

УДК 633.282:577.3:631.527

РОЇК М.В., доктор с.-г. наук, професор,

БЕХ Н.С., зав. сектору,

КОЦАР М.О., аспірант,

Інститут біоенергетичних культур і цукрових буряків НААН,

e-mail: sectorinvitro@gmail.com

ОТРИМАННЯ РОЗСАДИ *MISCANTHUS x GIGANTEUS* МЕТОДОМ КЛОНАЛЬНОГО МІКРОРОЗМНОЖЕННЯ

*Наведено результати досліджень з отримання розсади рослин *Miscanthus x giganteus* біотехнологічним методом. Представлена порівняльна характеристика вегетації рослин *Miscanthus x giganteus*, вирощених з ризом та отриманих методом клонального мікророзмноження.*

Ключові слова: біоенергетика, міскантус, *in vitro*, адаптація.

Вступ. Міскантус – це багаторічна трав'яниста рослина з родини Злакових, яка нараховує біля 40 видів. Представники роду розповсюджені у тропічній, субтропічній і помірно теплій зонах Азії, Африки і Австралії. В Європу вони інтродуковані у 1930 р. як декоративна культура [5, 6, 7].

Міскантус невибагливий до ґрунтів, але гірше росте на піщаних і глинистих ґрунтах, оптимальний показник рН – 5,5-7,5. Вимагає достатнього зволоження, але може рости і у відносно сухих місцях.

Рослина з C_4 типом фотосинтезу має прямостояче стебло висотою 80-350 см, листя шкірясте лінійне або ланцетолінійне шириною 1-3 см. Волоть віялоподібна довжиною 10-30 см, довжина колосків 0,3-0,7 см. Рослина утворює кореневище з ризомами, що зберігають верхівкову бруньку і несуть у вузлах редуковані листки. У пазухах розміщені бруньки, з яких утворюються наземні пагони. Міскантус розмножується насінням та ризомами. Життєздатність насіння залежить від різновиду. Розмір насінини 5x1 мм, маса 1000 насінин 250 г [8].

Міскантус використовують як декоративну культуру для боротьби з ерозією ґрунтів, у целюлозно-паперовій промисловості, для виробництва будівельних матеріалів та як біоенергетичне паливо [3].

Для вирощування біомаси комерційне використання мають два види *M. sinensis* ($2n=2x=38$) і диплоїдний міскантус *M. sacchariflorus* ($2n=2x=38$) та тетраплоїдний *M. sacchariflorus* ($2n=4x=76$). Але найбільш продуктивним є триплоїдний стерильний гібрид *Miscanthus x giganteus* ($2n=3x=57$), отриманий від схрещування диплоїдного *M. sinensis* та тетраплоїдного *M. sacchariflorus*. *Miscanthus x giganteus* має стерильний пилок і розмножується вегетативно, з ризом, які утворюються на 2-3 рік вегетації [8].

В останні роки велике значення має використання біотехнологічних методів в розмноженні високопродуктивних селекційних матеріалів, а також для отримання нових вихідних форм рослин. Метод клонального мікророзмноження дозволяє отримати оздоровлений матеріал для комерційного використання, дає змогу розмножувати селекційні зразки упродовж року на невеликій лабораторній площі та підвищити коефіцієнт розмноження [1, 2].

Miscanthus x giganteus досить ефективно розмножується в культурі *in vitro* [9], але залишається не вивченим вплив рівня плоідності на коефіцієнт розмноження міскантусу та не розроблено методи адаптації розсади міскантусу в умови ґрунту.

Матеріали та методика досліджень. Дослідження проводили в секторі культури клітин і тканин *in vitro* та на дослідному полі «Батієва гора» Інституту біоенергетичних культур і цукрових буряків НААН України. Предметом досліджень були ризоми, сплячі бруньки *Miscanthus x giganteus*, індукування пагонів методом клонального мікророзмноження [4] і розсада *Miscanthus x giganteus* отримана методом *in vitro*.

Вихідним матеріалом слугували сплячі бруньки, видалені з ризом *Miscanthus x giganteus*.

Рослинний матеріал обробляли 10 хв. 0,005 % розчином калію марганцевокислого. Потім бруньки занурювали у розчин сулеми масовою часткою 0,2 % з експозицією 1 год. Зразки промивали автоклавованою дистильованою водою упродовж 1 год. Експланти культивували на модифікованому середовищі Мурасіге і Скуга з додаванням 6-бензиламінопурину (БАП) – 0,5 мг/л, кінетину – 1 мг/л, цукрози – 30 мг/л, рН робочого розчину 5,6-5,7.

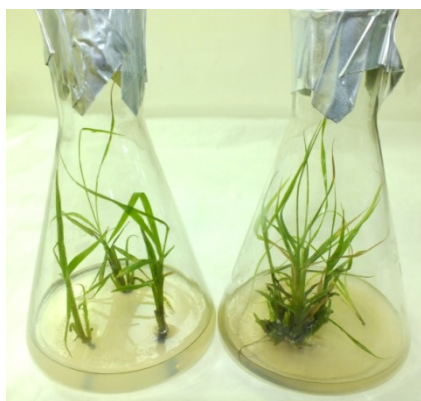
Укорінення пагонів проводили на модифікованому середовищі Мурасіге і Скуга з додаванням α -нафтилоцтової кислоти (НУК) – 0,8 мг/л, кінетину – 1 мг/л, цукрози – 30 мг/л, рН живильного середовища 5,6-5,7. Культивування проводили в термальному приміщенні з температурою 22-24 °С, за відносної вологості повітря 70 %, освітленні 3000 лк та довжині фотоперіоду 16 год.

Адаптацію рослин *in vitro* проводили в адаптаційному приміщенні у ґрунтово-перлітній суміші 3:1 – 2 місяці. Адаптація мікророслин до зовнішніх умов проходила за температури 24-25 °С, вологості 70-80 %, інтенсивності освітлення люмінесцентними лампами ЛД 40 – 2000-3000 лк, тривалості світлового періоду – 16 годин.

Ризоми міскантусу слугували контролем. Адапована розсада (I варіант) і рослини *in vitro* (II варіант) *Miscanthus x giganteus* висаджували одночасно в кінці травня в ґрунт по 100 шт. з відстанню 40 см. В період вегетації рослин проводили обліки і спостереження в кінці 1, 2, 3 місяця вегетації. Відмічали висоту рослин, кількість пагонів та листків, довжину і ширину листової пластинки.

Результати досліджень. Дослідження показали, що труднощі стерилізації пов'язані з високою інфікованістю вихідних експлантів. Але розчин сулеми масовою часткою 0,2 % при експозиції 60-70 хв. забезпечує найбільший відсоток стерильних зразків і дозволяє через тиждень культивування отримати проростання стерильних сплячих бруньок. Через 3-4 тижні культивування спостерігали утворення додаткових пагонів у кількості 2-5 шт.. Пазушне розгалуження є основним методом вегетативного розмноження. Зазвичай воно інгібується тією чи іншою мірою присутністю основного апікального пагону, але БАП у живильному середовищі знімає апікальне домінування і викликає розгалуження пагонів. Утворені латеральні пагони видаляли і переносили на свіже живильне середовище.

Дослідженнями встановлена залежність між концентрацією цитокинінів та кількістю утворених пагонів *Miscanthus x giganteus* в культурі *in vitro*: при концентрації БАП – 0,5 мг/л у живильному середовищі було отримано до 8 нових пагонів на 1 пагін. Даний коефіцієнт розмноження дозволив отримати за 5 пасажів (1 пасаж – 2 місяці) достатню кількість рослинного матеріалу для укорінення. Пагони висотою 5-6 см переносили на живильне середовище Мурасіге і Скуга з ауксином. Використання НУК (0,8 мг/л) у живильному середовищі дозволило отримати 72 % укорінених рослин. Формування кореневої системи спостерігається на 7-10 добу культивування. Отримано 2-10 коренів на 1 пагін з середньою довжиною коренів 1,3 см (рис. 1).



а)



б)

Рис. 1 Рослини міскантусу в культурі *in vitro*:

а) клональне мікророзмноження міскантусу; б) ризогенез міскантусу

Укорінені рослини міскантусу, які мали показники висоти пагонів до 10 см, розвинену кореневу систему, не менше 4-5 коренів з середньою довжиною 1,1-1,5 см висаджували для адаптації в ґрунтово-перлітну суміш у кліматичні бокси (рис. 2). Коефіцієнт приживаності становив 99 %.



Рис. 2 Адаптація міскантусу в ґрунтово-перлітній суміші



Рис. 3 Посадка культуральних рослин міскантусу в ґрунт

При посадці рослин II варіанту у ґрунт необхідними умовами є накривання їх ізоляційними ковпачками для створення мікроклімату на 7-10 діб (рис. 3).

Як показали дослідження, приживаність рослин була досить високою на всіх варіантах і становила 79-95 % (табл. 1).

Розвиток рослин *Miscanthus x giganteus*, отриманих методом клонального мікророзмноження (I-II варіант), за 1 місяць вегетації, поступається розвитку рослин, отриманих з ризом, по всіх показниках у 1,5 разу. В кінці 3 місяця вегетації рослини I-II варіанту мають показники наростання, які співпадають з показниками контролю 2 місяця вегетації.

Таблиця 1

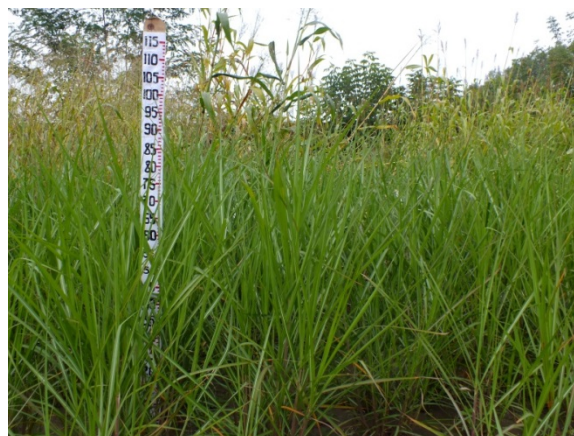
Особливості розвитку рослин *Miscanthus x giganteus* різного способу розмноження

№	Селекційний номер	Коефіцієнт приживлюваності, %	Місяць	К-ть пагонів, шт.	Висота рослин, см	К-ть листків, шт.	Довжина листків, см	Ширина листка, см
1	Контроль <i>Miscanthus x giganteus</i> з ризом	95	1 місяць вегетації	2	64	5	32	1,3
			2 місяць вегетації	4	81	6	43	1,3
			3 місяць вегетації	5	102	9	54	1,4
2	I варіант <i>Miscanthus x giganteus</i> з акліматизацією	92	1 місяць вегетації	2	28	7	15	0,5
			2 місяць вегетації	6	60	9	29	0,7
			3 місяць вегетації	9	84	9	40	0,8
3	II варіант <i>Miscanthus x giganteus</i> без акліматизації	79	1 місяць вегетації	4	38	7	20	0,6
			2 місяць вегетації	5	69	9	36	0,8
			3 місяць вегетації	11	90	10	42	0,9
4	НІР _{0,05}		1 місяць вегетації	1,61	15,95	1,72	7,74	0,10
			2 місяць вегетації	2,40	17,90	1,33	8,67	0,10
			3 місяць вегетації	4,14	13,62	1,41	7,11	0,08

Активне утворення пагонів у культуральних рослин спостерігається в другій половині вегетаційного періоду. Рослини I-II варіанту перевищують контроль за кількістю пагонів, утворених за вегетаційний період у 2 рази. Це пояснюється дією цитокінінів живильного середовища, які були накопичені у тканинах *Miscanthus x giganteus* в процесі культивування *in vitro* (рис. 4).



а)



б)

Рис. 4 Рослини міскантусу на 3 місяць вегетації:

а) *M. x giganteus* – з ризом; б) *M. x giganteus* з культури *in vitro*

Порівнюючи I та II варіанти, можна відмітити, що акліматизовані рослини мають нижчі показники наростання біомаси упродовж всього вегетаційного періоду. Пошкодження кореневої системи рослин міскантусу при перенесенні із боксів, де проводилась адаптація, у ґрунт викликає затримку ростових процесів рослин і зменшує показники наростання висоти рослин на 4 см, довжини листків на 2 см, ширини листків на 0,1 см та формують на 3 пагона менше.

Висновки. Розроблено спосіб вирощування *Miscanthus x giganteus* з використанням біотехнологічного методу, який дозволяє прискорити розмноження культури в комерційній кількості.

Сплячі бруньки з ризом *Miscanthus x giganteus* можуть бути використані для вегетативного розмноження *in vitro*, що дозволяє отримати генетично-ідентичні рослини до 3000 шт. з 1 вихідного експланта.

Встановлено особливості розвитку рослин *Miscanthus x giganteus* I року вегетації, отриманих *in vitro*, які перевищують за кількістю пагонів рослини *Miscanthus x giganteus*, отриманих з ризом, у 2 рази.

Список використаних літературних джерел

1. Бутенко Р.Г. Использование культуры тканей растений в сельскохозяйственной науке и практике. С.-х. біологія, 1979, XIV, 3. – С. 306-315.
2. Бутенко Р.Г. Технология *in vitro* в сельском хозяйстве // Сельскохозяйственная биология. – 1983. – № 5. – С. 3-8.
3. Гументик М.Я. Перспективи вирощування багаторічних злакових культур для виробництва біопалива // Цукрові буряки. – 2010. – №4. – С. 21-22.
4. Редько В.І., Ільєнко І.І, Павловська Л.Л., Білоус В.О. Методичні рекомендації по мікроклональному розмноженню цукрових буряків. К., 1997 р. – 10 с.
5. Anderson E., Arundle R., Maughan M., Olande A., Wycislo A., Voigt T. Growth and agronomy of *Miscanthus x giganteus* for biomass production. Future science. Biofuels (2011), 2(2): 167-183.
6. Heaton E.A., Dohleman F.G., Long S.P. Meeting US biofuel goals with less land: the potential of *Miscanthus*. Global Change Biol (2008), 14:2000-2014.
7. Lewandowski I., Clifton-Brown J.C., Scurlock J.J., Huisman W. *Miscanthus*: European experience with a novel energy crop. Biomass and Bioenergy (2000). (19) 209-227.
8. McKervey Z., Woods V.B. and Easson D.L. *Miscanthus* as an energy crop and its potential for Northern Ireland. – 2008. – 75 p.
9. Szilard Toth – Pal Pepo Nutrient uptake of *Miscanthus in vitro* cultures. Acta agraria. – 2002. – №1.

Аннотація

Роук Н.В., Бех Н.С., Коцар М.О.

Получение рассады *Miscanthus x giganteus* методом клонального микроразмножения.

*Приведены результаты исследований с получения рассады растений *Miscanthus x giganteus* биотехнологическим методом. Представлена сравнительная вегетационная характеристика между растениями *Miscanthus x giganteus* выращенных из ризом и полученных методом клонального микроразмножения.*

Ключевые слова: биоэнергетика, мискантус, *in vitro*, адаптация.

Annotation

Royk N., Bech N., Kotsar M.

Getting seedlings *Miscanthus x giganteus* by method of clonal micropropagation.

*The results of researches are shown on the getting of seedlings of plants *Miscanthus x giganteus* by biotechnological method. The presented comparative characteristics between plants are growing *Miscanthus x giganteus* from rhizomes and obtained by method clonal micropropagation.*

Keywords: bioenergy, miscanthus, *in vitro*, adaptation.

Отримано редакцією 30.09.13

УДК 636.085

РУДІК О.Л., кандидат с.-г. наук, доцент,

ДВНЗ «Херсонський державний аграрний університет»

e-mail: oleksandr.rudik@gmail.com

**БІОЕНЕРГЕТИЧНА ОЦІНКА КОМПЛЕКСНОГО ВИКОРИСТАННЯ
ПРОДУКЦІЇ ЛЬОНУ ОЛІЙНОГО**

У зоні сухого Степу України урожайність насіння льону олійного в середньому складає 12,8 ц/га а соломи 17,6 ц/га. При зрошенні урожайність зростає відповідно на 32,8 та 58,8 % а витрати енергії на 27,2%. Дана біоенергетична оцінка комплексному використанню маси рослини. Вилучення волокна із соломи та використання для палива костриці підвищує коефіцієнт енергетичної ефективності в 1,9-2,1 рази.

Ключові слова : льон олійний, насіння, солома, переробка соломи, волокно, костриця, енергетична ефективність.

Вступ. Виробляючи величезну кількість органічної маси у вигляді сільськогосподарських рослин людство нераціонально використовує значну її частину, оцінюючи її як відходи виробництва і навіть витрачаючи ресурси на їх утилізацію. Тому питання біологізації та гармонізації агропромислового комплексу із законами природи та біосфери є глобальна проблема, що потребує вирішення на сучасному науковому рівні. Одночасно існуючі технології дозволяють успішно використовувати деякі види рослинної маси, що переважно оцінюється як побічний матеріал, отримуючи додатково корисний продукт.

Стан вивчення питання. Продукти, які отримують із насіння льону мають широке застосування в хімічній, харчовій, комбікормовій промисловості, медицині, косметології, при цьому вчені розкривають все нові та нові сфери застосування, унікального за хімічним та жирно олійним складом, лляному насінню. Враховуючи агротехнічні, економічні і екологічні переваги, які надає культура можна очікувати збільшення його посівних площ. В науковій літературі відомо, що стебла льону олійного містять високий вміст лубу, що робить їх можливою сировиною для виробництва волокна, целюлози, вуглеводнів, композитних виробів, будівельних матеріалів, палива тощо. Зазначені виробництва існують в таких країнах як Ка-