

*Annotation***Gunchak V., Shevaga G., Kordulyan R., Kyryk M.****Biologic growth regulator "Reglalg" implementation in culture in vitro on potato plants**

The biological effectiveness of «Reglalg» optimum norms implementation is researched in process of potato sanitized plants clonal micropropagation. It is established, that the norm 0,25-1 mg/L in culture in vitro is optimum for cuttings regeneration, new leaves (nodes) and a full plant formation. The lowest level of electrolytes leakage is determined, which is explained by increase of potato resistance to high temperatures, and has a mediate effect on general resistance to diseases.

Keywords: potato, «Reglalg», clonal micropropagation, electrlolytes leakage, plants in vitro

Отримано редакцією – 21.03.2014 р.

УДК 633.282:577.3:631.527

КОЦАР М.О., аспірант

Інститут біоенергетичних культур і цукрових буряків НААН

e-mail:marichka.899@gmail.com

**ВПЛИВ СОЛЬОВОГО СТРЕСУ *IN VITRO* НА РОЗВИТОК
ПАГОНІВ МІСКАНТУСУ**

У статті наведено результати дослідження впливу сольового стресу на розвиток різних видів міскантусу, культивованих в умовах *in vitro* на селективному середовищі з різними концентраціями NaCl. Визначено зміни в ростових процесах, кількості хлорофілу, здатності до укорінення та накопичення сухої речовини міскантусу.

Ключові слова: міскантус, *in vitro*, NaCl, хлорофіл, укорінення

Вступ. Міскантус – це багаторічна технічна культура, яку використовують, в основному, для отримання теплової енергії. Для її вирощування необхідно використовувати землі, на яких сільськогосподарські культури неможливо і не рентабельно вирощувати [1]. До таких відносяться солончакові ґрунти, які на території України зустрічаються локально на узбережжі Чорного моря, в Придніпров'ї, на терасах Південного Бугу, Дністра та Дунаю [2]. Найбільш шкідливим є хлоридне засолення ґрунту, яке призводить у рослинах порушення ультраструктури клітин, зокрема, в структурі хлоропластів [3].

Для прискорення селекційного процесу використовують методи біотехнології, зокрема, метод культури *in vitro*, який за короткий час дозволяє отримати достатню кількість матеріалу для досліджень [4]. При застосуванні методів біотехнології було отримано сільськогосподарські рослини з ознаками стійкості до абіотичних факторів середовища, наприклад, кукурудза, цукрові буряки, томат та ін. [5].

Метою досліджень було визначити вплив сольового стресу на розвиток пагонів міскантусу в культурі *in vitro* і добір толерантних форм.

Матеріали і методика досліджень. Дослідження проводили в секторі культури клітин і тканин *in vitro* та в спеціалізованій контрольно-насіньовій аналітико-технологічній лабораторії по цукровим бурякам Інституту біоенергетичних культур і цукрових буряків НААН України у 2013 році.

Визначення стійкості (толерантності) різних видів міскантусу до абіотичного фактору проводили за методом селективних середовищ [6].

Пагони, отримані методом клонального мікророзмноження, селекційних зразків *Miscanthus giganteus*, *M. sinensis*, *M. sinensis Late*, *M. sinensis Early*, *M. sinensis New*, *M. sinensis Silberspinne*, *M. sacchariflorus*, культивували на модифікованому живильному середовищі Мурасіге-Скуга, при температурі 20-22°C у світловій кімнаті, освітленні 2-3 тис. люкс, відносній вологості – 70-75 %.

Дослідження проводили за такою схемою: Контроль – модифіковане живильне середовище МС (МС); I варіант – МС + 0,25% NaCl; II варіант – МС + 0,5% NaCl; III варіант – МС + 1% NaCl; IV варіант – МС + 1,5% NaCl; V варіант – МС + 2,0% NaCl.

Укорінення пагонів міскантусу в культурі *in vitro* проводили за такою схемою: Контроль – МС + НОК 0,8 мг/л + ІОК 0,8 мг/л; I варіант – МС + НОК 0,8 мг/л + ІОК 0,8 мг/л + NaCl 1%; II варіант – МС + НОК 0,8 мг/л + ІОК 0,8 мг/л + NaCl 1,5%.

На кожному варіанті живильного середовища висаджували по 20 пагонів трьох видів і чотирьох гібридів міскантусу. Повторність досліду трикратна.

Фенологічні спостереження та обліки ростових процесів проводили кожні 2 тижні. Дослідження з визначення кількісного вмісту хлорофілів спектрофотометричним методом проводили за стандартною методикою [7]. Після культивування пагонів на селективних середовищах з ауксином і NaCl проводили обліки кількості утворених коренів, їх довжину та масу кореневої системи, а також вміст накопиченої сухої речовини [8].

Отримані результати статистично обробляли за допомогою програмного забезпечення Statistica 6.0.

Результати досліджень. Методи біотехнології (клональне мікророзмноження та метод селективних середовищ) дозволяють за короткий період часу (1-2 місяці) провести селекційний добір генотипів, толерантних до абіотичних факторів. За незначної кількості солі в живильному середовищі (0,25%; 0,5%) спостерігали збільшення показників ростових процесів на всіх досліджуваних зразках упродовж чотирьох тижнів культивування. При збільшенні концентрації солі (1%; 1,5%) відзначали пожовтіння листків та незначний некроз тканин пагонів міскантусу (рис. 1). Концентрацію солі (2,0%) в живильному середовищі витримують тільки види *M. sinensis* та *M. sacchariflorus*: життєздатність пагонів становила 40%, висота пагонів в середньому варіювала від 3-3,5 см.



Рис. 1. Культивування пагонів міскантусу на сольовому стресі на різних концентраціях

Життєздатність пагонів на контрольному середовищі різнилась на всіх зразках міскантусу і становила 85-100% (табл. 1). На середовищі з 1% NaCl зниження життєздатності пагонів відносно контролю відрізнялась на 6-47% у всьому досліджуваному матеріалі, найменшу чутливість до засолення 1% NaCl в культурі *in vitro* показали зразки *M. sinensis* – 6%, *M. giganteus* – 9%, *M. sinensis Early* – 10%, *M. sinensis Silberspinne* – 12%. При засоленні 1,5% в живильному середовищі різниця від контролю становить 14-68% (*M. sinensis Early* – 14%, *M. sinensis Silberspinne* – 20%, *M. giganteus*, *M. sinensis* – 21%, *M. sinensis Late* – 22%, *M. sacchariflorus* – 42%, *M. sinensis New* – 68%) живих пагонів. Варто зазначити, що присутність NaCl у селективному середовищі пригнічує ростові процеси пагонів міскантусу порівняно з контролем. Зокрема, спостерігали зменшення висоти пагонів у всіх видів на 0,1-1,7 см. Також суттєво знижується утворення нових пагонів на живильному середовищі з 1% засолення на всіх досліджуваних зразках на 0,2-1,3 шт./пагін та на селективному середовищі з 1,5% NaCl у *M. sinensis*, *M. sinensis Late*, *M. sinensis Silberspinne* на 0,8 шт./пагін, а на *M. giganteus*, *M. sinensis Early*, *M. sacchariflorus*, *M. sinensis New*, у середньому на 1-1,4 шт./пагін.

При культивуванні пагонів міскантусу на селективних середовищах за сукупністю ознак (життєздатність, висота пагонів та утворення нових клонів) можна виділити *M. sinensis*, *M. sinensis Late* та *M. sinensis Silberspinne*.

При визначенні вмісту хлорофілу у пагонах міскантусу залежно від ступеня засолення живильного середовища NaCl було встановлено, що хлорофіл *a* має дещо збільшені показники на засоленні 1% порівняно з контролем у *M. sinensis Late* на 0,04 мг/г сирової маси, а на засоленні відповідно 1,5% на 0,02 мг/г сирової маси. Це показує деяку толерантність до засолення субстрату. У всіх інших досліджуваних зразках вміст хлорофілу *a* зменшується при збільшенні кількості солей і різниця порівняно з контрольним середовищем становить 0,04-0,15 мг/г сирової маси на середовищі з 1% NaCl та 0,04-0,16 мг/г сирової маси при 1,5% NaCl.

Вміст хлорофілу *b* у всіх зразках міскантусу знижується на 0,01-0,22 мг/г сирової маси при 1% NaCl та на 0,01-0,24 мг/г сирової маси при 1,5% NaCl порівняно з контролем. Тенденція до зниження величин сумарного вмісту хлорофілу *a* і *b* спостерігалась майже у всіх генотипів, крім *M. sinensis Late*. Найкращі показники вмісту хлорофілів показали *M. giganteus*, *M. sinensis*, *M. sinensis Silberspinne*, *M. sinensis Late*.

Таблиця 1

Вплив солей на міскантус в культурі *in vitro*

Селекційний номер	Варіант середовища	Життєздатність пагонів, %	Висота пагонів, см	Пагоноутворення, шт.	Вміст хлорофілу <i>a</i> , мг/г сирової маси	Вміст хлорофілу <i>b</i> , мг/г сирової маси	Сумарний вміст хлорофілів <i>a</i> і <i>b</i> , мг/г сирової маси
<i>M. giganteus</i>	Контроль	92	7,9	1,6	0,346	0,222	0,568
	1% NaCl	83	6,5	1,4	0,295	0,128	0,423
	1,5%NaCl	71	6,4	0,1	0,289	0,106	0,395
<i>M. sinensis</i>	Контроль	92	4,8	2,8	0,285	0,136	0,421
	1% NaCl	86	4,6	2,5	0,166	0,166	0,332
	1,5%NaCl	71	3,6	2,0	0,160	0,157	0,317
<i>M. sinensis Early</i>	Контроль	85	4,2	2,2	0,259	0,244	0,503
	1% NaCl	75	3,8	1,5	0,107	0,053	0,160
	1,5%NaCl	71	3,6	0,9	0,095	0,053	0,148
<i>M. sacchariflorus</i>	Контроль	100	4,5	2,5	0,268	0,087	0,354
	1% NaCl	61	4,0	1,2	0,155	0,041	0,195
	1,5%NaCl	58	3,6	0,2	0,143	0,043	0,186
<i>M. sinensis Late</i>	Контроль	100	3,5	1,5	0,127	0,076	0,202
	1% NaCl	80	3,5	1,3	0,160	0,066	0,225
	1,5%NaCl	78	3,4	0,7	0,146	0,063	0,209
<i>M. sinensis New</i>	Контроль	100	4,1	2,1	0,270	0,190	0,461
	1% NaCl	53	2,6	1,5	0,186	0,077	0,262
	1,5%NaCl	32	2,4	1,0	0,145	0,043	0,188
<i>M. sinensis Silberspinne</i>	Контроль	100	9,4	1,3	0,230	0,107	0,337
	1% NaCl	88	8,1	0,5	0,194	0,085	0,279
	1,5%NaCl	80	8,1	0,5	0,189	0,075	0,264
НІР ₀₅		-	0,4	0,5	0,22	0,14	0,36

При дослідженні можливості пагонів міскантусу утворювати корені на селективних середовищах з NaCl було визначено, що присутність NaCl у середовищі затримує процес ризогенезу на 4-8 днів у всіх досліджуваних селекційних зразках порівняно з контролем (корені утворювались на 10-12 день) (рис. 2).

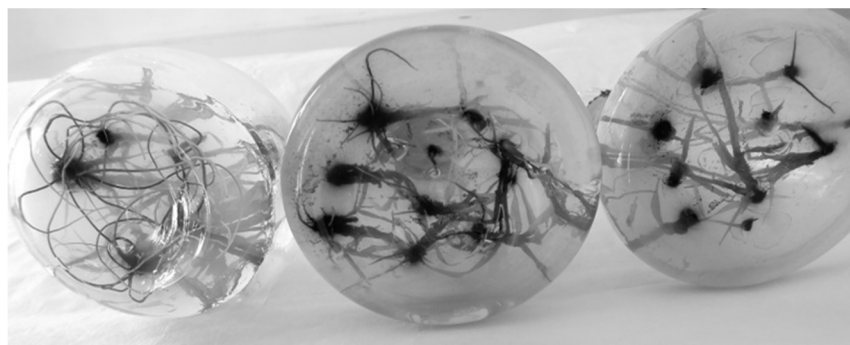


Рис. 2. Ризогенез міскантусу в культурі *in vitro* за впливу сольового стресу

Незважаючи на те, що середня довжина коренів знизилася у всіх досліджуваних рослин на обох варіантах живильного середовища в середньому на 0,5 см. (табл. 2), було визначено, що селекційні зразки, які показали високий потенціал укорінення рослин, мають значні показники кількості утворених на засоленні коренів. Найвищі показники укорінення рослин та кількості коренів було отримано у зразків *M. sinensis*, *M. sinensis Early*, *M. sinensis Silberspinne*.

Таблиця 2

Укорінення міскантусу на сольовому стресі

Селекційний номер	Варіант середовища	Укорінення рослин, %	Маса коренів однієї рослини, г	Середня довжина коренів, см	Кількість коренів, шт./пагін	Вміст сухої речовини укорінених <i>in vitro</i> рослин, %
<i>M. giganteus</i>	Контроль	100	0,075	5,8	5,2	16,08
	1% NaCl	67	0,012	1,1	3,8	14,79
	1,5% NaCl	29	0,001	1,4	1,3	12,85
<i>M. sinensis</i>	Контроль	100	0,043	2,0	2,4	16,48
	1% NaCl	70	0,040	1,3	4,3	13,30
	1,5% NaCl	59	0,010	1,2	2,3	12,47
<i>M. sinensis Early</i>	Контроль	60	0,031	1,5	4,0	13,68
	1% NaCl	54	0,017	0,8	2,2	12,38
	1,5% NaCl	46	0,010	0,4	1,4	12,03
<i>M. sacchariflorus</i>	Контроль	57	0,215	4,9	3,8	12,54
	1% NaCl	40	0,023	1,9	2,6	11,71
	1,5% NaCl	20	0,010	1,0	1,1	9,83
<i>M. sinensis Late</i>	Контроль	63	0,019	1,5	2,5	14,08
	1% NaCl	50	0,016	1,1	1,9	13,98
	1,5% NaCl	14	0,010	1,6	2,0	13,75
<i>M. sinensis New</i>	Контроль	56	0,044	1,1	3,6	15,17
	1% NaCl	19	0,013	0,4	1,7	12,02
	1,5% NaCl	-	-	-	-	-
<i>M. sinensis Silberspinne</i>	Контроль	93	0,020	2,7	2,6	20,21
	1% NaCl	57	0,009	2,1	2,5	16,39
	1,5% NaCl	50	0,004	0,8	1,4	16,30
НІР ₀₅		-	0,11	0,28	1,14	-

Ще одним показником стійкості є вміст сухої речовини, яку накопичує рослина в стресових умовах. При дослідженні цього показника варто зазначити, що в *M. sinensis Early*, *M. sacchariflorus*, *M. sinensis Late* вміст сухої речовини в рослинах міскантусу на селективних середовищах з 1-1,5% NaCl менший порівняно з контролем на 1-2%, а в інших зразків – 2-4%. Найбільшим вмістом сухої речовини на контролі характеризували *M. giganteus*,

M. sinensis, *M. sinensis Silberspinne* – 16-20%. Варто зазначити, що у *M. sinensis Early* і *M. sinensis Late* було найменше втрачено сухої речовини (1-2%) при культивуванні пагонів на засоленні порівняно з контролем.

Висновки. Виявлена диференціація між трьома видами та чотирма гібридами пагонів мискантусу *in vitro* за кількістю хлорофілів, накопиченим вмістом сухої речовини та процесами розвитку при засоленні живильного середовища (0,25-2 % NaCl).

Виділено селекційні зразки (*M. giganteus*, *M. sinensis*, *M. sinensis Late*, *M. sinensis Early*, *M. sinensis Silberspinne*), які характеризувались підвищеним рівнем толерантності до сольового стресу.

Список використаних літературних джерел

1. Новая форма мискантуса китайского (веерника китайского *Miscanthus sinensis* Anders.) как перспективный источник целлюлозосодержащего сырья / [В.К. Шумный, С.Г. Вепрен, Н.Н. Нечипоренко и др.]. // Весник ВОГиС. – 2010. – Том 14, № 1. – С. 122-126.
2. Назаренко І.І. Грунтознавство: підручник / І.І. Назаренко, С.М. Польчина, В.А. Нікорич. – Чернівці: Книги – ХХІ, 2004. – 400 с.
3. Строгонов Б.П. Физиологические основы солеустойчивости растений / Б.П. Строгонов. – М.: Изд. Академии Наук СССР, 1962. – 370 с.
4. Мельничук М.Д. Біотехнологія рослин / М.Д. Мельничук, Т.В. Новак, В.А. Кунах. – К.: ПоліграфКонсалтинг, 2003. – 520 с.
5. Somaclonal variation in tomato: effect of explant source and a comparison with chemical mutagenesis / [R.W. Van den Bulk, H.J.M. Loffler, W.H. Lindhout, M. Koornneef] // Theor. Appl. Genet. – 1990. – № 80. – P. 817-825.
6. Отбор устойчивых к хлоридному засолению форм сахарной свеклы в условиях культуры тканей / [В.Ф. Зубенко, И.И. Ильенко, В.И. Редько, В.В. Редько] // Доклады ВАСХНИИЛ. – 1987. – № 5. – С. 18-20.
7. Бессонова В.П. Практикум з фізіології рослин / В.П. Бессонова. – Дніпропетровськ: ПП Свідлера А.А., 2006. – 316 с.
8. Фізіологія рослин: практикум / [О.В. Войцехівська, А.В. Капустян, О.І. Косик та ін.]; за заг. ред. Т.В. Паршикової. – Луцьк: Терен, 2010. – 420 с.

Аннотація

Коцар М.О.

Влияние солевого стресса in vitro на развитие побегов мискантуса

В статье приводятся результаты исследования влияния солевого стресса на развитие различных видов мискантуса культивируемых в условиях in vitro на селективной среде с различными концентрациями NaCl. Определены изменения в ростовых процессах, количества хлорофилла, способности к укоренению и накопление сухого вещества мискантуса.

Ключевые слова: мискантус, *in vitro*, NaCl, хлорофилл, укоренение

Annotation

Kotsar M.

Influence of stress of salt in vitro on the development of shoots miscanthus

The article presents the results of research of influence of stress of salt on the development of different species miscanthus in vitro on selective medium with different concentrations of NaCl. There are showed changes in the growth process, the amount of chlorophyll, the ability to rooting and dry matter accumulation miscanthus in this article.

Keywords: miscanthus, *in vitro*, NaCl, chlorophyll, rooting

Отримано редакцією – 12.03.2014 р.