

Annotation

Gontarenko S., Gerasymenko A.
Androgenic callus of sugar beet

The article describes a way to obtain androgenic callus of sugar beet by culturing anthers in conditions in vitro. The basic factors that affect the process of induction of androgenic particular composition of culture media for culturing anthers, proliferation callus. It is shown that the content and growth regulators (auxin - cytokinins) is crucial to get callus and stimulate their morphogenic activity.

Keywords: *sugar beet, culture in vitro, anthers, callus, androgenesis*

Отримано редакцією – 17.03.2014 р.

УДК 632.5.01./08

ГУНЧАК В.М., кандидат с.-г. наук,

ШЕВАГА Г.М., молодший науковий співробітник,

КОРДУЛЯН Р.О., науковий співробітник,

Українська науково-дослідна станція карантину рослин ІЗР НААН України

КИРИК М.М., доктор біол. наук, академік НААН України,

Національний університет біотехнології і природокористування

e-mail: ukrndskr@gmail.com

ЗАСТОСУВАННЯ БІОЛОГІЧНОГО РЕГУЛЯТОРА РОСТУ «REGLALG» У КУЛЬТУРИ *IN VITRO* НА РОСЛИНАХ КАРТОПЛІ

Досліджено ефективність застосування біологічного регулятора росту «Reglalg» у процесі клонального мікророзмноження оздоровлених рослин картоплі. Установлено, що норма 0,25-1 мг/л в культурі in vitro є оптимальною для регенерації живців, утворення нових листків (вузлів), формування повноцінної рослини. Визначено найнижчий рівень витоку електролітів, що пояснюється підвищенням стійкості картоплі до високої температури та опосередковано впливає на загальну стійкість до хвороб.

Ключові слова: *картопля, «Reglalg», клональне мікророзмноження, витік електролітів, рослини in vitro*

Вступ. В практиці підвищення продуктивності картоплі добре зарекомендувала себе технологія клонального мікророзмноження безвірусних рослин картоплі на основі культивування клональних мікророслин на живильних середовищах *in vitro*. Успішне вирощування рослин *in vitro* забезпечується, перш за все, правильним підбором живильного середовища, що відповідає фізіологічним особливостям культивованих рослин [1]. Мінеральний склад живильного середовища забезпечує збалансоване і достатнє живлення рослин картоплі необхідними поживними елементами [2]. Відомо, що всі компоненти живильного середовища можуть впливати на проходження процесу клонального мікророзмноження. Для культивування *in vitro* рослин використовують середовища, які різняться не тільки мінеральною основою, але й композицією живильних та біологічно активних речовин [3].

Останніми роками у світі поряд із хімічними методами захисту рослин для підвищення продуктивності останніх широкого застосування набув біологічний метод [4]. Зараз широко застосовують БАР (біологічно активні речовини), які забезпечують захист рослин від широкого спектру хвороб, підвищують стійкість рослин за екстремальних кліматичних умов шляхом створення сприятливих умов росту і розвитку рослин. БАР стимулюють розвиток і забезпечують високу продуктивність та якість урожаю [5]. У зв'язку із цим, у сільському господарстві застосовують біологічні засоби, які не є шкідливими. До таких препаратів відноситься «Reglalg».

«Reglalg» – біологічний регулятор росту, витяжка із водоростей, яка включає в себе суміш жирних кислот, альдегідів, кетонів та інших біологічно активних компонентів. Препарат не токсичний для людини. Він індукуює набуту систему стійкості рослин. «Reglalg» діє як регулятор росту. В певних концентраціях він стимулює ріст коренів, особливо вторинних. Розвиток і ріст рослин залежить від концентрації «Reglalg». Використовують препарат для замочування насіння, а також для обприскування вегетативної маси у фазі кушіння. «Reglalg» підвищує стійкість до грибних та вірусних захворювань [6].

Метою досліджень було вивчити стимулюючу дію біологічного регулятора росту «Reglalg» на ріст та розвиток рослин картоплі в умовах *in vitro* як спосіб прискореного розмноження сортів картоплі в даних умовах та його вплив на стійкість рослин картоплі до різних абіотичних і біотичних факторів.

Матеріали та методика досліджень. Дослідження проводили в Українській науково-дослідній станції карантину рослин ІЗР НААН протягом 2012-2013 рр.; використовували рослини картоплі сорту Слов'янка, культивовані в умовах *in vitro*.

Для початкового розмноження оздоровленого сорту картоплі застосовували метод мікроживцювання і вирощування рослин-регенерантів на штучному живильному середовищі.

Для культивування рослин картоплі застосовували середовище з мінеральною основою Мурасіге-Скуга [7], модифіковане Інститутом картоплярства НААН України [8]. Використовували вітаміни В₁, В₆ та аскорбінову кислоту. В середовище культури *in vitro* додавали 0,25-1 мг/л «Reglalg». Як контроль використовували ІОК в концентрації 1 мг/л, аденін у концентрації 0,2 мг/л (останній індукуює ріст стебел). Контролем також слугувало живильне середовище без ІОК і аденіну.

На 3-4 день після садіння живців починався ріст стебла і коренів. Через 20-25 днів живці повністю відростали і утворювали повноцінну рослину.

Режими культивування: температура – 22±3 °С, вологість повітря – 70-75 %, освітленість – 2-3 тис. люкс, фотоперіод – 16 годин освітлення.

Для визначення витоку електролітів використовували листки рослин картоплі, культивованих в умовах *in vitro*. Із відібраних листочків вирізали кругові сегменти діаметром 10 мм, перенесли їх у пробірки і заливали 5 мл дистильованої води та проводили інкубацію 15 хв за температури 55°С. Після цього пробірки охолоджували зануренням у воду за кімнатної температури протягом 2 год. У подальшому визначали електропровідність води, де пройшли інкубацію сегменти листків на приладі кондуктометрі (фірми ELWRO, США). Після цього пробірки перенесли на 30 хв у водяну баню за 100°С, потім охолоджували до 25°С і збовтували 1 год. за кімнатної температури. Знову вимірювали електропровідність води, де інкубувалися сегменти листків [10].

Результати досліджень. У результаті проведених досліджень встановлено позитивний вплив на ріст і розвиток оздоровлених рослин біологічного регулятора росту «Reglalg» (табл. 1).

Таблиця 1

Вплив «Reglalg» та його концентрації на ріст і розвиток рослин картоплі сорту Слов'янка в умовах *in vitro*

Варіанти дослідів	Висота рослини, см	Маса рослини, г	Кількість листків, шт.	Маса кореня, г
Контроль (без ІОК, аденіну)	12,28±3,17	0,47±0,21	5,4±0,55	0,05±0,04
Контроль (ІОК, аденін)	14,70±0,97	0,91±0,33	5,8±0,83	0,29±0,15
«Reglalg» 0,25 мг/л	16,92±0,61	0,95±0,14	7±1,22	0,32±0,06
«Reglalg» 0,5 мг/л	18,34±1,83	0,98±0,18	8±0	0,35±0,06
«Reglalg» 1 мг/л	20,3±3,17	1,37±0,33	8,8±1,30	0,6±0,15

Так, у культурі *in vitro* кращий розвиток рослин відмічено за концентрації «Reglalg» 1 мг/л середовища. Рослини менше витягуються, зростає товщина стебла, збільшується кількість листків та їх площа поверхні. За концентрації 0,5 мг/л рослини вкорочуються на 1,96 см, маса рослини на 0,39 г, а на кількість листків рослин *in vitro* вказана концентрація «Reglalg» вплинула меншою (0,8 %).

При контролі (ІОК, аденін), порівняно з концентраціями 0,25-1 мг/л «Reglalg», дія на рослини *in vitro* знизилась; оскільки висота рослин становить 14,7 см, знижується кількість живців у 3 рази відповідно до концентрації 1 мг/л середовища, а також маса коренів та маса рослини. Також спостерігається пригнічення площі листової поверхні порівняно з оптимальним вмістом природнього регулятора росту.

У результаті досліджень з вивчення біологічного регулятора росту виявилось, що препарат «Reglalg» має значну ауксинову активність за різних концентрацій, а контроль (ІОК, аденін) у рекомендованій концентрації не має достовірної різниці між контролем без ІОК та аденіну.

У лабораторних умовах вивчено вплив різних концентрацій біологічно активної речовини «Reglalg» на витік електролітів (рис. 1) із сегментів листків картоплі після термічного шоку (температура + 50 °С).

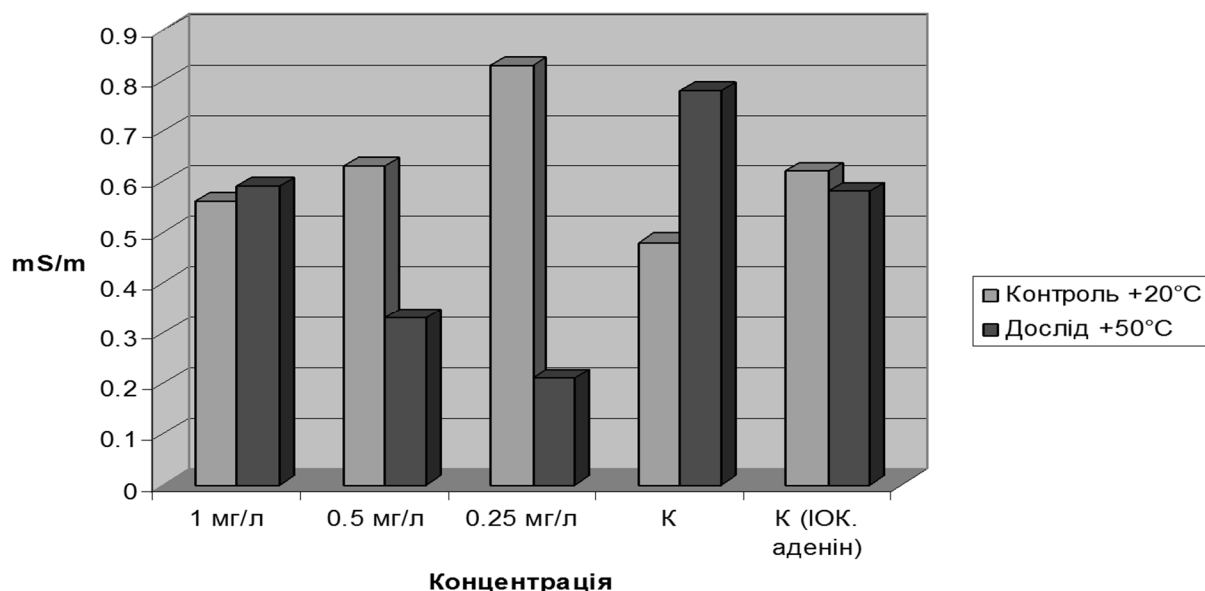


Рис. 1. Витік електролітів із сегментів листка картоплі після вирощування в культурі *in vitro* за дії високої температури

Результати аналізів показують, що різні концентрації «Reglalg» суттєво впливають на структуру і функції мембран. Це підтверджується змінами екзоосмосу під впливом різних концентрацій біологічно активної речовини. У результаті таких фізіолого-біохімічних процесів зберігаються метаболіти клітин, які підвищують стійкість рослин до різних абіотичних і біотичних факторів.

У результаті проведених досліджень визначено позитивну дію «Reglalg» на підвищення стійкості картоплі до високої температури та опосередкований вплив на загальну стійкість до хвороб. Встановлено, що за низької концентрації БАР 0,25 % визначено найнижчий рівень витоку електролітів. Отже, можна зробити висновок, що така концентрація є найбільш ефективною. Рівень витоку електролітів за високих концентрацій «Reglalg» (1%) майже рівний такому ж показнику в контролі та при застосуванні ІОК. Менш ефективну дію виявляють більш високі концентрації «Reglalg».

Підвищення стійкості рослин до стресів досягається завдяки кондиціонуванню і прискоренню реакції – відповіді рослин на дію несприятливих факторів. Таким чином, застосування «Reglalg» може забезпечити вирішення екологізації сільського господарства.

Висновки. У культурі *in vitro* доцільне застосування біологічного регулятора росту – «Reglalg» у концентрації 0,25-1 мг/л, як інгредієнта середовища з метою покращення біометричних показників рослин *in vitro* та для прискореного клонального мікророзмноження рослин картоплі.

При вивченні впливу різних концентрацій біологічно активної речовини «Reglalg» на витік електролітів досліджено найнижчий рівень витоку електролітів за низької концентрації, що підвищує стійкість рослин картоплі до різних абіотичних і біотичних факторів.

Перспективи подальших досліджень. Роботу буде продовжено у напрямку визначення впливу різних концентрацій «Reglalg» при культивуванні оздоровлених сортів картоплі в культурі *in vitro* та адаптації рослин *ex vitro*.

Список використаних літературних джерел

1. Калинин Ф.Л. Технология микроклонального размножения растений / Ф.Л. Калинин, Г.П. Кушнир, В.В. Сарнацкая. – К.: Наукова думка, 1992. – 232 с.
2. Мельничук М.Д. Біотехнологія рослин. Практикум: навч. посіб. для студ. ВНЗ / М.Д. Мельничук., І.П. Григорюк, Т.В. Новак – К.: ТОВ «Аграр Медіа Груп», 2011. – 216 с.
3. Боднарчук А.А. Наукові основи насінництва картоплі в Україні / А.А. Боднарчук. – К., 2010. – 400 с.
4. Daskalyuk A. Elimination of dormancy germination and electrolyte leacage from apple embryos during stratification / A.P. Daskalyuk // Russian j Plant Physiol. – 2002. – V. 49 – № 5. – P. 804 – 810.
5. Мельник П.О. Визначення стійкості рослин до високих температур методом витоку електролітів / П.О. Мельник, І.І. Мойса, О.Р. Доскалюк // Вісник аграрної науки. – 2006. – жовтень. – С. 44-46.
6. Dascaluic A. Influence of heat shock on chlorophyll fluorescence of white oak (*Quercus pubescens* Wild) / A. Dascaluic, T. Ralea, P. Cuza // Photosintetica. – 2007. – № 45 (3). – P. 469-471.
7. Murashige T.A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures / T. Murashige, F. Skoog // Physiol. Planta. – 1983 – № 157 – P. 385-391.
8. Оздоровлення сортів картоплі методом культури апікальних меристем: методичні рекомендації / [Т.М. Олійник, К.А. Слободян, О.О. Шевченко та ін.]; Ін-т картоплярства НААН. – Немішаєве: ТОВ «КВІЦ», 2012. – 28 с.
9. Методичні рекомендації щодо проведення досліджень з картоплею / [В.С. Куценко, А.А.Осипчук, А.А. Подгаєцький та ін.]. – Немішаєве, 2002. – 182 с.
10. Зауров О.А. Кинетика экзоосмоса электролитов теплолюбивых растений при действии пониженных температур / О.А. Зауров, А.С. Лукаткин // Физиология растений. – 1985. – Т. 32, Вып. 2. – С. 347.

Аннотация

Гунчак В.М., Шевага Г.Н., Кордулян Р.О., Кирик Н.Н.

Применение биологического регулятора роста «Reglalg» в культуре *in vitro* на растениях картофеля

Показана биологическая эффективность применения оптимальных норм «Reglalg» в процессе клонального микроразмножения оздоровленных растений картофеля. Установлено, что норма 0,25-1мг/л в культуре *in vitro* является оптимальной для регенерации черенков, образования новых лепестков (узлов), формирования полноценного растения. Определён самый низкий уровень вытекания электролитов, что объясняется повышением устойчивости картофеля к высоким температурам и косвенно влияет на общую резистентность к заболеваниям.

Ключевые слова: картофель, «Reglalg», клональное микроразмножение, вытекание электролитов, растения *in vitro*

*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-насінневій 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 %.