджено стабільність вираження господарсько цінних

показників відібраних генотипів. Застосування біотехнологічних методів розмноження *in vitro* дає можливість протягом року одержати необхідну кількість рослин кожного номера для селекційних випробувань, що значно прискорює процес їх вивчення і підготування до виробничого впровадження.

Перспективи подальших досліджень. Результати вивчення вихідного гібридного матеріалу отриманого із використанням біотехнологічних методів у селекційних дослідженнях показали перспективність цього

методу, що скорочує процес створення сортів хмелю з високими показниками продуктивності, якості та резистентності до основних негативних чинників, зменшує затрати на проведення дослідів, але потребує розробки методик порівняльної оцінки клонів хмелю, розмножених різними методами та проведення їх морфологічної, біохімічної та генетичної ідентифікації для встановлення відхилень біологічних і господарських ознак рослин, розмножених різними методами, в межах клону.

БІБЛІОГРАФІЯ

1. Заграфова М.И. Создание исходного материала для селекции высокогетерозисных сортов хмеля / М.И. Заграфова, И.Б. Полищук, Н.И. Ляшенко // Хмелеводство. — Вип. 10. — К.: Урожай, 1988. — С. 8–14.
2. Сельскохозяйственная биотехнология: [избранные работы / под ред. В.С. Шевелухи]. — М.: "Евразия+", 2000. — Т. 1. — 264 с.
3. Бутенко Р.Г. Биология клеток высших растений и биотехнологии на их основе / Р.Г. Бутенко. — М.: ФБК-Пресс, 1999. — 160 с.
4. Кормильцев Б.Ф. Використання методу культури апікальних меристем для оздоровлення хмелю від деяких вірусів / Б.Ф. Кормильцев, А.Л. Бойко, Л.Т. Горшкова // Хмелярство. — Вип. 14. — К.: Урожай, 1992. — С. 20–23.
5. Кормильцев Б.Ф. Використання термотерапії для одержання садивного матеріалу хмелю без вірусних хвороб / Б.Ф. Кормильцев // Хмелярство. — Вип. 18. — К.: Аграрна наука, 1987. — С. 8–12.
6. Патент № 92168. 2010. Україна. МПК (2009) A01N4/00 C12N5/04. Кормильцев Б.Ф., Бадамшина Л.П., Левчук М.Г. Спосіб мікроклонального розмноження регенерантів хмелю, вирощених з апексів *in vitro* / Заявник і патентотримувач Інститут с/г Полісся. Заявка № 25.10.2007. Дата публікації 10.06.2008, бюл. №11.
7. Вплив складу середовища на регенерацію різних сортів хмелю у культурі *in vitro* / Б.Ф. Кормильцев, Т.І. Козлик, О.В. Черненко, Н.П. Рагошнюк, В.П. Левчук // Агропромислове виробництво Полісся. — 2012. — Вип. 5. — С. 61–64.
8. Бойко А.Л. Экология вирусов растений / А.Л. Бойко. — К.: Вища школа, 1990. — 166 с.
9. Калинин Ф.Л. Методы культуры тканей в физиологии и биохимии культурных растений / Ф.Л. Калинин, В.В. Сарнацкая, В.Е. Полищук. — К.: Наукова думка, 1980. — 488 с.
10. Розробити новітні генетико-селекційні підходи отримання цінних за якісними і кількісними ознаками генотипів хмелю екологічно стійких до глобальних змін клімату: Звіт про НДР (пром.) / ІСГП НААН. — Житомир, 2013. — 59 с.

ЕНЕРГООЩАДНА ТЕХНОЛОГІЯ ВИРОЩУВАННЯ САДЖАНЦІВ ХМЕЛЮ З ЗАКРИТОЮ КОРЕНЕВОЮ СИСТЕМОЮ В КОНТЕЙНЕРАХ

Розробник — Інститут сільського господарства Полісся НААН,
автор — Юрківський Й.М., Ковальов В.Б., Стецюк О.П.

Сучасні вимоги до технологічних процесів створення і ведення культури маточних та промислових насаджень передбачають розробки нових та удосконалень існуючих технологій вирощування саджанців хмелю з закритою кореневою системою, в тому числі вегетуючих.

У випробуваних жорсткостінних пластикових контейнерах об'ємом 860 см³ і сітчасті еластичні контейнери при вирощуванні вегетуючих саджанців хмелю із закритою кореневою системою створювались оптимальні умови росту і розвитку рослин та формування саджанців, відповідаючи нормам стандарту.

Оптимальний варіант використання сітчастих контейнерів — сітка-мішок розміром 18×28 см з об'ємом субстрату 2000 см³, з висадкою отриманих вегетуючих саджанців безпосередньо на хмелеплантаті разом з контейнером.

Сітчастий контейнер доцільно використовувати для вирощування вегетуючих саджанців весняно-літніх строків садіння промислових насаджень.

Прогнозована економія витрат при вирощуванні в сітчастих контейнерах становитиме 5,9 тис. грн на 1 га за рахунок скорочення витрат і матеріалів на дезинфекцію жорсткостінних контейнерів, їх тимчасове зберігання і часткову утилізацію, а також скорочення трудових витрат при садінні.

**За додатковою інформацією звертатися за адресою:
ІНСТИТУТ СІЛЬСЬКОГО ГОСПОДАРСТВА ПОЛІССЯ НААН.**

**10007, Україна, м. Житомир, шосе Київське, 131,
тел.: (0412) 42-92-31, Юрківський Й.М. E-mail: isgp.org.ua/**