

Г.В. Мозговська, аспірант*,
Інститут овочівництва і баштанництва НААН

**ВПЛИВ ФІТОГОРМОНАЛЬНОГО СКЛАДУ ПОЖИВНОГО
СЕРЕДОВИЩА МС ТА ГЕНОТИПІВ НА МОРФОГЕНЕЗ
SOLANUM MELONGENA L. В КУЛЬТУРІ *IN VITRO***

Для проведення клітинної селекції баклажана рекомендовано регенераційну систему з повним культиваційним циклом: режими стерилізації вихідного матеріалу, поживні середовища для індукції морфогенної калюсної тканини, спосіб розмноження і укорінення пробіркових рослин баклажана, параметри адаптації рослин-регенерантів до ґрунтових умов. Середовище МС з додаванням 2 мл/л ІОЦК + 4 мл/л 6-БАП забезпечило інтенсивне утворення морфогенного калюсу і індукцію мікропагонів методом прямого органогенезу. Найкращий донорський орган для індукції калюсогенезу – тканини сім'ядольних листків 7-денних стерильних проростків.

Ключові слова: баклажан, добір, клітинна селекція, регенерація, органогенез

Вступ. За останні роки на національному овочевому ринку об'єми виробництва продукції пасльонових культур, у тому числі і баклажана, постійно збільшуються. У той самий час значні втрати врожайності і якості плодів цієї культури відбуваються внаслідок ураження рослин хворобами в'янення [1]. Загальноприйняті заходи щодо обмеження розповсюдження цих хвороб такі, як застосування фунгіцидів чи сівоміна є економічно недоцільними. Застосування традиційних методів селекції в умовах стрімких змін клімату не дозволяє своєчасно створювати стійкі сорти, тому важливого значення набуває застосування сучасних біотехнологічних методів. Важливу роль у доборі та створенні форм, які характеризуються стійкістю до різних фітопатогенів та абіотичних стресів відіграє клітинна селекція – добір клітин з популяцій під впливом на них селективних факторів. Головною перевагою застосування клітинної селекції у створенні технологій, які здатні прискорити традиційний селекційний процес, є

* Науковий керівник: Т.В. Івченко, канд. с.-г. наук

© Мозговська Г.В., 2011.

можливість добирати на основі сомаклональних варіацій або індукуваних мутацій в жорстких селективних умовах клітини, що характеризуються якісними ознаками [2]. Дослідження з клітинної селекції баклажана проводять в Китаї, Японії, Франції, Туреччині [3, 4, 5]. Викладені в наукових публікаціях методики не є ефективними в роботі з українськими сортами, оскільки їх розроблено для генотипів з іншими генетичними параметрами.

Мета. Для проведення клітинної селекції баклажана проти хвороб дослідити особливості калюсогенезу і морфогенезу різноманітних первинних експлантатів і генотипів та розробити ефективні регенераційні системи для добору селекційно цінних форм баклажана в культурі *in vitro*.

Методика дослідження. Дослідження виконувались при використанні стандартного біотехнологічного обладнання за загальноприйнятими біотехнологічними методами [6, 7, 8].

У якості живильного середовища застосовували базове середовище Мурасиге-Скуга (МС) [9] з додаванням фітогормонів за схемами дослідів та 30% сахарози, pH середовища 6,8. Вихідним матеріалом слугували два генотипи насіння баклажана б. к. 12t і б. к. 13t. Кількість об'єктів в одному варіанті – 20 шт. Для введення насіння баклажана до стерильної культури провели його стерилізацію у розчині гіпохлориду натрію у концентрації 2:1, з експозицією обробки – 25 хв. Після стерилізації насіння промили 5 разів автоклавованою водою. Для індукції калюсогенезу використали гіпокотелі та сім'ядолі 7-денних стерильних простоків. Матеріал культивували за температури 23...25°C, фотoperіод 16 годин освітлення, 8 годин темряви, освітлення – 2 тис. люкс. Обліки здійснювали візуально після 30 днів культивування. Кожний пасаж становив 30 діб. Абсолютний приріст калюсу визначали за формулою:

$$V = V_t - V_0,$$

де V – абсолютний приріст об'єму,

V_0 – початковий об'єм калюсу,

V_t – кінцевий об'єм калюсу

Отриманий калюс пересаджували на середовище, яке містило фітогормони у концентрації ІОцК-2 + БАП-4 мг/л. Для укорінення – на безгормональне середовище МС.

Результати дослідження. Індукція калюсогенезу розпочиналась через 30 діб. Калюс був щільний, структурований, світло-фіолетового кольору. Використане у досліді модифіковане середовище МС, доповнене БАП (0,5; 1; 4) та НОцК (1; 2) мг/л в різних співвідношеннях, стабільно індукували розвиток калюсної тканини в обох досліджував-

них генотипах з експлантатів сім'ядолей (табл. 1). Максимальний середній діаметр ($641,42 \pm 0,83$ мм³), був у середовищі, модифікованому додаванням ІОцК – 2 мг/л та БАП – 1 мг/л. Установлено, що середовище ІОцК-2 + БАП-4 мг/л забезпечило надійну індукцію калюсогенезу (50 %) і виявилося найбільш ефективним для проведення скринінгу генотипів у селективних умовах чисельних циклів добору (до 4 пасажів). Це середовище також забезпечило регенерацію органогенних новоутворень у 33,3% калюсів. Використані в досліді генотипи виявили різну реакцію на культивування в умовах *in vitro*, що вимагає оптимізації складу середовищ для різних генотипів. Тканини гіпокотелів на всіх досліджуваних варіантах поживних середовищ зі вмістом фітогормонів стабільно індукували калюс на двох використаних генотипах. Він мав дуже щільну структуру, і при подальшому культивуванні виявився неморфогенним на всіх дослідженіх варіантах.

У результаті проведення першого етапу досліду, з морфогенної калюсної тканини методом прямого органогенезу отримано рослини-регенеранти баклажана, які додатково розмножували шляхом живцювання, та підрошуvali в умовах *in vitro* на рідкому безгормональному середовищі МС + 30% сахарози. На цьому середовищі пробіркові рослини формували розвинену кореневу систему. Рослини-регенеранти розміром 7-9 см, 1 парою листків, довжиною коренів 3-4 см пересаджували для адаптації на різні субстрати: суміш ґрунту (торф : чорнозем – 1:1) та кокогрунт. На обох використаних субстратах прижилися 100 % пробіркових рослин. Через тиждень вони мали висоту 10-15 см і були висаджені у відкритий ґрунт (26 квітня), а інші – до теплиці (12 травня) для подальшого вирощування. Під час вегетаційного періоду здійснювали догляд за одержаними за допомогою біотехнологічних методів рослинами відповідно до загальноприйнятих для культури баклажана технологічних прийомів. З пробіркових рослин баклажана, вирощених як в теплиці, так і у відкритому ґрунті за 150 днів періоду вегетації отримали стиглі плоди з кондиційним насінням.

Висновки. Таким чином, для проведення клітинної селекції баклажана рекомендовано регенераційну систему з повним культиваційним циклом. Середовище МС з додаванням 2 мл/л ІОцК + 4 мл/л 6-БАП, яке забезпечує інтенсивне утворення морфогенного калюсу і індукцію мікропагонів методом прямого органогенезу.

Найкращим донорським органом для індукції калюсогенезу є тканини сім'ядольних листків 7-денних стерильних проростків. Тканини гіпокотелів мали низьку здатність до калюсогенезу на всіх дослідженіх варіантах.

Бібліографія

1. Шабетя О. М. Вихідний матеріал для створення гетерозисних гібридів баклажанів: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. с.-г. наук : спец. 06.01.05 – «Селекція і насінництво» / О. М. Шабетя. – Х., 1999. – 19 с.
2. Леонова Н. С. Изменчивость в культуре картофеля (*solanum tuberosum* L.) *In vitro* и возможности её использования в селекции и семеноводство : автореф. дис. на соиск. науч. степени док. биолог. наук : спец. 03.01.06 – «Биотехнология» / Н. С. Леонова. – Улан-Удэ, 2010. – 34 с.
3. Hossain M.J. Establishment of cell suspension culture and plantlet regeneration of brinjal (*Solanum melongena* L.) / M. J. Hossain, M. Rahman, M. A. Bari. – Journal of Plant Science. – 2007. – 2(4): 407-415.
4. Bastaki S. Factors affecting embryogenesis in eggplant cultures / S. Bastaki, M. A. Nil, A. Awadi. – Plant Tissue Culture. – 1990. – 4(1): 65-68.
5. Jayasree T. V. Somatic embryogenesis from leaf cultures of potato / [Jayasree T. V., Paban M., Ramesh A. V., Reddy K.J.M.]. – Plant Cell Tissue Organ Culture. – 2001. – 64(1): 13-17.
6. Калинин Ф.Л. Методы культуры тканей в физиологии и биохимии растений / Ф. Л. Калинин, В. В. Сарнацкая, В. Е. Полищук. – К. : Наукова думка, 1980. – 486 с.
7. Зубко М.К. Методы культивирования растительных объектов *in vitro* / [Зубко М. К., Кириченко И. В., Куксова В. Б. и др.]. – К. : Ин-т ботаники АН УССР, 1988. – 37 с.
8. Мірошніченко В.П. Методика досліджень в культурі ізольованих тканин овочевих рослин / [Мірошніченко В. П., Сергієнко О. Ф., Івченко Т. В. та ін.]. – Мерефа : ІОБ УААН, 2004. – 25 с.
9. Murashige T. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures / T. Murashige, F. Scoog // Physiology of Plant. – 1962. – Vol. 15. – P. 472-497.

Г.В. Мозговская. Влияние фитогормонального состава питательной среды МС и генотипов на морфогенез *Solanum melongena* L. в культуре *in vitro*

Резюме. Для проведения клеточной селекции баклажана рекомендована регенерационная система с полным циклом культивации: режимы стерилизации исходного материала, питательные среды для индукции морфогенной каллусной ткани, способ размножения и укоренение пробирочных растений баклажана, параметры адаптации растений-регенерантов к условиям почвы. Среда МС с добавлением 2 мл/л

ИУК + 4 мл/л 6-БАП обеспечила интенсивное образование морфогенного каллуса и индукцию микропобегов методом прямого органогенеза. Наилучший донорский орган для индукции каллусогенеза – ткани листьев семядоль 7-дневных стерильных проростков

A.V. Mozgovskaya. The influence of phytohormone composition of nutrient medium and genotypes on the morphogenesis *Solanum melongena* L. in the culture *in vitro*.

Summary. It is recommended for conducting of cellular selection of egg-plants the regenerative system with a full cultivation cycle: regimes of sterilization of the initial material, nutrient mediums for induction of morphogene calluse substance, the way of reproduction and striking roots of test-tube egg-plants, parameters, of adaptation of plants-regenerators to the ground conditions. Medium MC with the addition of 2 ml/l IOK + 4 ml/l 6 BAA ensured intensive morphogene callus forming and induction of microsprouts by the method of direct organogenesis. The best donor organ for induction of callusogenesis are the tissues of seed-lobe leaves of seven-days sterile sprouts.

Вплив фітогормонального складу поживних середовищ МС і генотипів на індукцію калюсогенезу баклажана (2011 р.)

Варіант	Вміст фітогормонів у варіантах досліду, мг/л	Частка експлантарів з калюсом		Середній діаметр утворених калюсів, мм^3	Частка експлантарів з калюсом		Середній діаметр утворених калюсів, мм^3
		%	% морфогенних калюсів		%	% морфогенних калюсів	
Генотип 12t (сім'ядолі)						Генотип 13t (сім'ядолі)	
1	Контроль (безгормональне)	50,0	0,0	$379,60 \pm 1,68$	50,0	0,0	$354,60 \pm 0,68$
2	ЮЦК-2+БАП-4	50,0	33,3	$497,42 \pm 1,63$	50,0	0,0	$508,67 \pm 0,14$
3	НОЦК-2	0,0	0,0	0,0	60,0	16,6	$399,75 \pm 0,18$
4	НОЦК-1 мг/л + БАП-0,5	66,6	0,0	$391,75 \pm 2,83$	57,1	0,0	$640,58 \pm 0,15$
5	НОЦК-2 мг/л + БАП-0,5	50,0	16,6	$609,67 \pm 0,36$	83,3	0,0	$610,42 \pm 0,13$
6	НОЦК-2 мг/л + БАП-1	66,6	0,0	$641,42 \pm 0,83$	60,0	0,0	$609,75 \pm 0,15$
$HIP_{\text{об}}$				4,76			0,37
Гілокотелі							
1	Контроль (безгормональне)	20,0	0,0	$290,0 \pm 0,57$	20,0	0,0	$280,0 \pm 0,52$
2	ЮЦК-2+БАП-4	25,0	0,0	$478,92 \pm 0,5$	25,0	0,0	$508,67 \pm 0,19$
3	НОЦК-2	33,3	0,0	$399,33 \pm 0,51$	40,0	0,0	$398,83 \pm 0,11$
4	НОЦК-1 мг/л + БАП-0,5	63,3	0,0	$673,08 \pm 4,77$	85,7	0,0	$638,83 \pm 0,17$
5	НОЦК-2 мг/л + БАП-0,5	63,3	0,0	$621,42 \pm 0,19$	80,0	0,0	$300,5 \pm 0,15$
6	НОЦК-2 мг/л + БАП-1	66,6	0,0	$300,5 \pm 0,15$	33,3	0,0	$610,92 \pm 0,23$
7	НОЦК-8	63,3	0,0	$609,5 \pm 0,15$	61,6	0,0	$610,5 \pm 0,15$
$HIP_{\text{об}}$				0,91			0,46