

УДК 573.174.578.22.615.32

Клональне мікророзмноження індау посівного

 В. І. Войтовська¹,  А. В. Заболотна²,  В. В. Кецкало³,  З. І. Ковтунюк³

¹Інститут біоенергетичних культур і цукрових буряків НААН України, вул. Клінічна, 25, м. Київ, 03110, Україна, e-mail: vvojtovska6@gmail.com

²Уманський державний педагогічний університет ім. Павла Тичини, вул. Садова, 2, м. Умань, Черкаська обл., 20300, Україна

³Уманський національний університет садівництва, вул. Інститутська, 1, м. Умань, Черкаська обл., 20305, Україна

Мета. Оптимізувати метод клонального мікророзмноження індау посівного (*Eruca sativa* Mill.). **Методи.** Для введення в умови *in vitro* використовували насіння сортів індау посівного 'Знахар' і 'Либідь'. Для стерилізації використовували розчини Білизни (гіпохлорит натрію, 35 %), етанолу (70 %) і хлориду ртуті (сулима, HgCl₂, 0,2 %), контроль – 5 %-й розчин хлораміна. Стерильний матеріал висаджували на рідкі й тверді агаризовані поживні середовища за прописами Мурасіге – Скуга (MS) та Гамборга – Евелєга (B5). За контроль на всіх етапах розмноження брали тверде поживне середовище MS із додаванням 0,5 мг/л БАП. З ауксинів і цитокінінів для розмноження та вкорінення додатково додавали 6-бензиламінопурин (БАП), бензиламінопурин (БА), кінетин, ІОК, НОК і ІМК. Контроль – ІОК (0,5 мг/л). **Результати.** За використання для стерилізації насіння сулеми було отримано 93 і 90 % стерильного матеріалу, однак при цьому не виявлено жодного життєздатного зразка. Найвищі показники стерильності матеріалу в досліджуваних сортів індау відзначено за використання розчину Білизни: 'Знахар' – 93 %, 'Либідь' – 89 %. Окрім того, життєздатність у цьому варіанті була на рівні 90 і 85 % відповідно. Вищі показники як кількості пагонів (8 і 6 шт.), так і їх висоти (8 і 3 см) обох досліджуваних сортів отримано на середовищі MS (середовище B5 – 5 і 5 шт. та 5 і 4 см відповідно). Найінтенсивніше процес пагоноутворення відбувався за використання кінетину. Зокрема, на середовищі за прописом MS сорт 'Знахар' формував 19 шт. пагонів, 'Либідь' – 17 шт., на B5 – 16 і 13 шт. відповідно. За концентрації 0,8 мг/л довжина пагонів досліджуваних сортів становила: ІОК – 10 і 8 см, НОК – 15 і 13 см, ІМК – 18 і 16 см відповідно. За збільшення концентрації до 1,2 мг/л отримано таку ж тенденцію. Кількість бічних коренів варіювала від 3 до 7 шт. на контрольному варіанті, на дослідних – від 4 до 11 шт. Найбільше їх формувалось за концентрації ІМК 1,2 мг/л. У разі додавання 0,8 мг/л НОК у сорту 'Знахар' формувалось 7 шт. коренів, у 'Либідь' – 5 шт., а за збільшення концентрації до 1,2 мг/л – 10 і 9 шт. відповідно. **Висновки.** Найгірші показники життєздатного матеріалу індау посівного було відзначено за стерилізації розчином сулеми (93 і 90 % стерильного і 0 % життєздатного насіння), а найкращі (93 і 89 % стерильного і 90 і 85 % життєздатного) – за використання комерційного розчину Білизни. За використання рідких типів поживних середовищ за різними прописами було отримано найменші показники висоти пагонів та їх кількості. Також у цих варіантах зафіксовано вітрифікацію рослин, їх уповільнений ріст і незначне пагоноутворення. Досліджувані сорти індау посівного найдовшу кореневу систему формували за додавання у поживні середовища ІМК. Водночас за таких умов, незалежно від концентрації, вони формують надто довгу кореневу систему, яка під час висаджування може травмуватися, тому доцільніше використовувати ІОК і НОК або їх поєднання.

Ключові слова: поживні середовища; концентрації; ауксини; цитокініни; пагоноутворення; ризогенез.

Вступ

Індау посівний (*Eruca sativa* Mill.) – однорічна рослина родини Капустяних. Індау культивують як овочеву, олійну та ефіроолійну культуру [1–5]. У насінні міститься ефірна олія, яка виділяється після попередньої ферментації (> 1 %). Насіння містить також 25–34 % напіввисихаючої жирної олії, у якій переважає ерукова кислота (20–44 %, названа за латинською назвою руколи – *Eruca*); є

також ліолева (12,0–24,9 %), ліоленова (до 17 %), олеїнова (до 18 %) та інші кислоти, стероїди (р-ситостерин, компестерин та ін.), тіоглікозиди. Також у наземній частині рослини наявні алкалоїди (0,07 %), флавоноїди (глікозиди, кемпферол, кверцетин, ізорамнетин) [6–10]. Насіннева продуктивність змінюється в межах від 0,84 до 1,15 т/га. Усе це дає змогу розглядати індау не тільки як овочеву, а й перспективну олійну культуру [11].

Розмножується рослина насінням, однак для створення нових вихідних форм доцільно використовувати біотехнологічні методи. В іноземних джерелах відзначається, що експланти індау доцільно стерилізували 70 % етанолом і 0,2 % HgCl [12]. На етапі клонального мікророзмноження для регенерації *Eruca sativa* використовували середовище Murashige і Skoog (MS) доповнене регуляторами росту БАП та НОК, у концентрації 2,0 та 1,0 мг/л відповідно. Деякі науковці [13, 14] указують, що доцільно додавати 0,5 мг/л гіберелінової кислоти та 1,0 мг/л НОК.

Установлено, що також можливо використовувати 5,0 мг/л БАП та 1,0 мг НОК. За таких концентрацій було досягнуто найбільшу кількість додаткових пагонів (5 шт.). Модифікації із додаванням кінетину (1,0 та 2,0 мг/л) дали змогу збільшити пагоноутворення до 8–10 шт. Подібні результати були отримані за використання кінетину в дещо менших концентраціях (0,05; 0,5 і 1,0 мг/л) і введенні ІОК (0,05; 0,5 та 1,0 мг/л), що забезпечувало формування більш ніж 10 пагонів [15–18].

Для *Eruca sativa* на етапі вкорінення використовували для отримання довжини коренів 2,0 мг кінетину і 1,0 мг НОК. Ця модифікація середовища забезпечувала найоптимальнішу їх довжину – до 12 см. Вивчення концентрацій кінетину (2,0 мг/л) і НОК (2,0; 5,0 та 10,0 мг/л) вказує на недоцільність збільшених норм (понад 2,0 мг/г) НОК. У дослідженнях відмічено, що пагони *in vitro* переносили на середовище MS, доповнене 1,0 мг/л індоцетової кислоти (ІОК) для вкорінення. Автори вказують, що недоцільно перевищувати концентрації 5,0 мг/л ІОК та понад 2,00 мг/л [19].

Найбільш широко висвітлено всі етапи клонального мікророзмноження індау посівного Afrin S., який вивчав ефект БА (1,0; 2,0; 3,0; 4,0 і 5,0 мг/л), ІОК (1,0; 2,0; 3,0; 4,0 і 5,0 мг/л) і NAA (0,5; 1,0; 1,5 і 2,0 мг/л) окремо або в комбінації для прямої та непрямой регенерації *in vitro*. Найвищий відсоток (80,00 %) спостерігався в середовищі MS, доповненому 3,0 мг/л БА. Максимальну кількість пагонів (2,60; 3,60 і 4,60 шт.) було отримано через 14, 21 і 28 діб після індукції паростків, відповідно при БА 4,0 мг/л. У комбінованому ефекті БА 4,0 мг/л + ІОК 3,0 мг/л отримано найвищий відсоток сходів (76,00 %) на 6 добу і максимальну кількість сходів (2,40; 3,0 і 3,40) на 14, 21 і 28 добу відповідно. Крім того, найбільшу кількість листків (3,20; 7,20 та 11,00) та довжину листків (2,60; 4,42 та 5,00 см) спостерігали у варіантах БА 4,0 мг/л + ІМК 4,0 мг/л та БА 4,0 мг/л + ІМК 2,0 мг/л на 14, 21 та 28 добу відповідно. Для регенерації коренів найкращий результат було зафіксовано при БА 4,0 мг/л + ІМК 2,0 мг/л у випадку відсотка коренів (68,00) і максимальної кількості коренів (3,60) у БА 4,0 мг/л + ІМК 4,0 мг/л. Максимальна кількість коренів (2,60, 3,60 і 4,60) і найбільша довжина коренів (1,26; 2,32 і 3,16 см) при 14, 21 і 28 було зареєстровано з ІОК 4,0 мг/л [12, 20].

В Україні відсутня інформація щодо розмноження індау біотехнологічними методами, а в іноземних джерелах здебільшого представлені результати із отримання калюсних форм, тому нами було проведено роботу із вивчення питання клонального мікророзмноження індау посівного.

Мета досліджень – оптимізувати метод клонального мікророзмноження індау посівного (*Eruca sativa* Mill.).

Матеріали та методика досліджень

Дослідження проводили в лабораторії біотехнології Інституту біоенергетичних культур і цукрових буряків НААН (рис. 1–4). Для введення в умови *in vitro* використовували насіння сортів індау посівного ‘Знахар’ (оригінація – Дослідна станція «Маяк» Інституту овочівництва і баштанництва НААН, Україна) і ‘Либідь’ (оригінація – ТОВ «НК ЕЛІТ», Україна).

Насіння індау пророщували та визначали енергію проростання та лабораторну схожість [21, 22], а надалі стерилізували і вводили в культуру *in vitro*. Для стерилізації використовували розчини 35 % Білизни (гіпохлорит натрію), 70 % етанолу і 0,2 % хлориду ртуті (сулема, HgCl₂), за контрольний варіант було обрано 5 % хлорамін. Експозиції – від 2 до 15 хв. Стерильний матеріал промивали в дистильованій воді та висаджували на рідкі й тверді агаризовані поживні середовища за прописами Мурасіге – Скуга та Гамборга – Евелега. За контроль на всіх етапах розмноження брали тверде живильне середовище за прописом Мурасіге – Скуга із додаванням 0,5 мг/л БАП. Для

вуглеводного живлення використовували сахарозу – 30 г/л. Приготування маточних розчинів і середовищ здійснювали згідно з методичними рекомендаціями [23–25].

Колби із середовищами поміщали в автоклав та стерилізували за температури 120 °С і тиску 0,75–1 атм. упродовж 25–30 хв. Із ауксинів і цитокинінів для розмноження та вкорінення додатково додавали 6-бензиламінопурін (БАП), бензиламінопурін (БА), кінетин, ІОК, НОК, ІМК. Концентрації речовин від 0,3 до 2,0 мг/л. У контрольного варіанту було обрано 0,5 мг/л ІОК.

Для оцінювання матеріалу на кожний варіант у 10 колб висаджували по п'ять рослин (50 шт.). У дослідах визначали: схожість і енергію проростання насіння (%); кількість стерильних і життєздатних насінин (%); висоту (см) і пагоноутворення (шт.); довжину (см) і кількість бічних коренів (шт.).

Матеріал культивували за температури 24 ± 2 °С та фотоперіоді 16 годин з інтенсивністю освітлення 3500–4000 лк і відносній вологості 70–80 %.

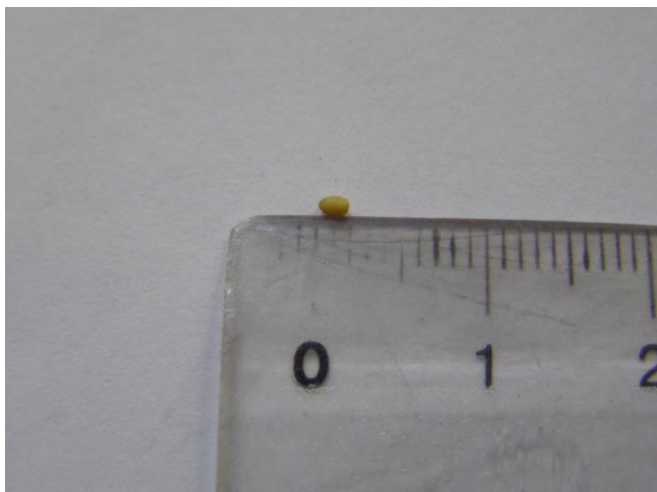


Рис. 1. Насіння індау

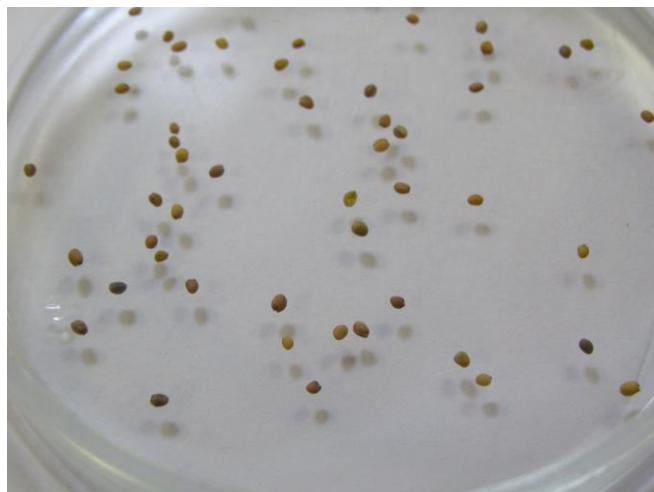


Рис. 2. Стерильне насіння індау



Рис. 3. Клони індау на поживному середовищі для пагоноутворення



Рис. 4. Клони індау з різною кількістю пагонів

Результати досліджень

У лабораторних умовах було визначено енергію проростання і схожість насіння індау посівного, які становили відповідно 88 і 98 % у сорту 'Знахар' і 85 і 95% у сорту 'Либідь' відповідно.

Установлено, що на контрольному варіанті стерильність сортів варіювала від 75 до 91 %, а життєздатність – від 73 до 86 %.

За використання стерилізувальної речовини сулема було отримано 93 і 90 % стерильного матеріалу. При цьому незалежно від концентрацій речовини не отримано жодного життєздатного зразка. Тому вважаємо, що використовувати сулему для стерилізації насіння індау посівного недоцільно (рис. 5).

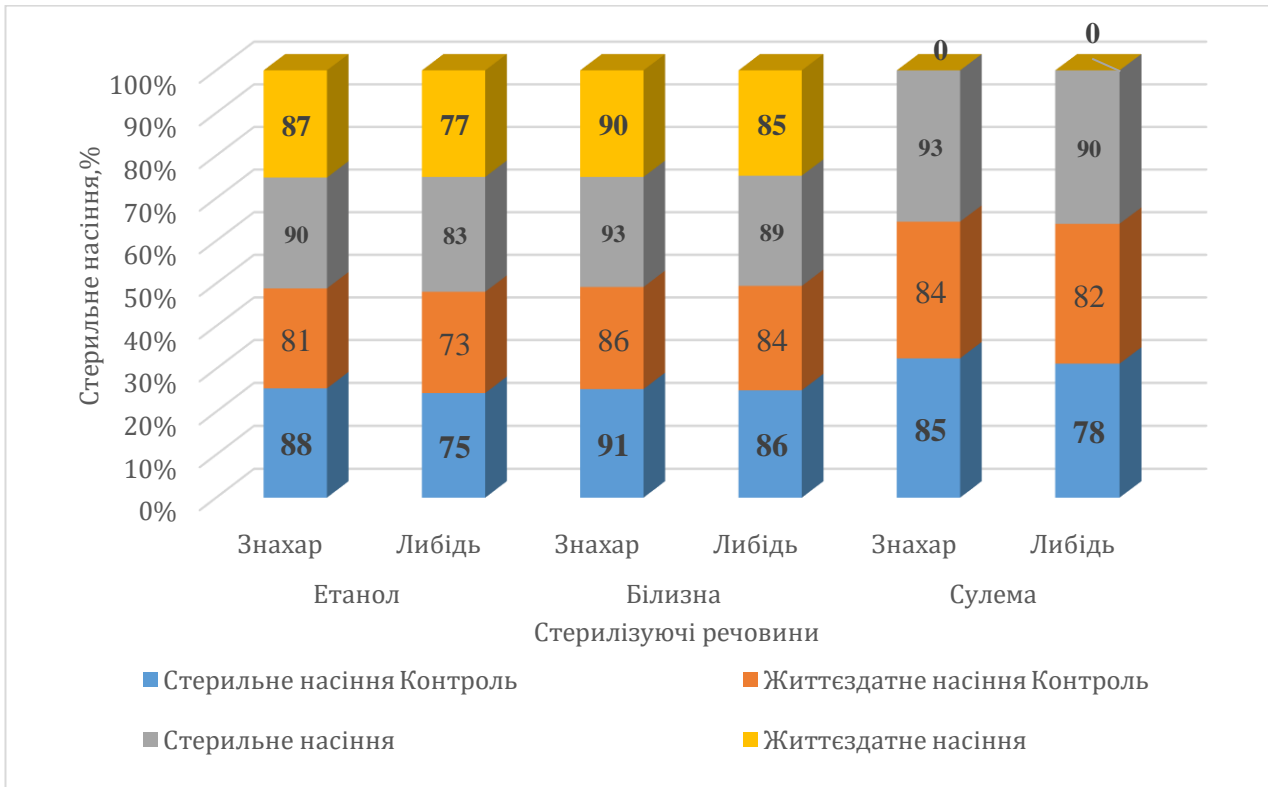


Рис. 5. Вплив типу стерилізувальної речовини на стерильність і життєздатність сортів індау посівного, %

Слід зазначити, що за використання етанолу стерильність насіння у сорту 'Знахар' становила 81, у сорту 'Либідь' – 73 %, життєздатність – 87 та 77 % відповідно.

Найвищі показники стерильності матеріалу в досліджуваних сортів індау відзначено за використання розчину Білізни: 'Знахар' – 93 %, 'Либідь' – 89 %. Окрім того, життєздатність у цьому варіанті була на рівні 90 і 85 % відповідно.

Таким чином, найгірші показники життєздатного матеріалу індау посівного було отримано за стерилізації розчином сулеми, а найкращі – за використання комерційного розчину Білізни.

Для наступного етапу клонального мікророзмноження було використано різні типи поживного середовища за прописами Мурасіге – Скуга та Гамборга – Евелега.

Дослідженнями встановлено, що на контрольному варіанті у сорту 'Знахар' висота пагонів становила 7 см, а їхня кількість – 7 шт., а в сорту 'Либідь' – 5 см і 7 шт. відповідно.

За використання рідких типів поживних середовищ за різними прописами було отримано найменші показники висоти й пагоноутворення. Крім того, на цих варіантах відмічено вітрифікацію рослин та їх уповільнений ріст і незначне пагоноутворення.

Порівняння поживних середовищ дає змогу відзначити, що на середовищі Мурасіге – Скуга було отримано найвищі показники як кількості пагонів (8 і 6 шт.), так і їх висоти (8 і 3 см), ніж на середовищі Гамборга – Евелега (5 шт. та 5 і 4 см) (рис. 6).

Для збільшення кількості пагонів в агаризовані поживні середовища були додані цитокініни, а саме БАП, БА і кінетин. Аналізуючи дані, можна вказати, що найбільший вплив на досліджуваний показник було виявлено за використанні кінетину. Зокрема, на середовищі за прописом Мурасіге – Скуга у сорту 'Знахар' отримано 19 пагонів, а у сорту 'Либідь' – 17. Середовище Гамборга – Евелега за використання кінетину забезпечило пагоноутворення на рівні 16 і 13 шт. відповідно.

Результати досліджень вказують, що додавання БА у різні типи середовищ дає змогу отримати від 12 до 17 пагонів. Зокрема, у сортів 'Знахар' і 'Либідь' пагоноутворення становило 17 і 14 шт. (MS) та 14 і 12 шт. (B₅). Найменше пагоноутворення в обох сортів в усіх досліджуваних варіантах відбувалось за використання БАП.

Пагоноутворення у сорту 'Знахар' на живильному середовищі Мурасіге – Скуга було 15 шт., а на Гамборга – Евелега – 12 шт., а в сорту 'Либідь' – 12 і 10 шт. відповідно (рис. 7).

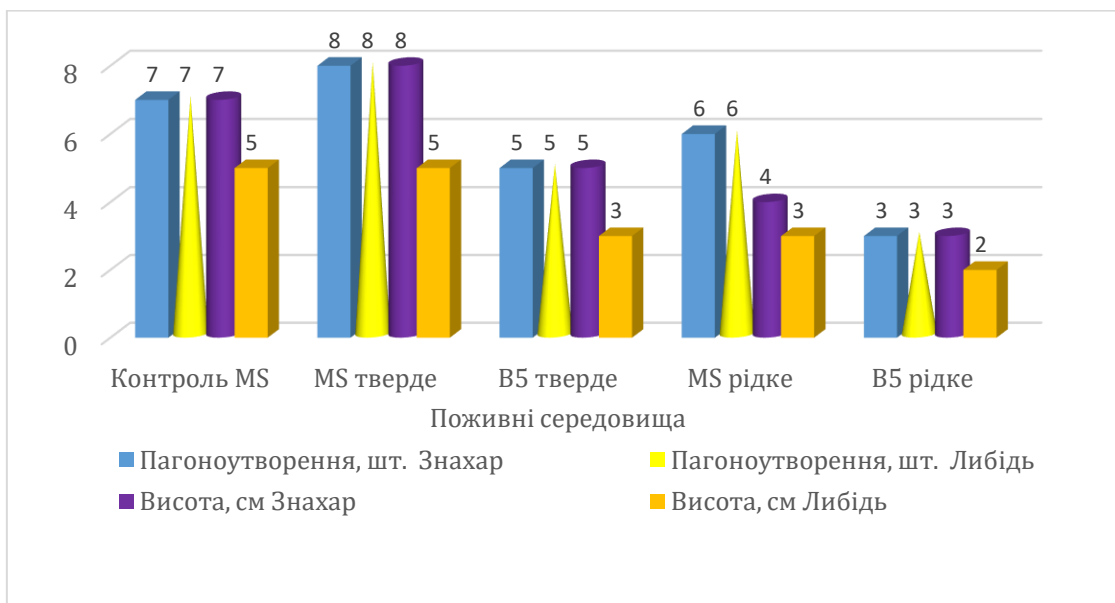


Рис. 6. Вплив типу поживного середовища на висоту пагонів і пагоноутворювальну здатність сортів індау посівного

Значний вплив на формування якісної кореневої системи мають ауксини. Дослідженнями встановлено, що досліджувані сорти індау посівного найдовшу кореневу систему формували за додавання в поживні середовища ІМК. Зокрема, у сорту 'Знахар' за його використання показник становив 18 і 24 см, а у сорту 'Либідь' – 16 і 22 см. Найменшу довжину кореневої системи індау посівного – від 8 до 23 см було отримано за використання ІОК. Модифікація поживних середовищ НОК вказує, що у сортів 'Знахар' і 'Либідь' корені досягали завдовжки 17 і 15 см. Найменші показники було відзначено у контрольному варіанті.

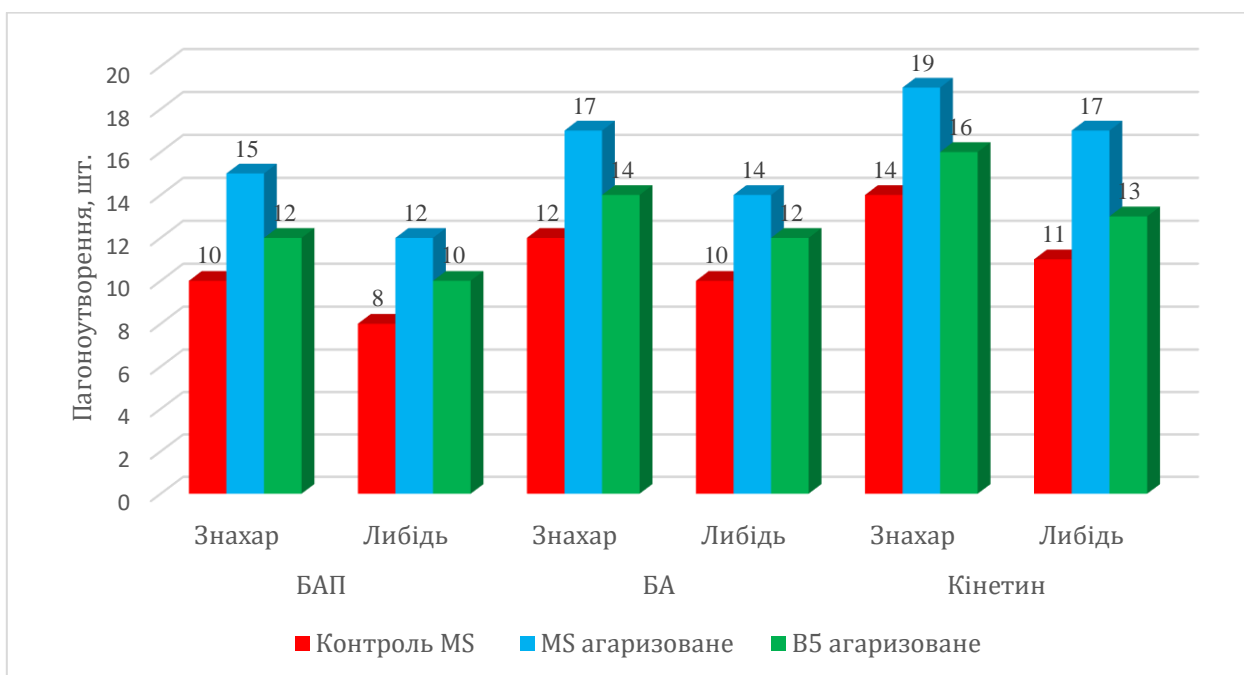


Рис. 7. Вплив цитокінінів на пагоноутворювальну здатність сортів індау посівного

Установлено, що на довжину кореневої системи впливала й концентрація ауксинів. Зокрема, за використання концентрації 0,8 мг/л у досліджуваних сортах зафіксовано такі показники: ІОК – 10 і 8 см, НОК – 15 і 13 см, ІМК – 18 і 16 см. У разі збільшення концентрації до 1,2 мг/л отримано таку ж саму тенденцію. Доцільно відзначити, що незалежно від виду ауксинів та їх концентрації сорт 'Знахар' переважав сорт 'Либідь' за всіма досліджуваними показниками.

Отримані дані дають змогу вказати, що за використання ІМК, причому незалежно від його концентрації, сорти індау посівного формують надто довгу кореневу систему, яка під час

висаджування може травмуватися, тому вважаємо, що доцільніше використовувати ІОК і НОК або їх поєднання (рис. 8).

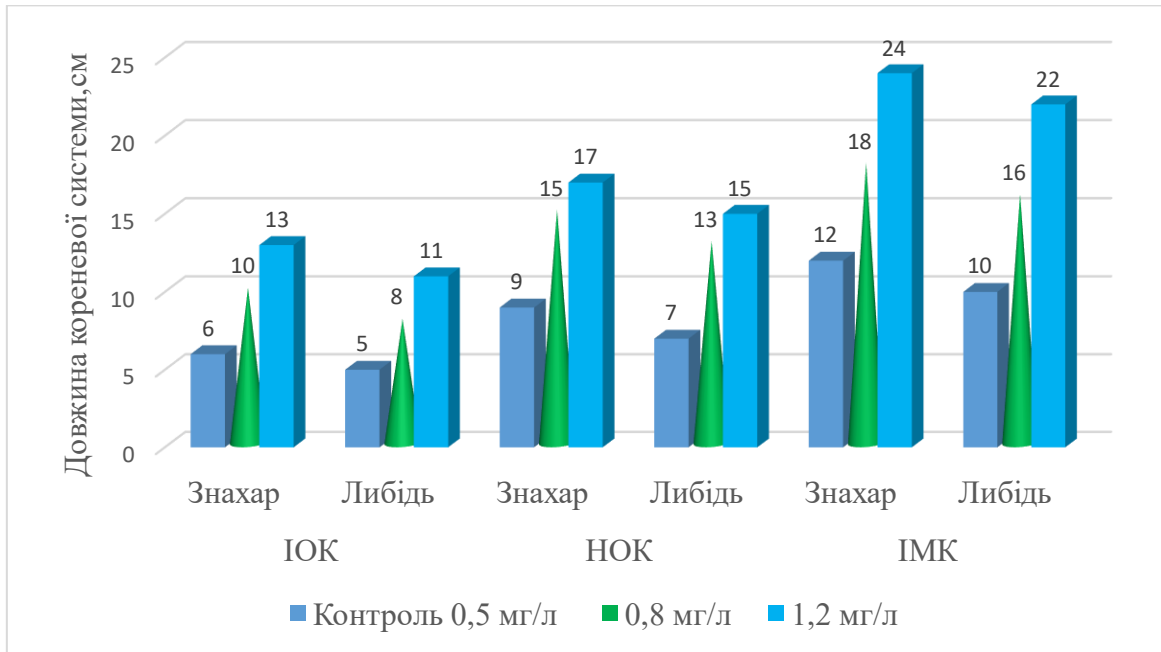


Рис. 8. Вплив ауксинів на довжину кореневої системи сортів індау посівного

Ауксини впливають не тільки на формування довжини кореневої системи, але й на кількість бічних коренів. Досліджено, що у сортів індау посівного кількість бічних коренів варіювала від 3 до 7 шт. на контрольному варіанті, а на дослідних – від 4 до 11 шт.

Найбільшу кількість додаткових корінців було сформовано за концентрації 1,2 мг/л ІМК. Крім того, за концентрації його 0,8 мг/л у сорту 'Знахар' було отримано 9 коренів, а у сорту 'Либідь' – 8. Найменш показники в обох досліджуваних сортів було відмічено за використання ІОК незалежно від концентрації (0,8 мг/л – 4 і 6 шт.; 1,2 мг/л – 5 і 8 шт.). За додавання НОК у концентрації 0,8 мг/л у сорту 'Знахар' було сформовано 7 коренів, а в 'Либідь' – 5. Збільшення концентрації до 1,2 мг/л забезпечило отримання 10 і 9 шт. відповідно (рис. 9).

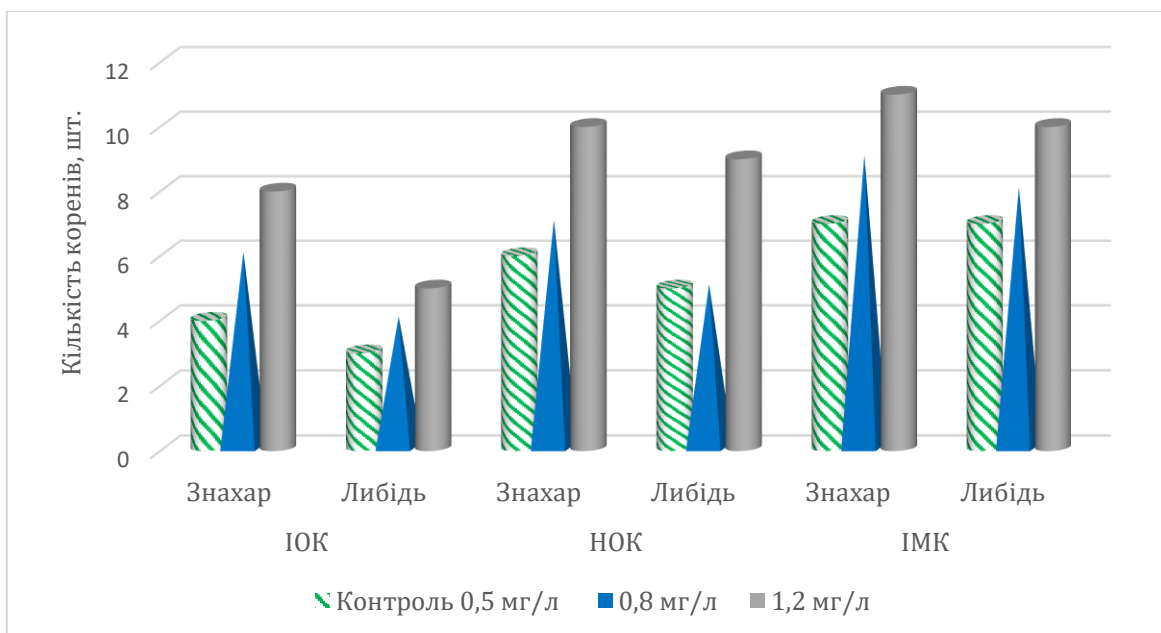


Рис. 9. Вплив ауксинів на кількість бічних коренів сортів індау посівного

Варто зазначити, що збільшення концентрації ауксинів понад 1,2 мг/л не забезпечує отримання додаткової кількості бічних коренів та істотно впливає на довжину кореневої системи в обох досліджуваних сортів індау посівного.

Висновки

Найгірші показники життєздатного матеріалу індау посівного було відзначено за стерилізації розчином сулеми (93 і 90 % стерильного і 0 % життєздатного насіння), а найкращі (93 і 89 % стерильного і 90 і 85 % життєздатного) – за використання комерційного розчину Білизни.

За використання рідких типів поживних середовищ за різними прописами було отримано найменші показники висоти пагонів та їх кількості. Також у цих варіантах зафіксовано вітрифікацію рослин, їх уповільнений ріст і незначне пагоноутворення.

Досліджувані сорти індау посівного найдовшу кореневу систему формували за додавання у поживні середовища ІМК. Водночас за таких умов, незалежно від концентрації, вони формують надто довгу кореневу систему, яка під час висаджування може травмуватися, тому доцільніше використовувати ІОК і НОК або їх поєднання.

Використана література

- Капустян В. В. Збереження інтродукційного та аборигенного рослинного різноманіття в умовах культури. *Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Серія: Інтродукція та збереження рослинного різноманіття*. 2000. Вип. 3. С. 5–7.
- Корнієнко С. І., Хареба В. В., Хареба О. В., Позняк О. В. Особливості технології вирощування нетрадиційних овочевих культур. Вінниця: Нілан-ЛТД, 2015. 133 с.
- Хареба О. В., Позняк О. В. Індау посівний і дворяник тонколистий: перспективи дослідження і освоєння в Україні. *Овочівництво і багтанництво*. 2015. Вип. 61. С. 311–319.
- Улянич О. І., Сорока Л. В., Діденко І. А. Конвеєрне вирощування товарної зелені індау посівного в умовах Правобережного Лісостепу України. *Овочівництво і багтанництво*. 2017. Вип. 63. С. 336–343.
- Хареба О. В., Рибак Я. Я. Підвищення економічної ефективності виробництва малопоширених овочевих культур. *Економіка АПК*. 2018. № 12. С. 31–41. doi: 10.32317/2221-1055.201812031
- Улянич О. І., Яновський Ю. П., Алексейчук О. М. та ін. Урожайність зелені руколи посівної і шпинату городнього залежно від сорту в Правобережному Лісостепу України. *Збірник наукових праць Уманського національного університету садівництва*. 2015. Вип. 87, Ч. 1. С. 182–188.
- Корнієнко С. І., Хареба О. В., Горова Т. К. та ін. Ботанічні та профілактичні особливості малопоширених видів овочевих рослин. *Сучасний стан та перспективи розвитку овочівництва (до 70-річчя заснування інституту та пам'яті видатного вченого П. Ф. Сокола): матеріали міжнародної науково-практичної конференції (26 липня 2017 р., сел. Селекційне, Харківської обл.)*. Харків: Плеяда, 2017. С. 93–96.
- Awadelkareem A. M., Al-Shammari E., Elkhalfa A. O. et al. Anti-adhesion and antibiofilm activity of *Eruca sativa* Miller extract targeting cell adhesion proteins of food-borne bacteria as a potential mechanism: Combined in vitro-in silico approach. *Plants*. 2022. Vol. 11, Iss. 5. Article 610. doi: 10.3390/plants11050610
- Li S., Wang Y., Dong S. et al. Biodiesel production from *Eruca sativa* gars vegetable oil and motor, emissions properties. *Renewable Energy*. 2009. Vol. 34, Iss. 7. P. 1871–1876. doi: 10.1016/j.renene.2008.12.020
- Barillari J., Canistro D., Paolini M. et al. Direct antioxidant activity of purified glucoerucin, the dietary secondary metabolite contained in rocket (*Eruca sativa* Mill.) seeds and sprouts. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 2005. Vol. 53, Iss. 7. P. 2475–2482. doi: 10.1021/jf047945a
- Кунах В. А. Біотехнологія лікарських рослин. Генетичні та фізіологічно-біохімічні основи. Київ: Логос, 2005. 730 с.
- Afrin S. *In vitro* plantlet regeneration of rucola (*Eruca sativa*): Doctoral dissertation. Department of Biotechnology, Sher-e-Bangla Agricultural University, Dhaka, Bangladesh, 2017. S-177.
- Parkash S., Chowdhury J. B., Jain R. K. Callus initiation and regeneration potential in different genotypes of *Eruca sativa*. *Current Science*. 1989. Vol. 58, Iss. 17. P. 979–980.
- Bhatia S. Plant tissue culture. *Modern Applications of Plant Biotechnology in Pharmaceutical Sciences*. Burlington: Elsevier Science, 2015. P. 31–107. doi: 10.1016/B978-0-12-802221-4.00002-9
- Neriman T. B., Mehmet E. I., Mahmut T. Mineral content of the rocket plant (*Eruca sativa*). *African Journal of Biotechnology*. 2011. Vol. 10, Iss. 64. P. 14080–14082. doi: 10.5897/AJB11.2171
- Murch S. J., Peiris S. E., Liu C. Z., Saxena P. K. *In vitro* conservation and propagation of medicinal plants. *Biodiversity*. 2004. Vol. 5, Iss. 2. P. 19–24. doi: 10.1080/14888386.2004.9712725
- Leela T., Naresh B., Srikanth M. Morphological, physic-chemical and micropropagation studies in *Jatropha curcas* L. and RAPD analysis of the regenerants. *Applied Energy*. 2011. Vol. 88, Iss. 6. P. 2071–2079. doi: 10.1016/j.apenergy.2010.12.080
- Batra A., Dhingra M. Production of plantlets of *Eruca sativa* in vitro. *Journal of Phytology Research*. 1991. Vol. 4, Iss. 1. P. 73–77.

19. Abbasi B. H., Ali J., Ali M. et al. Free radical scavenging activity in in vitro-derived tissues of *Eruca sativa*. *Toxicology and Industrial Health*. 2016. Vol. 32, Iss. 1. P. 98–105. doi: 10.1177/0748233713498450
20. Bhojwani S. S., Dantu P. K. Micropropagation. *Plant Tissue Culture: An Introductory Text*. New York, NY : Springer, 2013. P. 245–274. doi: 10.1007/978-81-322-1026-9_17
21. ДСТУ 2240-93. Насіння сільськогосподарських культур. Сортові та посівні якості. Технічні умови. Київ : Держстандарт України, 1994. 78 с.
22. ДСТУ 4138-2002. Насіння сільськогосподарських культур. Методи визначення якості. Київ : Держспоживстандарт України, 2003. 156 с.
23. Lohar P. S. *Textbook of Biotechnology*. Hawthorne, CA : MJP Publisher, 2019. 774 p.
24. Калинин Ф. Л., Кушнир Г. П., Сарнацька В. В. *Технология микроклонального размножения растений*. Киев : Наукова думка, 1992. 232 с.
25. Мацкевич В. В., Роговский С. В., Власенко М. Ю., Черняк В. М. *Основы биотехнологии растений*. Біла Церква : БНАУ, 2010. 135 с.

References

1. Kapustian, V. V. (2000). Preservation of introduced and indigenous plant diversity in cultural conditions. *Bulletin of Taras Shevchenko Kyiv National University. Series: Introduction and conservation of plant diversity*, 3, 5–7. [In Ukrainian]
2. Kornienko, S. I., Khareba, V. V., Khareba, O. V., & Pozniak, O. V. (2015). *Peculiarities of the technology of growing non-traditional vegetable crops*. Vinnytsia: Nilan-LTD. [In Ukrainian]
3. Khareba, E. V., & Poznyak, A. V. (2015). *Eruca sativa* and *Diplotaxis tenuifolia*: prospects for research and development in Ukraine. *Vegetable and Melon Growing*, 61, 311–319. [In Ukrainian]
4. Ulianych, O. I., Soroka, L. V., & Didenko, I. A. (2017). Conveyor cultivation of commercial greens of indau for sowing in the conditions of the Right Bank Forest Steppe of Ukraine. *Vegetable and Melon Growing*, 63, 336–343. [In Ukrainian]
5. Khareba, O. V., & Rybak, Ya. Ya. (2018). Increase of economic efficiency of production of less-common vegetable crops. *The Economy of Agro-Industrial Complex*, 12, 31–41. doi: 10.32317/2221-1055.201812031 [In Ukrainian]
6. Ulianych, O. I., Yanovskyi, Y. P., Alekseichuk, O. M., Soroka, L. V., & Prudkyi, R. I. (2015). Yields greenery planting arugula and spinach, depending on the variety in the Right Bank Forest-Steppe of Ukraine. *Collection of Scientific Papers of Uman National University of Horticulture*, 87(1), 182–188. [In Ukrainian]
7. Kornienko, S. I., Khareba, O. V., Horova, T. K., Cherkasova, V. K., Teryokhina, L. A., & Chervona, L. L. (2017). Botanical and prophylactic features of uncommon types of vegetable plants. In *The current state and prospects for the development of vegetable growing (to the 70th anniversary of the founding of the institute and the memory of the outstanding scientist P.F. Sokol): materials of the international scientific and practical conference* (pp. 93–96). Kharkiv: Pleiada. [In Ukrainian]
8. Awadelkareem, A. M., Al-Shammari, E., Elkhalfifa, A. O., Adnan, M., Siddiqui, A. J., Mahmood, D., ... Ashraf, S. A. (2022). Anti-Adhesion and Antibiofilm Activity of *Eruca sativa* Miller Extract Targeting Cell Adhesion Proteins of Food-Borne Bacteria as a Potential Mechanism: Combined In Vitro-In Silico Approach. *Plants*, 11(5), Article 610. doi: 10.3390/plants11050610
9. Barillari, J., Canistro, D., Paolini, M., Ferroni, F., Pedulli, G. F., Iori, R., & Valgimigli, L. (2005). Direct Antioxidant Activity of Purified Glucoerucin, the Dietary Secondary Metabolite Contained in Rocket (*Eruca sativa* Mill.) Seeds and Sprouts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(7), 2475–2482. doi: 10.1021/jf047945a
10. Kunakh, V. A. (2005). *Biotechnology of medicinal plants. Genetic and physiological-biochemical bases*. Kyiv: Logos. [In Ukrainian]
11. Afrin, S. (2017). *In vitro* plantlet regeneration of rucola (*Eruca sativa*) (Doctoral dissertation). Department of Biotechnology, Sher-e-Bangla Agricultural University, Dhaka, Bangladesh.
12. Parkash, S., Chowdhury, J. B., & Jain, R. K. (1989). Callus initiation and regeneration potential in different genotypes of *Eruca sativa*. *Current Science*, 58(17), 979–980.
13. Bhatia, S. (2015). *Plant Tissue Culture*. In *Modern Applications of Plant Biotechnology in Pharmaceutical Sciences* (pp. 31–107). Burlington: Elsevier Science. doi: 10.1016/b978-0-12-802221-4.00002-9
14. Neriman, T. B., Mehmet, E. I., & Mahmut, T. (2011). Mineral content of the rocket plant (*Eruca sativa*). *African Journal of Biotechnology*, 10(64), 14080–14082. doi: 10.5897/ajb11.2171
15. Murch, S. J., Peiris, S. E., Liu, C.-Z., & Saxena, P. K. (2004). *In vitro* conservation and propagation of medicinal plants. *Biodiversity*, 5(2), 19–24. doi: 10.1080/14888386.2004.9712725
16. Leela, T., Naresh, B., Srikanth Reddy, M., Madhusudhan, N. Ch., & Cherku, P. D. (2011). Morphological, physico-chemical and micropropagation studies in *Jatropha curcas* L. and RAPD analysis of the regenerants. *Applied Energy*, 88(6), 2071–2079. doi: 10.1016/j.apenergy.2010.12.080

18. Batra, A., & Dhingra, M. (1991). Production of plantlets of *Eruca sativa* *in vitro*. *Journal of Phytology Research*, 4(1), 73–77.
19. Abbasi, B. H., Ali, J., Ali, M., Zia, M., Bokhari, S. A., & Khan, M. A. (2013). Free radical scavenging activity in *in vitro*-derived tissues of *Eruca sativa*. *Toxicology and Industrial Health*, 32(1), 98–105. doi: 10.1177/0748233713498450
20. Bhojwani, S. S., & Dantu, P. K. (2013). Micropropagation. In *Plant Tissue Culture: An Introductory Text* (pp. 245–274). New York, NY: Springer. doi: 10.1007/978-81-322-1026-9_17
21. DSTU 2240-93. *Seeds of agricultural crops. Varietal and sowing qualities. Specifications*. (1994). Kyiv: Derzhstandard of Ukraine. [In Ukrainian]
22. DSTU 4138-2002. *Seeds of agricultural crops. Methods of determining quality*. (2003). Kyiv: Derzhspozhyvstandard of Ukraine. [In Ukrainian]
23. Lohar, P. S. (2019). *Textbook of Biotechnology*. Hawthorne, CA: MJP Publisher.
24. Kalinin, F. L., Kushnir, G. P., & Sarnatska, V. V. (1992). Technology of microclonal propagation of plants. Kyiv: Naukova dumka. [In russian]
25. Matskevych, V. V., Rohovskyi, S. V., Vlasenko, M. Yu., & Cherniak, V. M. (2010). *Fundamentals of plant biotechnology*. Bila Tserkva: BNAU. [In Ukrainian]

UDC 573.174. 578.22. 615.32

Voitovska, V. V.¹, Zabolotna, A. V.², Ketskalo, V. V.³, & Kovtuniuk, Z. I.³ (2023). Clonal micropropagation of rocket (*Eruca sativa* Mill.). *Advanced Agritechnologies*, 11(1). <https://doi.org/10.47414/na.11.1.2023.277429> [In Ukrainian]

¹*Institute of Bioenergy Crops and Sugar Beet, NAAS of Ukraine, 25 Klinichna St., Kyiv, 03110, Ukraine, e-mail: vvoitovska6@gmail.com*

²*Pavlo Tychyna Uman State Pedagogical University, 2 Sadova St., Uman, Cherkasy region, 20300, Ukraine*

³*Uman National University of Horticulture, 1 Instytutska St., Uman, Cherkasy region, 20305, Ukraine,*

Purpose. To optimize the method of clonal micropropagation of rocket (*Eruca sativa* Mill.). **Methods.** Seeds of rocket cultivars 'Znakhar' and 'Lybid' were used for introduction into *in vitro* culture. Solutions of sodium hypochlorite (35%), ethanol (70%) and HgCl₂ (0.2%) were used for sterilization. A 5% solution of chloramine served as a control. Sterile material was planted on liquid and solid agar nutrient media according to Murashige-Skoog (MS) and Hamborg-Eveleg (B5). A solid nutrient medium MS supplemented with 0.5 mg/l BAP was used as a control at all stages of reproduction. 6-benzylaminopurine (BAP), benzylaminopurine (BA), kinetin, IAA, NAA and IBA were added to media for reproduction and rooting. The control was IAA (0.5 mg/l). **Results.** Sterilization of seeds with HgCl₂ resulted in obtaining 93 and 90% sterile material; however, no viable seeds were found. The highest indicators of material sterility in the studied rocket varieties were noted for the use of sodium hypochlorite solution: in 'Znakhar' 93% and 'Lybid' 89%. In addition, viability in this treatment was at the level of 90 and 85%, respectively. Higher indicators of both the number of shoots (8 and 6) and their height (8 and 3 cm) of both studied varieties were obtained on the MS medium (medium B5 – 5 and 5 shoots, and 5 and 4 cm, respectively). The most intensive shoot formation occurred with the use of kinetin. In particular, on the MS medium, variety 'Znakhar' formed 19 shoots, 'Lybid' 17 shoots; on B5 – 16 and 13 shoots, respectively. At a concentration of 0.8 mg/l, the length of the shoots of the studied varieties was with IAA 10 and 8 cm, with NAA 15 and 13 cm and with IBA 18 and 16 cm, respectively. The same tendency was observed when the concentration increased to 1.2 mg/l. The number of lateral roots varied from 3 to 7 in the control and from 4 to 11 in the experimental treatments. Most of the roots were formed at an IBA concentration of 1.2 mg/l. In the case of adding 0.8 mg/l of NAA, 7 roots were formed in 'Znakhar' and 5 in 'Lybid'; when increasing the concentration to 1.2 mg/l the number was 10 and 9, respectively. **Conclusions.** The worst indicators of viable seed material were obtained after sterilization with a HgCl₂ solution (93 and 90% of sterile and 0% of viable seeds) and the best with sodium hypochlorite solution (93 and 89% of sterile and 90 and 85% of viable seeds). On the liquid nutrient media according to different prescriptions, the smallest indicators of the height of shoots and their number were obtained. Also, in these treatments, the vitrification of plants, their slow growth and insignificant shoot formation were observed. The longest root system was formed in the studied rocket varieties with adding IBA to the nutrient medium. At the same time, under such conditions, regardless of the IBA concentration, plants formed too long root system that can be injured during planting; therefore, it is more appropriate to use IAA and NAA or their combination.

Keywords: nutrient media; concentrations; auxins; cytokinins; shoot formation; rhizogenesis.

Надійшла / Received 14.03.2023
Погоджено до друку / Accepted 24.03.2023