

онтогенезе и при внесении регуляторов, стимулирующих рост. *Агрехимия*.-1999.-№ 8.-С. 49-53.

8. *Kovaleva L., Zakharova E.* Hormonal Status of the Pollen-Pistil System at the Progamic Phase of Fertilisation after Compatible and Incompatible Pollination in *Petunia hybrida* L. // *Sex Plant Reprod.* -2003. -vol. 16.- P. 191-196.

9. *Ковалева Л.В., Захарова Е.В., Минкина Ю.В., Тимофеева Г.В., Андреев И.М.*

Прорастание и рост *in vitro* мужского гаметофита петунии чувствительны к действию экзогенных гормонов и сопровождаются изменением эндогенного уровня фитогормонов // *Физиология растений*.2005. -том .52.- С.584-590.

Резюме

Прорастание мужского гаметофита в условиях *in vitro* сопровождается изменением эндогенного уровня гормонов и чувствительно к действию экзогенных гормонов. Физиологическое действие гормонов включает временное нарушение ионного гомеостаза пыльцевых зерен, а именно гомеостатической регуляции их цитоплазматического рН.

In vitro pollen grain germination is accompanied by changes in the levels of endogenous phytohormones and is sensitive to the treatment with exogenous phytohormones.

The mechanisms of signal transduction in this system involve transient change in some parameters of ionic homeostasis in pollen grain cells, such as cytosolic pH.

Проростання чоловічого гаметофита в умовах *in vitro* супроводжується зміною ендогенного рівня гормонів і чутливо до дії екзогенних гормонів. Фізіологічна дія гормонів включає тимчасове порушення іонного гомеостазу пыльцевых зерен, а саме гомеостатичної регуляції їх цитоплазматичного рН.

КОВБАСЕНКО Р.В., ДЯЧЕНКО А.І., ДМИТРИЄВ О.П.

Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України

Київ, 03143 вул. акад. Заболотного, 148, e-mail: dmyt@voliacable.com

ІНДУКЦІЯ СОМАКЛОНАЛЬНОЇ ВАРІАБЕЛЬНОСТІ У РОСЛИН ТОМАТУ

Мікроклональне розмноження рослин через калюсогенез дає унікальну можливість широко використовувати різноманітні селективні агенти для індукції соматклональної варіабельності. Це дозволяє значно прискорити відбір та розмноження необхідних ліній рослин з бажаними ознаками, зокрема стійких до збудників хвороб та шкідників з підвищеним фітоімунним потенціалом.

Хімічний метод захисту рослин у наш час став основним. Рентабельне землеробство без нього в сучасних умовах практично неможливе. Проте широке використання пестицидів забруднює навколишнє середовище. Їхня ефективність нерідко зменшується внаслідок виникнення нових вірулентних рас паразитів [1].

Ніякі пестициди неможливо замінити імунну систему рослин, а в певних випадках, навпаки, здатні її пригнічувати. Іншими словами, імунна система рослин сама потребує надійного захисту. Одним з найбільш перспективних і екологічно безпечних методів захисту рослин є індукування їх природної стійкості. Метод базується не на пригніченні фітопатогенів, що це має місце у випадку використання пестицидів, а на індукуванні імунного потенціалу рослин за тим зразком, як це має місце у природі [2].

Хоча традиційний селекційний процес, який включає гібридологічне схрещування і відбір елітних рослин в поколіннях, залишається основним, але одним з важливих напрямків селекційно-генетичної роботи є широке застосування біотехнологічних методів з використанням культури *in vitro* для створення вихідних форм рослин.

Метою роботи було вивчення можливостей різних регуляторів росту індукувати соматоклональну варіабельність у рослин томату (*Lycopersicon esculentum*).

Матеріали та методи

Використовували ряд сортів томату: Лагідний, Боян, Зорень та інші. Роботу з рослинами в культурі *in vitro* здійснювали за стандартизованими методиками [3, 4, 6, 7, 8]. Одержані рослини вирощували в тепличних та польових умовах за рекомендованими існуючими технологіями [5].

Результати та обговорення

На даний час існує достатня експериментальна інформація про мутагенну активність різних хімічних речовин [12, 13]. Так, Шевелуха з співр. вважають [14], що найбільш часто для цієї мети використовують етилен-метансульфонат і N-етилен-N-нітросечовину в якості мутагенів. Можуть також бути використані N-метил-N-нітро-N-нітрозогуанідин і N-нітрозометилсечовина.

В багатьох лабораторіях світу достатньо ефективно використовують різноманітні хімічні речовини, які проявляють сильну мутагенну активність. В результаті проведених досліджень отримані і успішно використовуються лінії і сорти картоплі, цибулі, томату, баштанних та інших сільськогосподарських культур. При роботі з хімічними мутагенами досить часто спостерігається їх токсична дія на ізольовані клітини і тому, як правило, використовують невисокі дози мутагенів, які, однак, справляють мутагенний ефект.

Для індукції калюсогенезу та стабілізації процесів регенерації з первинних калюсів (сегменти гіпокотилія і меристематичні тканини) нами були апробовані і модифіковані агаризовані живильні середовища Мурасіге і Скуга (МС) з додаванням 4 мг/л кінетину та ІОК. Серед них, для подальшої роботи, використовували найбільш морфогенні калюси.

При вивченні здатності до індукції мутагенезу ми зосередили увагу на п'яти фіторегуляторах, які досить широко використовуються у традиційному рослинництві, проявляють багатофункціональну дію і сприяють підвищенню стійкості до хвороб.

Це англійський препарат культар (діюча речовина – паклобутразол) використовується у вигляді 25 %-ного концентрату емульсії. У виробництві проводять дворазове обприскування яблуневих посадок для стимуляції утворення генеративних органів та підвищення врожайності.

Російський індуктор продуктивності рослин нарцис (діючі речовини – хітозан, бурштинова кислота, α -глутамінова кислота), що надходить на ринок у вигляді 8 %-ного водного розчину. Компоненти препарату проникають в рослинний організм, і перш за все, хітиназа і хітоназа активують роботу кореневої системи та листового асиміляційного апарату. Пролонговане підвищення імунітету до хвороб, несприятливих факторів середовища і регулююча дія (з'являється легко доступний етилен і азот, бурштинова і глутамінова кислоти вмикаються в обмін речовин рослинного організму) на фоні зниження шкідливості патогенів, забезпечує стабільний розвиток рослин протягом всього періоду вегетації, підвищення врожаю та його якості.

Фіторегулятор крезацин (95 %-ний порошок, д.р. триетаноламонієва сіль ортокрезеоцтової кислоти) стабілізує стан мембран і підвищує в них вміст вітамінів А і Е, які гальмують перекисне окислення ліпідів при низьких пошкоджуючи температурах. Він виявляє багатофункціональну дію – прискорює проростання насіння, підвищує висоту рослин, масу надземної частини і коренів, продуктивну кущистість, озерненість колосків, сприяє формуванню більших зернівок, підвищує стійкість рослин до несприятливих факторів середовища та захворювань. Цей регулятор має властивості, які підвищують морозостійкість рослин. При обробці ним посівів огірка відмічається покращення схожості на 20-50% та збільшення кількості жіночих квіток. Крезацин застосовується для обробки томату, винограду, картоплі, огірка, пшениці, ячменю, овса, рису, кукурудзи, тютюну та яблуні.

Німецький препарат пікс (5 %-ний водний розчин, діюча речовина мепікватхлорид) регулярно використовують для обприскування рослин бавовнику в процесі його вегетації з метою суттєвого прискорення дозрівання коробочок.

Російський біостимулятор фуrolан (98,9 %-на рідина, діюча речовина 2- (2-фурил) – 1,3-діоксолан), що використовується для весняного обприскування персика, сливи, черешні, аличі і абрикоса. Впливає на гормональний баланс рослин, змінюючи співвідношення фітормонів – стимуляторів і інгібіторів росту, речовин негормональної природи; активує біосинтез і транспортування метаболітів; підвищує водоутримуючу здатність листків; збільшує вміст лігніну в тканинах рослин, що сприяє підвищенню стійкості до ураження шкочочинними організмами.

Сумісне додавання запропонованих нами препаратів – регуляторів росту, зокрема культуру (0,020 мл/л) і нарцису (0,050 мл/л) до живильного середовища, що індукує процеси калюсогенезу, стимулювало мутаційний процес – утворення нового суцвіття складної китиці. Суцвіття – складна китиця формує більшу кількість плодів, таким чином зростає продуктивність культури. Новий, створений нами, сорт томату Хорів (свід. № 0744) по багатьох господарсько-важливих показниках переважає стандартний сорт Лагідний. Зокрема, загальна урожайність сорту складала понад 800 ц/га, маса товарного плода понад 130 г, а також встановлено вищий вміст сухих речовин, загального цукру і вітаміну С, що вказує на доцільність його широкого використання у виробництві [9]. Крім цього, він досить толерантний до ранньої сухої плямистості і фітофторозу.

При сукупному додаванні фіторегуляторів фуrolану (0,08 мг/л) і піксу (1,5 мг/л), до агаризованого живильного середовища за прописом МС в нашій модифікації, яке індукує процес калюсогенезу і морфогенезу в культурі *in vitro* стимулювало мутаційний процес – формування твердих плодів томату, пристосованих до більш тривалого транспортування та зберігання, а також можливості їх механізованого збирання комбайном. Робоча гіпотеза дослідження базувалася на вивченні можливостей цих двох діючих речовин, або їх можливих метаболітів, індукувати корисні мутації тому, що основне традиційне призначення даних фітостимуляторів – інтенсивна стимуляція процесів росту та дозрівання плодів, де, як нам здавалося, можливість індукції мутагенезу була більш, ніж достатньою. У процесі подальших ретельних відборів ліній в яких селекційно-генетична ознака – тверді плоди, мала домінуючий характер. Порівняння показників створеного нами нового сорту томату Бобрицький (свід. № 08115) по багатьох господарсько-важливим показникам, а особливо по твердості плоду, переважає стандартний сорт Лагідний [8]. Встановлено його досить високу толерантність до ураження фітофторозом і ранньою сухою плямистістю.

Розширюючи ще більше діапазон регуляторів росту для стабілізації ранньостиглості томату в якості селективних агентів використовували: для «поліпшення» можливої негативної дії етилену 0,4 мг/л нітрату срібла, 1,5 мг/л абсцизової кислоти, яка пригнічує ріст клітин, а також є інгібітором широкого спектру дії і робить можливим реалізацію активності інших фітормонів та 0,1 мг/л крезацину. Робоча гіпотеза базувалася на детальному вивченні можливостей „прориву” окремих клітин у невеликих калюсних агрегатах на фоні досить жорсткої депресивної ситуації, яка була викликана досить нестандартним складом живильного середовища. Нами отримані нові ранньостиглі сорти томату. Створений нами, сорт томату Борівський по багатьох господарсько-важливих показниках, зокрема по вмісту каротину, сухих речовин, вітамінів, а головне по ранньостиглості, переважає стандартний сорт Світанок [11]. За рахунок своєї індукованої ранньостиглості сорт встигає віддати досить значну частину свого урожаю, якщо проходить масований розвиток основних шкочочинних організмів.

Суміш фіторегуляторів росту у визначених нами дозах при додаванні до модифікованого нами мінерально-сольового агаризованого середовища за прописом МС при калюсогенезі індукує мутаційний процес генеративних органів рослин томату.

При проведенні наукових досліджень по індукції соматональної варіабельності рослин томату в культурі *in vitro*, необхідно відмітити, що для успішної роботи в цьому напрямку є кілька нюансів: оптимізація живильних середовищ для калюсогенезу і морфогенезу та підбір відповідних індукторів. Запропоновані нами індуктори соматональної варіабельності крезацин, абсцизова кислота, нітрат срібла, пікс, фуrolан, культуар і нарцис у визначеному діапазоні дають унікальну можливість успішно

«конструювати» рослини із суцвіттям складної китиці, стійких до хвороб, придатних для тривалого зберігання і транспортування, а також виділити ранньостиглі форми.

На нашу думку, результати цих досліджень можуть бути використані і на інших культурах для пошуку нових індукторів соматоклональної варіабельності рослин в культурі *in vitro* з метою подальшого одержання перспективних сортів і гібридів з господарсько-важливими ознаками.

Висновки

Фіторегулятори росту культар, нарцис, пікс, фуrolан і кразацин індукують соматоклональну варіабельність рослин томату в культурі *in vitro* та підвищують їх продуктивність та хворобостійкість. Обробка цими регуляторами дає можливість одержувати нові вихідні форми із господарсько-важливими ознаками, толерантними до збудників ранньої сухої плямистості і фітофторозу.

Література

1. Дмитрієв О.П. Фітоімунітет. В Зб. Фізіологія рослин в Україні на межі тисячоліть. – 2001. – Т. 1. – С. 38-51.
2. Дмитрієв О.П. Індукування системної стійкості у рослин біогенними елісаторами // Збірник наук. праць Селекційно-генетичного Ін-ту. - 2008. – Одеса СГІ-НЦНС. - С. 256-265.
3. Бутенко Р.Г. Культура изолированных тканей и физиология морфогенеза. -М.: Наука, 1964. – 272 с.
4. Бутенко Р.Г. Культура клеток растений и биотехнология. – М.: Наука, 1986. – 344 с.
5. Довідник по овочівництву і баштанництву. К.: Урожай, 1981. – 293 с.
6. Желтоножська Л.В., Мусіяка В.К., Ковбасенко В.М., Третяк С.В., Ковбасенко К.П. Методичні аспекти створення вихідних форм томата, толерантних до абіотичних факторів // Овочівництво і баштанництво. – 2002. – вип. 47. – с. 109-112.
7. Калинин Ф.Л., Кушнир Г.П., Сарнацкая В.В. Технология микрклонального размножения растений. К.: Наукова думка, 1992. – 232 с.
8. Ковбасенко В.М. Особливості калюсогенезу помідорів// Овочівництво і баштанництво. – 1995. – вип. 40. – с. 25-26.
9. Ковбасенко Р.В., Ковбасенко К.П., Ковбасенко В.М. Індукція суцвіття складної китиці у томата// Овочівництво і баштанництво. – 2005. – вип. 51. – с. 260-263.
10. Ковбасенко Р.В., Ковбасенко В.М. Індукція твердості плода у томата// Науковий вісник національного аграрного університету. – 2008. – вип. 118. – с. 42-45.
11. Ковбасенко Р.В., Ковбасенко В.М. Індукція раннеспелості у томата// Современные тенденции в селекции и семеноводстве овощных культур. Традиции и перспективы. Материалы 1 Междунар. научно-практич. конференции. М. ВНИИССОК, 2008. – с. 302-304.
12. Муромцев Г.С., Бутенко Р.Г., Тихоненко Т.И., Прокофьев М.И. Основы сельскохозяйственной биотехнологии. М.: Наука, 1990. – 296 с.
13. Шевелуха В.С. Рост растений и его регуляция в онтогенезе. М.: Колос, 1992. – 325 с.
14. Шевелуха В.С., Калашникова Е.А., Воронин Е.С. и др. Сельскохозяйственная биотехнология. М.: Выс. шк., 2003. – 469 с.

Резюме

Експериментально підтверджена можливість індукції соматоклональної варіабельності рослин томата в культурі *in vitro* і отримання нових вихідних форм при використанні в якості селективних агентів фіторегуляторів росту - кразацин, пікс, фуrolан, культар і нарцисс.

Експериментально підтверджена можливість індукції соматоклональної варіабельності рослин томату в культурі *in vitro* і одержання нових вихідних форм при використанні в якості селективних агентів фіторегуляторів росту - кразацин, пікс, фуrolан, культар і нарцисс.

Experimentally confirmed a possibility of somaclonal variability induction of tomato plants *in vitro* and receiving some new initial forms by usage of selective agents of phytohormones - krezacin, piks, furolan, kultarr and narcissus.