

В.Б. Ковальов,
доктор сільсько-
господарських наук

Т.І. Козлик,
кандидат сільсько-
господарських наук

І.А. Джус

Інститут сільського
господарства Полісся НААН

ВПЛИВ П-АМІНОБЕНЗОЙНОЇ КИСЛОТИ (ПАБК) НА РЕГЕНЕРАЦІЮ МІКРОЖИВЦІВ ХМЕЛЮ НА АГРОПЕРЛІТІ

Вступ. Вивчення впливу регуляторів росту і розвитку на життєдіяльність рослин є одним з важливих напрямів сучасної біотехнології. Це пов'язано з теоретичним значенням проблеми та з можливістю практичного використання в селекції і технології. **Метою досліджень** була розробка оптимальних, раціональних схем мікроклонального розмноження та вивчення впливу фітогормонів на регенерацію хмелю у культурі *in vitro*. **Методи досліджень.** Дослідження із вивчення впливу фітогормонів на регенерацію хмелю у культурі *in vitro* проводили

за загальноприйнятими методиками. **Результати досліджень** впливу біологічно активної речовини п-амінобензойної кислоти (ПАБК) на регенерацію мікроживців хмелю сортів Заграва, Альта, Слов'янка показали, що рівень приживлення мікроживців знаходиться у межах 70–100% залежно від часу експозиції, концентрації ПАБК та сорту хмелю. **Висновки.** З врахуванням переваг показників дослідних варіантів над показниками контролю доведена доцільність застосування біологічно активної речовини п-амінобензойної кислоти (ПАБК) у 0,5 та 1% розчинах на регенерацію мікроживців хмелю сортів Заграва, Альта, Слов'янка.

Ключові слова: хміль, регенерант, приживлення, коренетворення, агроперліт, фітогормон.

Вивчення впливу регуляторів росту і розвитку на життєдіяльність рослин є одним з важливих напрямків сучасної біотехнології. Це пов'язано з теоретичним значенням проблеми та з можливістю практичного використання в селекції і технології.

Регулятори росту представлені широким спектром природних і синтетичних речовин, що впливають на всі етапи органогенезу рослин [7]. Серед них особливе місце займають природні фітогормони та їх синтетичні аналоги [4–6, 8], які спрямовують регулюючі процеси, що відбуваються в рослинах та дають змогу використовувати їх в біотехнологіях *in vitro* [7, 10].

Фітогормони необхідні для запуску і регуляції морфогенетичних і фізіологічних програм [4]. Фітогормони діють у дуже низьких концентраціях і є порівняно низькомолекулярними речовинами [1].

Вивчення впливу фітогормонів на процеси, що відбуваються в рослині є одним з основних напрямів біотехнології і має велике теоретичне значення [11]. Дослідження присвячені механізму дії фітогормонів, зокрема на молекулярному рівні, мають фундаментальний характер і вносять вклад у розвиток теорії гормональної регуляції життєдіяльності рослин [5, 6, 9].

Висока специфічність дії фітогормонів в рослинах дає можливість широко використовувати їх для спрямованої регуляції розвитку рослин в культурі *in vitro*, індукуючи за допомогою гормонів різних класів поділ клітин при калусогенезі або морфогенетичні процеси, а саме, утворення ембріоїдів, пагонів або коренів [2, 3]. Тому обґрунтованими є оптимізація застосування фітогормонів в культурі *in vitro*, а також пошук нових регуляторів росту, що являється актуальним завданням та складовою частиною сучасних наукоємних біотехнологій.

Фундаментальною основою для пошуку нових фізіологічно активних речовин та розробки методів їх використання є вивчення механізмів дії регуляторів росту на різних рівнях.

Регулятори росту широко використовують під час вирощування багатьох сільськогосподарських культур. При цьому вони стимулюють ріст і розвиток рослин, збільшують їх продуктивність і стійкість.

Нині таких препаратів відомо досить багато. Деякі з них не є аналогами фітогормонів або мають доволі віддалену схожість з ними. Механізми і особливості їх дії на рослини хмелю вивчені недостатньо. Отже, виникає завдання дослідження фізіологічних особли-

востей дії таких речовин на рослини. Тому розробка прийомів і технологій із застосуванням нових регуляторів росту і розвитку рослин є пріоритетними для багатьох науковців, особливо з урахуванням гострого дефіциту коштів, традиційних засобів хімізації і різкого падіння урожайності у зв'язку з цим.

Таким чином, основні напрями сучасної біотехнології рослин — генна інженерія, культура клітин, органів і тканин *in vitro* і вивчення регуляторів росту і розвитку рослин, органічно пов'язані між собою необхідністю використання регуляторів росту направленої дії на рослини.

Мета досліджень — розробка оптимальних, раціональних схем мікроклонального розмноження та вивчення впливу фітогормонів на регенерацію хмелю у культурі *in vitro*.

Об'єктом досліджень є процеси росту та розвитку саджанців хмелю при мікроклональному розмноженні та адаптації регенерантів до зовнішніх умов.

Предметом досліджень був хміль різних сортів української і закордонної селекції, введений у культуру *in vitro*.

Методика досліджень. Дослідження з вивчення впливу фітогормонів на регенерацію хмелю у культурі *in vitro* широко проводили за загальноприйнятими методиками у лабораторії селекції, біотехнології та мікроклонального розмноження хмелю Інституту сільського господарства Полісся НААН. Одним із таких досліджень є вивчення впливу п-амінобензойної кислоти (ПАБК) на процес коренотворення регенерантів хмелю.

Отримані при мікроклональному розмноженні регенеранти пересаджували з умов *in vitro* у горщики з поживним субстратом для акліматизації і дорощування. Для збільшення виходу садивного матеріалу під час процесу дорощування мікросаджанців в умовах *in vivo* використовували обрізані пагони рослин хмелю шляхом укорінення останніх у перліті з ПАБК.

Схема досліду містила в собі кілька варіантів:

- 1) контроль — перліт — дистильована вода — мікроживець хмелю;
- 2) розчин ПАБК — 0,5% — перліт — мікроживець хмелю;
- 3) розчин ПАБК — 0,1% — перліт — мікроживець хмелю.

Час експозиції у розчині ПАБК — 30 хв; 60 хв; 90 хв.

У досліді використовували хміль сортів Слов'янка, Заграва та Кумир.

Кількість рослин у варіанті 10.

Повторність 4-разова.

При вивченні питань впливу п-амінобензойної кислоти на процеси регенерації рослин хмелю використовували загальноприйнятні методики, які затверджені в Інституті, а також діючі нормативні документи, ДСТУ. Варіабельність морфологічних показників регенерантів у дослідах визначали математично статистичними методами за допомогою пакета програм MS Office XP 2007.

Результати досліджень. Умови багаторічної монокультури накладають негативний відбиток на ведення культури хміль. Це так звані процеси ґрунтової втоми і особливо накопичення ґрунтових інфекційних захворювань кореневої системи, зокрема і кореневих гнилей. Нівелювання дії цих негативних факторів в останні десятиріччя проводилось за умов використання в якості розсадного матеріалу етильованих паростків, зелених пагонів і рослин культури *in vitro*. Однак використання останнього має фактор обмеженості у використанні хмелегосподарствами — це висока вартість у межах 12 грн/шт. Широке впровадження можливе при умові фінансової держпідтримки закладання хмеленасаджень. Водночас за умови налагодження виробництва саджанців із зелених живців від рослин *in vitro* можливе вирішення як підвищення коефіцієнта розмноження щонайменше у 10 разів, так і отримання садивного матеріалу вищих фітосанітарних ґатунків.

Результати досліджень впливу біологічно активної речовини ПАБК на регенерацію мікроживців хмелю сортів Заграва, Альта, Слов'янка довели, що рівень приживлення мікроживців знаходиться у межах 70–100% залежно від часу експозиції, концентрації ПАБК та сорту хмелю (табл. 1). Найнижчим цей показник був зафіксований на сорті Альта у варіанті з тривалістю експозиції 90 хв та концентрацією ПАБК 1%. Найкращі результати було отримано на варіантах із тривалістю експозиції 30 хв та концентрацією ПАБК 1% за культивування усіх досліджуваних сортів хмелю. Перевага над показником контролю становила 6–92% залежно від сорту хмелю.

Одним із основних і вагомих факторів у розвитку рослини, її приживленні та рості, відіграє коренева система — кількість утвореного коріння, його довжина. Показник коренеутворення у досліді, як і показник приживлення, залежав від часу експозиції регенерантів у розчині, концентрації ПАБК та сорту хмелю. На контрольному варіанті

1. Вплив п-амінобензойної кислоти на приживленість живців рослин хмелю, %

Сорт	Контроль (приживлення у воді)	Приживленість живців після експозиції у розчині ПАБК, хв					
		30	% до контролю	60	% до контролю	90	% до контролю
<i>1% розчин ПАБК</i>							
Альта	87	92	106	100	115	20	23
Заграва	67	100	149	84	125	64	95
Слов'янка	50	96	192	100	200	52	104
<i>0,5% розчин ПАБК</i>							
Альта	87	68	78	100	115	68	78
Заграва	67	100	149	80	119	84	125
Слов'янка	50	100	200	100	200	100	200

(мікроживець + вода) кількість коренів була у межах 7,0–9,6 шт. залежно від сорту хмелю (табл. 2). Кількість утвореного коріння у дослідних варіантах (вода + ПАБК) у середньому становила 9–10 шт. на одному мікросаджанці.

Найкраще процес коренеутворення відбувався у сорту Слов'янка незалежно від тривалості експозиції та відсотка ПАБК у розчині. Перевага показників коренеутворення досліджуваних варіантів над аналогічними показниками на контрольному варіанті становила до 68%. Показник довжини коренів незалежно від варіантів і сорту хмелю був

у середньому 4 см (табл. 3). Найкраще на замочування у ПАБК відреагував сорт хмелю Слов'янка, перевага якого над показниками контрольного варіанта (мікроживець + перліт + вода) становила до 55%. Також варто відмітити, що застосування ПАБК для укорінення хмелю сортів Альта і Заграва не сприяло збільшенню показників довжини коренів порівняно з контрольним варіантом (мікроживець + перліт + вода).

Висота рослин у досліді була різною та залежала як і інші морфологічні показники від часу експозиції, концентрації ПАБК та сорту хмелю (табл. 4). За культивування сорту

2. Вплив п-амінобензойної кислоти на коренеутворення живців рослин хмелю, шт.

Сорт	Контроль (приживлення у воді)	Кількість коренів після експозиції живців у розчині ПАБК, хв					
		30	% до контролю	60	% до контролю	90	% до контролю
<i>1% розчин ПАБК</i>							
Альта	7,0	7,7	110	7,4	106	6,2	89
Заграва	9,2	9,5	103	7,2	78	6,9	75
Слов'янка	9,6	11,7	122	16,1	168	9,6	100
<i>0,5% розчин ПАБК</i>							
Альта	7,0	4,0	57	3,8	54	4,3	61
Заграва	9,2	8,6	93	9,2	100	9,4	102
Слов'янка	9,6	11,2	117	11,8	123	14,0	146

3. Вплив п-амінобензойної кислоти на довжину коренів живців рослин хмелю, см

Сорт	Контроль (приживлення у воді)	Довжина коренів після експозиції живців у розчині ПАБК, хв					
		30	% до контролю	60	% до контролю	90	% до контролю
<i>1% розчин ПАБК</i>							
Альта	7,6	4,6	60	5,2	68	4,8	63
Заграва	8,4	6,3	75	4,4	52	4,7	56
Слов'янка	5,3	5,6	106	8,2	155	7,3	138
<i>0,5% розчин ПАБК</i>							
Альта	7,6	4,7	62	6,3	83	5,3	70
Заграва	8,4	4,0	48	5,4	64	5,1	61
Слов'янка	5,3	4,5	85	7,8	147	6,3	119

4. Вплив п-амінобензойної кислоти на висоту рослин живців рослин хмелю, см

Сорт	Контроль (приживлення у воді)	Висота рослин після експозиції живців у розчині ПАБК, хв					
		30	% до контролю	60	% до контролю	90	% до контролю
<i>1% розчин ПАБК</i>							
Альта	3,6	4,0	111	3,3	92	3,3	92
Заграва	4,3	5,5	128	4,1	95	4,6	107
Слов'янка	6,8	9,0	132	7,1	104	5,7	84
<i>0,5% розчин ПАБК</i>							
Альта	3,6	1,8	50	2,0	55	1,9	53
Заграва	4,3	4,4	102	5,6	130	6,4	149
Слов'янка	6,8	9,8	144	8,5	125	13,0	191

Альта показник висоти рослин мав перевагу над контролем (мікроживець + перліт + вода) лише у варіанті з тривалістю експозиції 30 хв у 1% розчині ПАБК — 11%. У решти показників досліджуваних варіантів відставання від контрольних було в межах 8–50%. Рослини хмелю сортів Заграва та Слов'янка за показником висоти рослин переважали контроль на всіх варіантах із застосуванням п-амінобензойної кислоти.

Отримано також результати впливу біологічно активної речовини ПАБК на приживлення черенків і пагонів хмелю сорту Альта та Заграва. Всупереч літературним даним

у поточному році ПАБК у розчинах дистильованої води на перліті не сприяла приживленості, росту та розвитку черенків і пагонів. Черенки хмелю сортів Альта та Заграва загинули 100%, приживлення пагонів цих сортів не перевищувало 40%. Також усупереч літературним даним нашими дослідженнями було виявлено негативний вплив ПАБК у оцтовій кислоті на приживлення та регенераційні процеси рослин хмелю сортів Альта, Заграва та Слов'янка. Кращі показники розвитку рослин було отримано за застосування ПАБК, розчиненої у дистильованій воді.

ВИСНОВКИ

З урахуванням переваг показників дослідних варіантів над показниками контролю доведено доцільність застосування біологічно активної речовини п-амінобензойної кислоти у 0,5 та 1% розчинах на регенерацію мікроживців хмелю сортів Заграва, Альта, Слов'янка. Виявлено негативний вплив на

приживлення та регенераційні процеси рослин хмелю сортів Альта, Заграва та Слов'янка застосуванням п-амінобензойної кислоти, розчиненої оцтовою кислотою. Кращі показники розвитку рослин було отримано за застосування п-амінобензойної кислоти розчиненої дистильованою водою.

БІБЛІОГРАФІЯ

- Гудвин Т. Введение в биохимию растений / Т. Гудвин, Э. Мерсер. — М.: Мир, 1986. — С. 203–267.
- Дорошенко Н.П. Биотехнологические методы ускоренного размножения и оздоровления, селекции бессемянных сортов и создания коллекций генофонда винограда: автореф. на соиск. степени докт. с.-х.н. / Н.П. Дорошенко. — 1999. — 59 с.
- Катаева Н.В. Клональное микроразмножение растений в культуре ткани. Культура клеток растений / Н.В. Катаева, В.А. Аветисова. — М., 1981. — С. 137–149.
- Кефели В.И. Рост растений / В.И. Кефели. — М.: Наука, 1984. — 175 с.
- Кулаева О.Н. Гормональная регуляция физиологических процессов у растений на уровне синтеза РНК и белка / О.Н. Кулаева // ХИЛ Тимиряз. Чтение. — М.: Наука, 1982. — 83 с.
- Кулаева О.Н. Цитокинины, их структура и функции / О.Н. Кулаева. — М.: Наука, 1973. — 263 с.
- Основы химической регуляции роста и продуктивности растений / Г.С. Муромцев, Д.И. Чкаников, О.Н. Кулаева, К.З. Гамбург. — М.: ВО «Агропромиздат», 1987. — 383 с.
- Природный ингибитор роста абсцизовая кислота / В.И. Кефели, Э.М. Коф, П.В. Власов, Е.Н. Кислин. — М.: Наука, 1989. — 184 с.
- Протеинкиназы растений в трансдукции абиотических и биотических сигналов / М.А. Холл, Г.В. Новикова, И.Е. Мошков и др. // Физиол. раст., 2002. — Т. 49, № 1. — С. 121–135.
- Сельскохозяйственная биотехнология / В.С. Шевелуха, Е.А. Калашникова, С.В. Дегтярев и др. — М.: Высшая школа, 1998. — 416 с.
- Шевелуха В.С. Рост растений и его регуляция в онтогенезе / В.С. Шевелуха. — М.: Колос, 1992.