

ВИКОРИСТАННЯ БІОПРЕПАРАТІВ ДЛЯ АДАПТАЦІЇ МІКРОРОСЛИН КАРТОПЛІ ДО УМОВ *IN VIVO*

¹Демчук І.В., ¹Волкова І.В., ²Пустовойт О.М.

¹Інститут сільськогосподарської мікробіології НААН,
вул. Шевченка, 97, м. Чернігів, 14027

²Чернігівський національний педагогічний університет
імені Т.Г. Шевченка

E-mail: demchuk-inga@rambler.ru

Досліджено можливість підвищення адаптивної здатності рослин картоплі in vitro до умов ґрунту за використання біопрепаратів Фітодоктор, Мікосан, Оптим-гумус, Хетомік та Кладостим. Визначено ауксинову, цитокінінову, гіберелінову активність їх розчинів та вивчено вплив біопрепаратів при переведенні в умови in vivo на ріст та продуктивність мікророслин картоплі. З'ясовано, що серед досліджуваних розчинів найбільшу активність за біотестами виявляє біопрепарат Оптим-гумус, а на продуктивність рослин найкраще впливають препарати Фітодоктор, Кладостим, Хетомік, Мікосан.

Ключові слова: картопля, рослини *in vitro*, біопрепарати, адаптація

Значну частину вихідного матеріалу для відтворення еліти картоплі отримують біотехнологічними методами. Оздоровлення рослин шляхом культивування меристем у поєднанні з термо-і хіміотерапією експлантів та наступним мікроклональним розмноженням дає можливість отримати значну кількість безвірусного матеріалу – рослин *in vitro*. Проте особливий культуральний фенотип пробіркових рослин, обумовлений штучно створеними умовами *in vitro*, призводить до надзвичайно низького коефіцієнту приживання мікророслин у відкритому ґрунті [1]. На відміну від рослин відкритого ґрунту, провідна система рослин *in vitro* знаходиться в незрілому стані, судини ксилеми значно редуковані, не функціонують продихи, іншим чином відбувається поглинання води клітинами. Комплекс абіотичних факторів *in vitro* спричиняє у мікророслин адаптивні зміни, які є доцільними лише у даному специфічному середовищі, тому при пересаджуванні з пробірки в ґрунт вони піддаються глибокому стресу, який продовжується до тих пір, доки вказані системи не прийдуть

до норми, тобто доки не закінчиться їх переадаптація [2]. У практичній роботі застосовують різноманітні способи забезпечення оптимальних умов для адаптації рослин картоплі *in vitro* до умов *ex vitro*, зокрема, за використання біопрепаратів, діючою основою яких є гриби або бактерії. Велика кількість досліджень присвячена вивченню взаємодії ендофітів – представників роду *Pseudomonas* з картоплею на етапах рослин *in vitro*, розсади та бульбового матеріалу. Так, повідомляють, що інокульована розсада з 6-тижневих рослин картоплі *in vitro* в ґрунті відрізнялася потужним ростом, а інокульовані бульби раніше проростали, рослини краще розвивалися, зростали урожай і частка стандартних бульб порівняно з небактеризованим контролем [3].

Дослідженнями співробітників Інституту сільськогосподарської мікробіології НААН виявлено рістстимулювальну дію щодо рослин картоплі *in vitro* культуральної рідини мікроміцета *Chaetomium cohlides* Palliser 3250 та біопрепарату на його основі [4].

Метою даної роботи було дослідження можливості підвищення адаптивної здатності рослин картоплі *in vitro* до умов ґрунту за допомогою біопрепаратів Фітодоктор, Мікосан, Оптимгумус, Хетомік та Кладостим. Для цього визначали ауксинову, цитокінінову, гіберелінову активність робочих розведень розчинів біопрепаратів і досліджували їх вплив при переведенні в умови *in vivo* на ріст, розвиток та продуктивність мікророслин картоплі.

Матеріали і методи. Для виявлення фізіологічної активності та робочих концентрацій розчинів біопрепаратів користувалися методиками специфічних біотестів [5, 6], застосовуючи як тест-рослини озиму пшеницю (ауксинова активність), огірок (цитокінінова активність) та кукурудзу (гіберелінова активність).

У дослідах використовували наступні біопрепарати. Оптимгумус – гумінове добриво (ТУ У 24.1-05540184-004-2007, ПП Науково-інноваційний комплекс «Екологія», Херсонська обл., Україна), отримане з біогумусу, виробленого каліфорнійськими хробаками. За інформацією розробника є ефективним комплексним біодобривом для квітів та багатьох рослин саду і городу. Успішно використовується при пересадці розсади квітів і саджанців молодих дерев, а також протягом літа при поливі і як добриво для позакореневого підживлення. Препарат сприяє збільшенню рухливості біогенних елементів ґрунту, стимулює розмноження

грунтових бактерій, ріст розсади і коренеутворення. Також збільшує стійкість до несприятливих умов під час засухи або зниження температур.

Фітодоктор – бактеріальний препарат ДП «ЕНЗИМ» (ТУ У 24.2-32813696 007:2007, виробництво «ЕНЗИМ», м. Ладижин, Україна). Це порошковий біологічний препарат пролонгованої дії для профілактики та лікування сільськогосподарських рослин від комплексу грибних та бактеріальних хвороб. Основою препарату є жива спорова бактерія *Bacillus subtilis*, яка продуктами своєї життєдіяльності пригнічує розвиток багатьох фітопатогенних грибів і бактерій, а також сприяє підвищенню імунітету й стимулює розвиток рослин.

Мікосан – препарат-імуностимулятор (ТУ У 24.2-23710945-003-2001, ТОВ «Міктон-Аглікон», м. Боярка Київської обл.). Діючою речовиною є специфічні полісахариди, глюкани і олігохітин, які стимулюють в рослинних клітинах синтез ферментів, внаслідок чого забезпечується висока і пролонгована захисна дія на рослини: підвищується стійкість до екстремальних кліматичних умов, зростає поглинання макро- та мікроелементів та підвищується урожайність культур.

Кладостим – стимулятор росту (Інститут сільськогосподарської мікробіології НААН). Препарат є продуктом метаболізму сапрофітного гриба *Cladosporium* sp., містить комплекс фітогормонів (ауксинів, гіберелінів, цитокінінів), еліситорів (арахідонова кислота) і мікроелементи. Препарат активує синтез усіх форм РНК, а також ДНК і білків, стимулює поділ клітин, ріст стебел, провідних пучків, коренів. Арахідонова кислота, як біогенний еліситор, індукує у тканинах рослин системну імунну відповідь на дію несприятливих умов, підвищує стійкість рослин до збудників хвороб, низьких температур та інших негативних чинників. При застосуванні Кладостиму поліпшується якість продукції та суттєво зростає урожайність сільськогосподарських культур.

Хетомік – біопрепарат на основі штаму мікроміцета *Chaetomium cohlisodes* Palliser 3250 (Інститут сільськогосподарської мікробіології НААН). Біопрепарат являє собою порошок коричневого кольору, один грам якого містить 0,4-0,5 млрд спор. На картоплі рекомендується для поліпшення живлення рослин та захисту від таких хвороб, як звичайна і срібляста парша картоплі, ризоктоніоз.

Для порівняння застосовували хімічний протруйник Шедевр (діюча речовина імідаклоприд, 208 г/л + тіабендазол, 80 г/л).

Робочі розчини препаратів готували за інструкціями виробників.

Для дослідження впливу біопрепаратів на адаптацію рослин *in vitro* до умов відкритого ґрунту використовували мікроклони картоплі сортів Адретта і Жуковська рання з колекції оздоровлених сортів ІСГМ НААН. Для цього оздоровлені рослини *in vitro* висаджували у плівкові рулони і підрощували впродовж трьох тижнів. Кореневу систему мікророслин сорту Адретта обробляли препаратами Кладостим (1:1000, 1:5000), Хетомік (1:100) і Шедевр (1:20) перед висаджуванням у рулони, а рослини сорту Жуковська рання – при висаджуванні з рулонів у відкритий ґрунт за схемою:

- 1 – контроль – обробіток кореневої системи розсади водою;
- 2 – обробіток препаратом Фітодоктор (1:500);
- 3 – обробіток препаратом Кладостим (1:1000);
- 4 – обробіток препаратом Оптим-гумус (1:1000);
- 5 – обробіток препаратом Мікосан (1:100).

Догляд за насадженнями (прополювання, окучування, захист від шкідників) проводили на всіх ділянках однаково. Статистичний обробіток отриманих результатів здійснювали згідно методик статистичних аналізів у сільському господарстві і біології [7] та набору комп'ютерних програм STATISTICA 6.0.

Результати та обговорення. Нашими попередніми дослідженнями [4] показано, що внесення препарату Хетомік у землесуміш для виготовлення плівкових рулонів сприяє кращій приживлюваності пробіркових рослин, а також значному підсиленню росту і розвитку розсади картоплі різних сортів. Збільшується товщина стебла, площа листків, маса рослин, у т.ч. кореневої системи. Рослини мають інтенсивно-зелене забарвлення. Метаболіти гриба у культуральній рідині мають значну фізіологічну активність (при розведенні 1:100–1:10000 прирости показників ауксинової активності розчинів знаходяться в межах 145,7–233,3 %, цитокінінової – 264,7–335,3 %, гіберелінової – 124,6–132,2 %).

Препарати, дію яких планувалося дослідити на мікророслинах картоплі вперше, було перевірено методом біотестів та встановлено (табл. 1), що Фітодоктор та Оптим-гумус мають значну ауксинову активність (прирости показників – 136,4 та 124,2 %). Розчин препарату Мікосан у рекомендованій концентрації має

достовірний інгібуючий ефект, а при розведенні 1:100 його дія не відрізняється від контролю.

За результатами вагового біотесту на сім'ядолях огірка, найбільшу цитокінінову активність мали препарати Оптим-гумус та Мікосан у розведенні 1:100 (прирости, відповідно, – 163,2 і 123,7 %). У рекомендованій концентрації розчин препарату Мікосан спричинив дегідратацію клітин, внаслідок чого сім'ядолі огірка зменшилися в початковій масі та розмірах.

Гіберелінова активність виявлена лише у препараті Оптим-гумус (приріст 118 %).

Таблиця 1. Порівняльний аналіз фізіологічної активності досліджуваних речовин

Варіанти досліджу	Фітогормональна активність (приріст, %)		
	ауксинова	цитокінінова	гіберелінова
Контроль 1 – вода	100	100	100
Контроль 2 – ІОК, 10 ⁻⁵ М	233,3	–	–
Контроль 2 – кінетин, 10 ⁻⁵ М	–	429,4	–
Контроль 2 – ГК, 0,00001%	–	–	152,2
Фітодоктор	136,4	23,7	71,9
Оптим-гумус	124,2	163,2	118,0
Мікосан	37,9	-21,1	14,1
Мікосан, 1:100	89,4	123,7	84,4

Дію препаратів Кладостим, Хетомік та Шедевр досліджено на рослинах мікроклону Адретта (табл. 2). Найбільша кількість рослин, що прижилися, а також кондиційної розсади, була у варіанті із застосуванням препарату Кладостим у концентрації 1:5000. Тритижнева розсада в цьому варіанті достовірно відрізнялася від рослин контролю за висотою і масою. Висота і маса рослин також збільшувалися під впливом препарату Кладостим у концентрації 1:1000. Обробіток мікророслин іншими препаратами сприяв збільшенню коефіцієнтів приживання рослин і виходу кондиційної розсади відносно контролю. Погодні умови, що склалися впродовж вегетаційного періоду, не дали повною мірою виявити вплив препаратів на урожайність міні-бульб. Збільшення маси клонів у варіантах із застосуванням Кладостиму (1:5000) та Хетоміку, як і зменшення цього показника у варіанті з обробітком препаратом Шедевр, знаходились у межах похибки.

Таблиця 2. Вплив препаратів на ріст та розвиток рослин картоплі сорту Адретта

Препарати	Прижилося рослин, %	Тритижнева розсада, рослини			Урожайність	
		кондиційні, %	висота, см	маса, г	маса клону, г	кількість бульб, од.
Контроль	84	68	14,4±0,58	4,27±0,330	168,9±21,23	3,5±0,31
Кладостим, 1:1000	76	76	17,6±0,44*	5,46±0,496	164,8±22,36	3,9±0,28
Кладостим, 1:5000	96	92	16,0±0,39*	5,53±0,298*	175,2±17,59	3,6±0,22
Хетомік, 1:100	88	72	15,3±0,43	4,11±0,289	175,5±23,40	3,5±0,45
Шедевр, 1:20	84	80	14,8±0,44	4,18±0,301	136,4±9,34	3,9±0,48

Примітка. * виділено значення, які достовірно відрізняються від контролю за *t*-тестом

При вирощуванні оздоровленого матеріалу картоплі сорту Жуковська рання з тритижневої розсади було апробовано застосування біопрепаратів Мікосан, Кладостим, Фітодоктор, Оптим-гумус (табл. 3).

Таблиця 3. Вплив біопрепаратів на продуктивність рослин картоплі сорту Жуковська рання у першому бульбовому поколінні

Варіанти дослідів	Маса клону		Кількість бульб		Маса бульб	
	г	%	од.	%	г	%
Контроль	27,4±5,86	100	3,1±0,55	100	8,5±065	100
Мікосан	53,5±7,77*	195,3	3,9±0,55	124,6	14,2±1,52*	166,7
Кладостим	59,2±7,51*	216,1	3,4±0,50	108,6	18,4±1,21*	216,0
Фітодоктор	78,8±8,10*	287,6	4,9±0,77	156,5	17,1±0,92*	200,7
Оптим-гумус	35,5±5,82	129,6	3,9±0,48	124,6	9,1±1,21	106,8

Примітка. * виділено значення, які достовірно відрізняються від контролю за *t*-тестом.

Достовірно збільшувалася маса клонів за впливу препаратів Фітодоктор, Кладостим, Мікосан – від 287,6 до 195,3 %. Ці препарати сприяли збільшенню маси бульб на 216,0 % (Кладостим), 200,7 % (Фітодоктор) та 166,7 % (Мікосан). Кількість бульб у клонах збільшувалася неістотно, що можна пояснити більш вагомим впливом фактору погоди під час вегетації. Дані структури урожаю рослин у варіанті із застосуванням препарату Оптим-гумус не мають достовірних відмінностей від контролю. Можливо, однократного обробітку рослин цим препаратом було недостатньо для отримання істотного приросту урожаю.

Таким чином, виявлення ауксинової активності біопрепарату Фітодоктор, комплексної фітогормональної дії біопрепарату Оптим-гумус дозволяє рекомендувати їх, як і експериментальний препарат Кладостим, до застосування в технології вирощування оздоровленого матеріалу сортів картоплі для адаптації рослин *in vitro* до умов *in vivo*. З'ясовано, що препарат Мікосан в описаній технології слід застосовувати в розведенні 1:100, при якому він виявляє найвищу цитокінінову активність.

1. Реуцкий В.Г. Жизнеспособность пробирочных микроклонов картофеля и перспективы повышения их качества /Реуцкий В.Г., Банадысев С.А., Родионов П.А, Коновалова Г.И. //Актуальные проблемы защиты картофеля, плодовых и овощных культур от болезней, вредителей и сорняков: Междунар. научно-практ. конфер., посвященная 100-летию со дня рождения Н.А. Дорожкина (Самохваловичи, 9-12 августа 2005 г.). – Минск, 2005. – С. 27–32.

2. Реуцкий В.Г. Жизнеспособность растений картофеля *in vitro*. Анализ проблемы и методика оценки /Реуцкий В.Г., Родионов П.А., Зубей Е.С., Ашихмина Н.С. //Картофелеводство: сб. науч. тр. /РУП «Научно-практ. центр НАН Беларуси по картофелеводству и плодоовощеводству». – Минск, 2007. – Т. 12. – С. 93–104.

3. Frommel M.I. Treatment of potato tubers with a growth promoting *Pseudomonas sp.*: plant growth responses and bacterium distribution in the rhizosphere /Frommel M.I., Nowak J., Lazarovits G. //Plant and Soil. – 1993. – Vol. 150, № 1. – P. 51–60.

4. Демчук І.В. Використання гриба-антагоніста *Chaetomium cochliodes* Palliser 3250 в технології виробництва вихідного матеріалу картоплі /Демчук І.В., Петренко О.М., Надкерничний С.П. [та ін.] //Інтегрований захист рослин на початку XXI століття. Матеріали міжнар. науково-практ. конфер. – К.: Колоб'іг, 2004. – С. 399–406.

5. Кефели В.И. Определение биологической активности свободных ауксинов и ингибиторов роста в растительном материале /Кефели В.И., Турецкая Р.Х., Коф Э.М., Власов П.В. //Методы определения фитогормонов, ингибиторов роста, дефолиантов и гербицидов. – М.: Наука, 1973. – С. 7–21.

6. Методические рекомендации по определению фитогормонов. – К.: Институт ботаники АН УССР, 1988. – С. 41–45.

7. Комп'ютерні методи в сільському господарстві та біології: Навч. посіб. /О.М. Царенко, Ю.А. Злобін, В.Г. Скляр, С.М. Панченко. – Суми: Університетська книга, 2000. – 203 с.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БИОПРЕПАРАТОВ ДЛЯ АДАПТАЦИИ МИКРОРАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ К УСЛОВИЯМ *IN VIVO*

¹Демчук И.В., ¹Волкова И.В., ²Пустовойт А.М.

¹Институт сельскохозяйственной микробиологии НААН,
г. Чернигов

²Черниговский национальный педагогический университет
имени Т.Г. Шевченко

*Исследована возможность повышения адаптивной способности растений картофеля *in vitro* к условиям грунта с помощью биопрепаратов Фитодоктор, Микосан, Оптим-гумус, Хетомик и Кладостим. Определены ауксиновая, цитокининовая, гиббереллиновая активность их растворов, изучено влияние биопрепаратов при переводе в условия *in vivo* на рост и продуктивность микрорастений картофеля. Установлено, что среди исследованных растворов наибольшую активность по биотестам проявляет биопрепарат Оптим-гумус, а на продуктивность растений лучше всего влияют препараты Фитодоктор, Кладостим, Хетомик, Микосан.*

Ключевые слова: картофель, растения *in vitro*, биопрепараты, адаптация.

USING OF BIOLOGICAL PREPARATIONS FOR ADAPTATION OF *IN VITRO* POTATO PLANTS TO *IN VIVO* CONDITIONS

¹Demchuk I.V., ¹Volkova I.V., ²Pustovoyt A.M.

¹Institute of Agricultural Microbiology NAAS, Chernihiv

²Chernihiv National T.G. Shevchenko Pedagogical University

The possibility of improving the adaptive capacity of in vitro potato plants to soil conditions under the use of biological preparations like Phytodoctor, Mikosan, Optim-humus, Chaetomic and Kladostim was investigated. After determination of auxin, cytokinin, gibberellic activity of their solutions, the effect of biological preparations on the growth and productivity of potato microplants upon their transfer to the in vivo conditions was studied. Among the investigated solutions the most bioassay activity was observed for biological preparation Optim-humus, while Phytodoctor, Kladostim, Chaetomic, Mikosan had higher effect on plant productivity.

Key words: potato, in vitro plants, biological preparations, adaptation.