

**НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ АГРАРНИХ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ БІОЕНЕРГЕТИЧНИХ КУЛЬТУР І ЦУКРОВИХ БУРЯКІВ**

Коцар Марія Олександрівна

УДК: 633.282:577.3:631.527

**ОЦІНКА ТА ДОБІР ВИХІДНОГО МАТЕРІАЛУ ДЛЯ СЕЛЕКЦІЇ
МІСКАНТУСУ БІОТЕХНОЛОГІЧНИМИ МЕТОДАМИ**

06.01.05 – селекція і насінництво

Автореферат

дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата сільськогосподарських наук

Київ – 2019

Дисертацією є рукопис

Робота виконана в Інституті біоенергетичних культур і цукрових буряків НААН

Науковий керівник: доктор сільськогосподарських наук, професор,
академік НААН, директор
Роїк Микола Володимирович,
Інститут біоенергетичних культур і
цукрових буряків НААН України

Офіційні опоненти: доктор сільськогосподарських наук, доцент,
професор кафедри екобіотехнології та
біорізноманіття
Кляченко Оксана Леонідівна,
Національний університет біоресурсів і
природокористування МОН України

кандидат сільськогосподарських наук, професор,
провідний науковий співробітник відділу
генетики, селекції та репродуктивної біології
рослин
Опалко Анатолій Іванович,
Національний дендропарк «Софіївка» НАН
України

Захист відбудеться «19» березня 2019 р. о 10⁰⁰ годині на засіданні
Спеціалізованої вченої ради Д 26.360.01 в Інституті біоенергетичних культур і
цукрових буряків НААН за адресою: 03141, м. Київ, вул. Клінічна, 25, корпус 1.

З дисертацією можна ознайомитися в бібліотеці Інституту біоенергетичних
культур і цукрових буряків НААН за адресою: 03141, м. Київ, вул. Клінічна, 25,
корпус 2.

Автореферат розіслано «19» лютого 2019 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради,
доктор сільськогосподарських наук

Л. І. Сторожик

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. В Україні стрімко розвивається біоенергетика, яка останні десятиріччя стала одним із стратегічних напрямів розвитку сектора відновлюваних джерел енергії. З огляду на високу залежність країни від імпортованих джерел енергоносіїв та великий потенціал біомаси, агросектору необхідно мати широкий спектр біоенергетичних багаторічних сільськогосподарських культур (сорго, міскантус, енергетична верба, цукровий буряк, свічграс та ін.), що використовуються для вироблення тепло- та електроенергії. Рослини роду *Miscanthus* Andersson родини Тонконогові (Poaceae Barnhart), у плані вирощування як біоенергетичної культури, мають великі перспективи.

В Інституті біоенергетичних культур і цукрових буряків НААН зібрано колекцію генотипів міскантусу різного походження, серед якої необхідно було відібрати толерантні до абіотичних чинників генотипи у зв'язку з тим, що внаслідок глобального потепління і негативного антропогенного впливу щорічно зростають площі земель з деградованими ґрунтами, на яких можна вирощувати міскантус. Однак, для розкриття його біоенергетичного потенціалу необхідно використовувати форми, толерантні до посухи і засолення ґрунтів. Оцінку та добори таких форм доцільно проводити за допомогою методів біотехнології, що значно прискорить селекційний процес. Ідентифікацію цінних генотипів можна здійснювати *in vitro* на селективних середовищах з додаванням різних концентрацій маніту та солей, співвідношення між якими необхідно підбирати експериментально, а перевірку – в умовах *ex vitro*.

З'ясування цих аспектів, що ґрунтуються на включенні біотехнологічної ланки в селекційний процес, і визначає актуальність наших досліджень та дає можливість запропонувати сільськогосподарському виробництву толерантні до абіотичних стресів види міскантусу з високою продуктивністю та біоенергетичною цінністю.

Зв'язок роботи з науковими програмами. Дослідження за темою дисертаційної роботи виконували упродовж 2012–2015 рр. відповідно до плану науково-дослідних робіт Інституту біоенергетичних культур і цукрових буряків НААН, згідно програми ПНД 22 «Біоенергетичні ресурси» завдання «Розробити нові біотехнологічні методи створення нових селекційних матеріалів біоенергетичних культур міскантусу та свічграсу» (номер державної реєстрації 0111U000534).

Мета і завдання дослідження. Метою дослідження було визначення селекційної цінності міскантусу різного походження як біоенергетичної культури біотехнологічними методами, оцінити і відібрати види толерантні до посухи та засолення ґрунтів.

Для досягнення поставленої мети програмою досліджень передбачено вирішення наступних завдань:

- оптимізувати способи стерилізації вихідного рослинного матеріалу міскантусу для введення їх *in vitro*;

- визначити оптимальні концентрації та експозиції дії стресових чинників маніту та солей на життєздатність експлантів різних генотипів міскантусу *in vitro* з застосуванням систем селективних живильних середовищ;
- оцінити зміну активності ферментів антиоксидантного захисту, вміст хлорофілів *a* і *b* та сухої речовини у видів міскантусу *in vitro* залежно від умов стресу;
- удосконалити методику клонального мікророзмноження міскантусу *in vitro* та розробити експрес-метод оцінки ступенів толерантності рослин до абіотичних чинників;
- дослідити біоморфологічні та фізіолого-біохімічні показники реакції рослин міскантусу, відібраних *in vitro*, до сольового стресу та різної вологоємності ґрунту в умовах вегетаційного досліджу;
- визначити приживлюваність рослин міскантусу *in vitro* в умовах відкритого ґрунту за попередньої адаптації в теплиці та в польових умовах;
- з'ясувати елементи структури урожаю біомаси та вихід енергії у різних видів міскантусу в польових умовах Ялтушківської ДСС.

Об'єкт дослідження – добір толерантних до абіотичних стресових чинників (посуха, засолення) генотипів міскантусу *in vitro* та перевірка відібраних форм за господарсько-цінними ознаками *ex vitro*.

Предмет дослідження – насіння різних генотипів міскантусу, ризоми зі сплячими бруньками гібриду *Miscanthus giganteus*, пагони міскантусу *in vitro* та рослини виділених форм з ознаками толерантності до посухи та засолення *ex vitro*.

Методи досліджень. Лабораторні дослідження (біотехнологічний, анатомо-морфологічний, цитологічний, біохімічний та спектрофотометричний), польові (вегетаційні досліді з контролем абіотичних чинників, випробування *ex vitro* генотипів за показниками продуктивності), математично-статистичний (оцінка достовірності отриманих результатів).

Наукова новизна одержаних результатів.

Уперше:

- теоретично обґрунтовано і розроблено принципи добору *in vitro* толерантних до посухи і засолення генотипів міскантусу і відібрано перспективні форми як вихідний селекційний матеріал, в т. ч. для комерційного використання міскантуса як біоенергетичної культури;
- розроблено експрес-метод оцінки ступенів толерантності рослин міскантусу до абіотичних чинників *in vitro*.

Удосконалено методику клонального мікророзмноження рослин міскантусу на основі підбору стерилізуючих реагентів, їх експозицій та додавання різних концентрацій цитокінінів та ауксинів у живильні середовища.

Набули подальшого розвитку наукові положення щодо особливостей прояву закономірностей мінливості генотипів під впливом контрольованих абіотичних чинників *in vitro* та методи підвищення ефективності селекційної роботи на основі ідентифікації цінних генотипів і прискорення селекційного процесу.

Практичне значення одержаних результатів. Експериментально підтверджено відповідність доборів толерантних до посухи і засолення генотипів міскантусу на основі застосування абіотичних стресових чинників *in vitro*, у вегетаційних дослідах та у польових умовах (*ex vitro*). Виділено нові форми *M. giganteus* (зразки № 1 та № 2), які поєднують ознаки толерантності до осмотичного та сольового стресів і вихід енергії, що перевищує середні показники по групі на 26,1 і 59,4 %.

Для селекційної практики рекомендується використання методичних рекомендацій «Оцінка та отримання нових форм міскантусу толерантних до абіотичних стресових факторів в умовах *in vitro*» (Київ, 2015 р.) та «Створення поліплоїдних форм міскантусу і проса прутоподібного в культурі *in vitro*» (Київ, 2015 р.). Для прискорення селекційного процесу добору джерел толерантності доцільно застосовувати експрес-метод оцінки ступенів толерантності рослин міскантусу до абіотичних чинників.

Особистий внесок здобувача. Дисертаційну роботу виконано автором самостійно. Зроблено глибокий аналіз вітчизняних та зарубіжних літературних джерел за темою дисертації, розроблено програму і схему дослідів згідно з чинними методиками, закладено і проведено лабораторні, вегетаційні та польові досліди, узагальнено отримані експериментальні дані та здійснено їх статистичний аналіз, сформовано загальні висновки та рекомендації селекційній практиці. Автором у співавторстві розроблено методичні рекомендації для експрес-оцінки толерантності до абіотичних стресових чинників великих обсягів селекційного матеріалу міскантусу. За результатами проведених досліджень самостійно та в співавторстві опубліковано наукові праці (частка авторського внеску в останніх становить 55–100 %).

Апробація результатів дисертації. Основні положення і результати досліджень викладено та обговорено на щорічних звітах методичної комісії Інституту біоенергетичних культур і цукрових буряків НААН (2013–2015 рр.) та апробовано у виступах на конференціях: міжнародній науково-практичній конференції молодих вчених, аспірантів і студентів «Інноваційні та екологічно безпечні технології виробництва і зберігання сільськогосподарської продукції» (Харків, 2015 р.); міжнародній науково-практичній конференції «Інноваційний розвиток науки нового тисячоліття» (Ужгород, 2017 р.); міжнародній науково-практичній конференції, присвяченої 95-річчю ІБКіЦБ НААН «Новітні агротехнології: теорія та практика» (Київ, 2017 р.); всеросійській науково-практичній конференції «Проблеми та перспективи розвитку сільського господарства півдня Росії» (Майкоп, 2018 р.).

Публікації. Основні положення дисертації висвітлено в 12 наукових працях, у т. ч. 4 – фахових журналах та збірниках України, одна – у виданні, яке включено в міжнародну наукометричну базу, один патент України на корисну модель та чотири тез доповідей наукових конференцій, рекомендаціях – 2.

Структура дисертації. Дисертаційну роботу викладено на 179 сторінках комп'ютерного тексту. Вона складається зі вступу, п'яти розділів, висновків, рекомендацій селекційній практиці, списку використаних

літературних джерел, що нараховує 308 посилань, з яких 169 – латиницею, п'яти додатків та містить 28 таблиць і 26 рисунків.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

У розділі «Огляд літератури» проаналізовано і опрацьовано літературні джерела вітчизняних і іноземних авторів щодо визначення біоенергетичного потенціалу рослин міскантусу, вивчення їх урожайності сухої біомаси та їх можливості зростати на маргінальних ґрунтах. Прискорення селекційного процесу, оцінка вихідного матеріалу міскантусу та добір форм толерантних до посухи і засолення ґрунту передбачає використання методів біотехнології і дає можливість проаналізувати великі обсяги рослинного матеріалу на селективних живильних середовищах зі зменшеною трудомісткістю.

УМОВИ, ВИХІДНИЙ МАТЕРІАЛ ТА МЕТОДИКА ПРОВЕДЕННЯ ДОСЛІЖЕНЬ

Дослідження проводили в 2012–2015 рр. в Інституті біоенергетичних культур і цукрових буряків НААН України (ІБКіЦБ) та його мережі. Лабораторні дослідження здійснювали в секторі культури клітин і тканин *in vitro* та в спеціалізованій контрольно-насінневій аналітико-технологічній лабораторії ІБКіЦБ; польові – на дослідному полі ІБКіЦБ та Ялтушківській дослідно-селекційній станції (ЯДСС). Рослини міскантусу, які отримано методом клонального мікророзмноження, висаджували у вегетаційні посудини та на дослідному полі ІБКіЦБ у відкритий ґрунт і у теплицю ЯДСС.

Ґрунт дослідного поля ІБКіЦБ є світло-сірий лісовий, слабо-кислий (рН 5,4) з вмістом азоту – 80 мг/кг ґрунту, фосфору – 850 мг/кг ґрунту і калію – 600 мг/кг ґрунту. Вирощування проводили без додаткового внесення мінеральних і органічних добрив. Ґрунт ЯДСС світло-сірий, сірий, темно-сірий опідзолений, середньо-суглинковий слабо змитий. Реакція ґрунтового розчину слабо-кисла (рН 5,1–5,5), вміст азоту – 70–75 мг/кг ґрунту, фосфору – 172–183 мг/кг ґрунту та калію – 134–167 мг/кг ґрунту.

Клімат території виконуваних досліджень – помірно континентальний з м'якою зимою і теплим літом. Погодні умови, що склалися упродовж років проведення дослідження (2013–2015 рр.), в цілому були сприятливими для вирощування рослин міскантусу.

Було введено *in vitro* насіння 6 генотипів (*M. sinensis*, *M. sacchariflorus*, *M. sinensis* 'Late', *M. sinensis* 'Early', *M. sinensis* 'New', *M. sinensis* 'Silberspinne'), а також бруньки з ризом алотриплоїдного гібриду (*M. giganteus*, 3x = 57) двох зразків різного походження. Загальну схему досліджень представлено на рис. 1.



Рис. 1. Схема селекційного процесу створення міскантусу з високою адаптивністю до стресових факторів довкілля

Клональне мікророзмноження здійснювали відповідно з методикою ІБКіЦБ (Роїк та ін., 2015) та патентом (Коцар, 2017). Оцінку толерантності міскантусу до абіотичних стресових факторів *in vitro* проводили за розробленою ІБКіЦБ методикою (Роїк та ін., 2015). У вегетаційному досліді відібрані клони міскантусу *in vitro* досліджували за різної вологості та хлоридно-сульфатного засолення ґрунту (Удовенко, 1970, 1977, Alvarez, 2006). Вирощували укорінені рослини двома способами: без адаптації у відкритому ґрунті на дослідному полі ІБКіЦБ та з адаптацією укорінених рослин міскантусу в умовах тепличного комплексу (60 днів) з наступним перенесенням у польові умови (ЯДСС).

Сушу речовину у пагонах міскантусу *in vitro* визначали за методом Гавриленко та ін. (1975), вміст хлорофілів *a* (665 нм) та *b* (649 нм) у пагонах *in vitro* та листках *ex vitro* – спектрофотометричним методом (Гавриленко та ін., 1975, Требинский, 1975), активність каталази та пероксидази – за Х. М. Починком (1976). Визначення показників продуктивності рослин міскантусу в польових умовах (вихід твердого біопалива та енергії) проводили за методиками Курило та ін. (2015) та Фучило та ін. (2018).

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Клональне мікророзмноження міскантусу

На першому етапі клонального мікророзмноження було розроблено умови отримання асептичної культури міскантусу. Експериментально визначено, що оптимальним розчином для звільнення від зараження насіння міскантусу був розчин гіпохлориту натрію з концентрацією 30 % та експозицією 10 хв., який дав змогу отримати асептичність насіння 92–100 %, а

схожість – 30–94 %. Для практичного застосування при введенні *in vitro* бруньок з ризом міскантусу нами рекомендовано розчин $HgCl_2$ (концентрацією 0,1 %) експозицією 50–70 хв., як такий, що дав змогу зберегти одночасно високу їх життєздатність (80–100 %) і асептичність (90–100 %).

Для отримання більшої кількості рослинного матеріалу міскантусу після його культивування упродовж одного місяця на середовищі МС без гормонів кожний зразок поділяли на окремі пагони, які переносили на три варіанти середовища з цитокінінами різних концентрацій. Добір ефективного середовища здійснювали за показником кількості пагонів, що утворилися від одного ініціального пагону. За перший пасаж (30 днів культивування) від одного ініціального пагону на живильному середовищі МС₀ утворювалося в середньому 1,5–3,5 додаткових пагонів, на МС₁ даний показник збільшився від 3,0 до 8,0 клонів/пагін, на МС₂ з одного пагону утворювалося 4,0–8,5 клонів. Залежно від генотипу міскантусу пагоноутворення становило 143,3...266,7 % (МС₁) і 166,7...283,3 % (МС₂) до контролю. Збільшення концентрації кінетину від 0,5 до 1,0 мг/л, істотно не стимулювало цей процес і незначно збільшувало висоту пагонів.

Після отримання достатньої кількості регенерантів, пагони міскантусу переносили на живильні середовища для укорінення. На живильному середовищі МС₀ (контроль) ризогенез спостерігався у 46–56 % рослин міскантусу різних генотипів, довжина коренів варіювала від 1,0 до 2,0 см, а коренів було 2,0–10,8 шт./пагін (рис. 2).



а)



б)

Рис. 2. Ризогенез різних генотипів міскантусу: а) *M. giganteus* (зразок № 1), б) *M. sinensis* ‘Late’

Відмічено максимальне коренеутворення на середовищі МС₂, з концентрацією ауксинів (ІОК та НОК) 0,5 мг/л. Середня кількість рослин, що утворили корені, була високою незалежно від генотипу міскантусу і становила 98–100 % (178,6–222,2 % до контролю). Довжина коренів та їх кількість теж збільшувалася і становила – відповідно 1,5–2,9 см (130,0–193,3 % до контролю) та 3,2–14,8 шт./пагін (137,0–360,0 % до контролю).

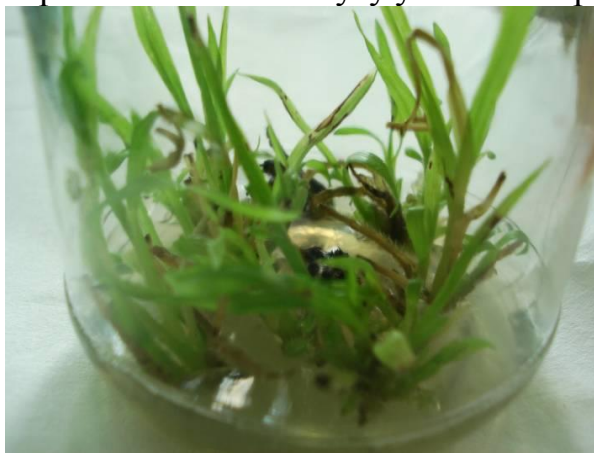
Реакція пагонів міскантусу *in vitro* на абіотичні стреси

Кожний вид міскантусу має специфічну чутливість до абіотичних чинників, тому було здійснено підбір доз реагентів, їх концентрацій і експозицій, що слугували селективним фоном для селекції толерантних

генотипів до водного дефіциту і засолення.

Толерантність пагонів міскантусу до умов водного дефіциту in vitro. За культивування упродовж двох тижнів кількість пагонів міскантусу на контролі становила 85–100 %, пагоноутворення варіювало від 0,1 до 1,0 клонів/пагін. На середовищі з манітом (0,02 М) у генотипів *M. sinensis* ‘Early’, *M. sacchariflorus*, *M. giganteus* (зразок № 2), *M. sinensis*, *M. sinensis* ‘Silberspinne’ ці показники були на рівні контролю. У інших зразків (*M. giganteus* (зразок № 1), *M. sinensis* ‘Late’, *M. sinensis* ‘New’) спостерігали зниження кількості живих пагонів на 6–35 % порівняно з контролем. Пагоноутворення варіювало від 0,1 до 0,6 клонів/пагін. За збільшення концентрації маніту (0,04 М), було відмічено зниження кількості пагонів, що вижили, на 18–85 % у всіх генотипів міскантусу порівняно з контролем. Кількість пагонів, що вижили, після дії двотижневого стресу (маніт 0,06 М), знизилася залежно від генотипу у 2–7 рази порівняно з концентрацією 0,04 М.

Через чотири тижні культивування рослин видів *M. sinensis*, *M. giganteus* (зразок № 2), *M. giganteus* (зразок № 1) на живильному середовищі з манітом (0,02 М), кількість пагонів, що вижили, порівняно з контролем знизилася відповідно на 28, 32 та 47 %. Не чутливими до дії маніту за цієї концентрації виявилися вид *M. sacchariflorus* та сорт *M. sinensis* ‘Silberspinne’. Залежно від генотипу зниження пагоноутворення міскантусу становило в середньому 0,3–1,7 клонів/пагін порівняно з контролем. Кількість пагонів міскантусу, що вижили, на селективному середовищі з манітом (0,04 М) знизилася на 40–90 % порівняно з контролем. Пагоноутворення у *M. giganteus* (зразок № 2), *M. sinensis*, *M. sinensis* ‘New’, *M. sinensis* ‘Silberspinne’, де некроз тканин не зафіксовано, становило 0,2–1,0 клонів/пагін. За дії маніту (0,06 М) в живильному середовищі викликало некроз пагонів міскантусу у всіх експериментальних зразків (рис. 3).



а)



б)

Рис. 3. Вплив маніту на *M. giganteus* (зразок № 2): а) контроль, б) концентрація 0,06 М

На селективному живильному середовищі з манітом (0,04 М), найбільш толерантними до посухи визнано зразки *M. sinensis*, *M. sacchariflorus*, *M. giganteus* (зразок № 2), *M. sinensis* ‘Late’ та *M. sinensis* ‘Silberspinne’, у яких вижило від 20 до 60 % пагонів. Це середовище виявилось як таке, що мало оптимальне

навантаження дії стресового чинника.

За вмістом хлорофілів міскантусу як кращі виокремлено три сорти *M. sinensis* ‘Silberspinne’, *M. sinensis* ‘Late’, *M. sinensis* ‘New’ (табл. 1).

Таблиця 1

**Вміст хлорофілів міскантусу *in vitro* залежно від дії маніту,
мг/г сирової маси**

Генотип міскантусу	Варіант середовища	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> (зразок № 1)	МС ₁ (контроль)	0,346	0,222	0,568
	МС ₁ +маніт 0,04 М	0,269	0,108	0,377
<i>M. giganteus</i> (зразок № 2)	МС ₁ (контроль)	0,344	0,078	0,422
	МС ₁ +маніт 0,04 М	0,221	0,046	0,267
<i>M. sinensis</i>	МС ₁ (контроль)	0,285	0,136	0,421
	МС ₁ +маніт 0,04 М	0,217	0,078	0,296
<i>M. sinensis</i> ‘Early’	МС ₁ (контроль)	0,259	0,244	0,503
	МС ₁ +маніт 0,04 М	0,070	0,034	0,104
<i>M. sacchariflorus</i>	МС ₁ (контроль)	0,268	0,087	0,354
	МС ₁ +маніт 0,04 М	0,141	0,043	0,184
<i>M. sinensis</i> ‘Late’	МС ₁ (контроль)	0,172	0,094	0,266
	МС ₁ +маніт 0,04 М	0,127	0,076	0,202
<i>M. sinensis</i> ‘New’	МС ₁ (контроль)	0,297	0,190	0,487
	МС ₁ +маніт 0,04 М	0,270	0,138	0,408
<i>M. sinensis</i> ‘Silberspinne’	МС ₁ (контроль)	0,230	0,107	0,337
	МС ₁ +маніт 0,04 М	0,185	0,082	0,267
НІР _{0,05}		0,020	0,016	0,032

Всі генотипи міскантусу негативно реагували на наявність маніту (0,02 М) у живильному середовищі. При цьому знижувалося укорінення від 29 до 63 % (різниця до контролю становила 11–53 %). У генотипів *M. giganteus* (зразки № 1 та № 2), *M. sacchariflorus*, *M. sinensis* ‘Late’ та *M. sinensis* ‘Silberspinne’ кількість укорінених рослин зменшилася удвічі, а у *M. sinensis*, *M. sinensis* ‘Early’ та *M. sinensis* ‘New’ – у 1,5 рази. Маса коренів на середовищі з манітом залежала від генотипу і становила 0,006–0,028 г з різницею до контролю 0,06–0,199 г. Середня довжина коренів – 0,6–1,4 см з різницею до контролю – 0,2–4,6 см, а кількість коренів – 1,8–2,6 шт./пагін з різницею до контролю 0,2–2,7 шт./пагін.

Вміст сухої речовини укорінених рослин на живильному середовищі з манітом (0,02 М) становив 10,6–16,0 % з різницею – 0,5–4,2 % до контролю.

Життєздатність експлантів міскантусу in vitro залежно від сольового стресу. Упродовж двох та чотирьох тижнів культивування кількість пагонів, що вижили, на контролі змінювалася від 85 до 100 % залежно від генотипу. Концентрація 0,5 % NaCl у живильному середовищі майже не змінила показники життєздатності та пагоноутворення порівняно з контролем.

За концентрації у живильному середовищі 1,0 % NaCl найвищу толерантність до дії стресу (80–90 %) виявили генотипи *M. sinensis* ‘Late’, *M. giganteus* (зразок № 1), *M. sinensis* та *M. sinensis* ‘Silberspinne’ (рис. 4). За

показником пагоноутворення нечутливими виявилися сорт *M. sinensis* 'Late' та види *M. giganteus* (зразок № 1) і *M. sinensis*.

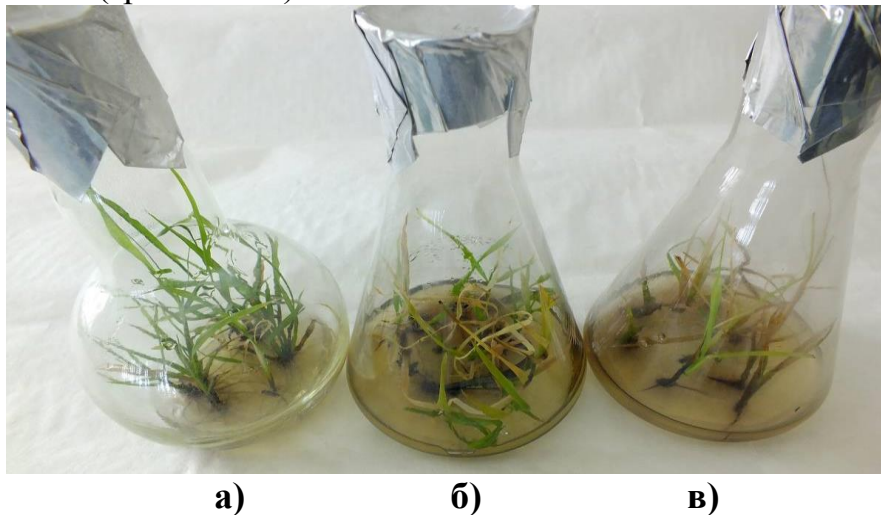


Рис. 4. Культивування пагонів *M. giganteus* (зразок № 1) на сольовому стресі: а) контроль, б) 1,0 %, в) 1,5 %

За концентрації 1,5 % NaCl у живильному середовищі проявили відносну толерантність до сольового стресу всі генотипи міскантусу, крім *M. sinensis* 'New' та *M. sacchariflorus*, у яких життєздатність пагонів через чотири тижні культивування становила 30–60 % з різницею до контролю 40–70 %. У генотипів *M. giganteus* (зразки № 1 та № 2), *M. sacchariflorus* та *M. sinensis* 'Silberspinne' спостерігали утворення пагонів від 0,1 до 0,6 клонів/пагін упродовж чотирьох тижнів.

Найбільш критичною концентрацією NaCl у живильному середовищі для міскантусу була концентрація 2,0 %. Упродовж двох тижнів дії сольового чинника кількість пагонів, що вижили, була 35–70 % з різницею до контролю 22–75 % та упродовж чотирьох тижнів 25–60 % з різницею до контролю 33–70 %. Пагоноутворення за таких умов у всіх генотипів припинилося.

За дії сольового чинника Na_2SO_4 (0,5–2,0 %) вижило 100 % пагонів із зниженням пагоноутворення до критичного рівня. Більш ефективним фоном добору *in vitro* було живильне середовище з NaCl .

За сумарним вмістом хлорофілу *a* і *b* у пагонах міскантусу, толерантними виявилися види *M. giganteus* (зразки № 1 та № 2), *M. sinensis* та сорт *M. sinensis* 'Silberspinne', у яких цей показник становив відповідно 0,423, 0,343, 0,282 та 0,279 мг/г сирої маси (1,0 % NaCl) та 0,395, 0,285, 0,267 та 0,264 мг/г сирої маси (1,5 % NaCl), тобто у них знижена чутливість до цього чинника. Кращим живильним середовищем для добору толерантних форм міскантусу можна вважати селективне середовище MC_1 з додаванням 1,0 % NaCl .

Кращими генотипами, у яких збережена функціональна активність каталази як системи антиоксидантного захисту, виявилися *M. giganteus* (зразок № 1) та *M. sinensis* 'Late' (табл. 2).

Таблиця 2

**Активність каталази в пагонах міскантусу за засолення *in vitro*, мкМ
перекису водню, яка розкладає 1 г наважки за 1 хв.**

Генотип міскантусу	Варіант середовища	Активність каталази, мкМ перекису водню, яка розкладає 1 г наважки за 1 хв.	% до контролю
<i>M. giganteus</i> (зразок № 1)	MC ₁ (контроль)	141,14	100,0
	MC ₁ + 1,0% NaCl	142,98	101,3
	MC ₁ + 1,5% NaCl	254,29	180,2
<i>M. giganteus</i> (зразок № 2)	MC ₁ (контроль)	88,67	100,0
	MC ₁ + 1,0% NaCl	100,66	113,5
	MC ₁ + 1,5% NaCl	147,15	165,9
<i>M. sinensis</i>	MC ₁ (контроль)	133,93	100,0
	MC ₁ + 1,0% NaCl	153,16	114,4
	MC ₁ + 1,5% NaCl	178,44	133,2
<i>M. sinensis</i> 'Early'	MC ₁ (контроль)	43,54	100,0
	MC ₁ + 1,0% NaCl	103,18	237,0
	MC ₁ + 1,5% NaCl	58,96	135,4
<i>M. sacchariflorus</i>	MC ₁ (контроль)	50,25	100,0
	MC ₁ + 1,0% NaCl	55,32	110,1
	MC ₁ + 1,5% NaCl	140,26	279,2
<i>M. sinensis</i> 'Late'	MC ₁ (контроль)	54,48	100,0
	MC ₁ + 1,0% NaCl	105,61	193,9
	MC ₁ + 1,5% NaCl	105,62	193,9
<i>M. sinensis</i> 'New'	MC ₁ (контроль)	123,43	100,0
	MC ₁ + 1,0% NaCl	158,99	128,8
	MC ₁ + 1,5% NaCl	195,88	158,7
<i>M. sinensis</i> 'Silberspinne'	MC ₁ (контроль)	119,06	100,0
	MC ₁ + 1,0% NaCl	230,66	193,7
	MC ₁ + 1,5% NaCl	210,26	176,6
НІР _{0,05}		11,95	-

Найбільш збереженою функціональною активністю пероксидази характеризувалися пагони генотипів *M. sinensis*, *M. sinensis* 'Early', *M. sacchariflorus* та *M. sinensis* 'New' (відповідно 140,0, 123,3, 108,9, 116,3 % до контролю) (табл. 3). При варіанті засолення 1,5 % NaCl живильного середовища кращими за активністю пероксидази були генотипи *M. giganteus* (зразок № 1), *M. sinensis*, *M. sacchariflorus* та *M. sinensis* 'New' (відповідно 143,6, 125,3, 134,2 та 123,3 % до контролю).

За цих умов найвищі показники з укорінення рослин та кількості коренів було отримано у генотипів *M. giganteus* (зразки № 1 та № 2), *M. sinensis*, *M. sinensis* 'Early', *M. sinensis* 'Silberspinne'. Збільшення концентрації NaCl (1,5 %) різко знижувала морфо-біологічні показники укорінення, а у *M. sinensis* 'New' – повністю інгібувала його. За вмістом сухої речовини найменш чутливим до цього абіотичного чинника виявився вид *M. giganteus* (зразки № 1 та № 2).

**Активність пероксидази в пагонах міскантусу за
засолення *in vitro*, мкМ гваяколу, окисленого 1 г наважки за 1 хв.**

Генотип міскантусу	Варіант середовища	Активність пероксидази, мкМ гваяколу, окисленого 1 г наважки за 1 хв.	% до контролю
<i>M. giganteus</i> (зразок № 1)	MC ₁ (контроль)	34,79	100,0
	MC ₁ + 1,0% NaCl	31,63	90,9
	MC ₁ + 1,5% NaCl	49,97	143,6
<i>M. giganteus</i> (зразок № 2)	MC ₁ (контроль)	54,40	100,0
	MC ₁ + 1,0% NaCl	56,29	103,5
	MC ₁ + 1,5% NaCl	59,46	109,3
<i>M. sinensis</i>	MC ₁ (контроль)	47,44	100,0
	MC ₁ + 1,0% NaCl	66,41	140,0
	MC ₁ + 1,5% NaCl	59,46	125,3
<i>M. sinensis</i> 'Early'	MC ₁ (контроль)	54,40	100,0
	MC ₁ + 1,0% NaCl	67,05	123,3
	MC ₁ + 1,5% NaCl	56,29	103,5
<i>M. sacchariflorus</i>	MC ₁ (контроль)	49,97	100,0
	MC ₁ + 1,0% NaCl	54,40	108,9
	MC ₁ + 1,5% NaCl	67,05	134,2
<i>M. sinensis</i> 'Late'	MC ₁ (контроль)	63,25	100,0
	MC ₁ + 1,0% NaCl	56,29	89,0
	MC ₁ + 1,5% NaCl	66,41	105,0
<i>M. sinensis</i> 'New'	MC ₁ (контроль)	54,40	100,0
	MC ₁ + 1,0% NaCl	63,25	116,3
	MC ₁ + 1,5% NaCl	67,05	123,3
<i>M. sinensis</i> 'Silberspinne'	MC ₁ (контроль)	66,41	100,0
	MC ₁ + 1,0% NaCl	56,29	84,8
	MC ₁ + 1,5% NaCl	67,05	101,0
HIP _{0,05}		2,0	-

Ґрунтуючись на розробленій шкалі бальної оцінки (Роїк та ін., 2015) та експериментально виділеними кращими фонами селективних середовищ з додаванням стресових чинників, було оцінено всі генотипи міскантусу. Даний експрес-метод виявив джерела толерантності до посухи – *M. giganteus* (зразок № 2), *M. giganteus* (зразок № 1), *M. sinensis* та *M. sinensis* 'Silberspinne' (відповідно 5, 7, 5 та 7 балів) (рис. 5).

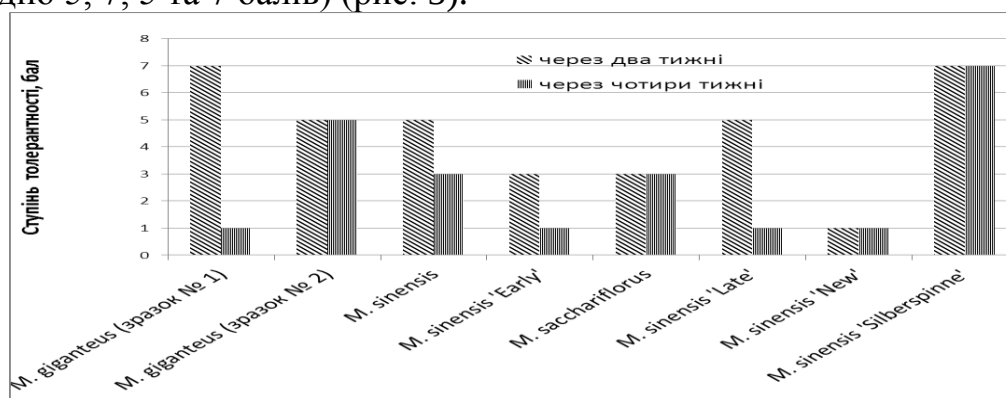


Рис. 5. Оцінка толерантності генотипів міскантусу до осмотичного стресу (концентрація маніту 0,04 М), бал

Аналогічно оцінювали ступінь толерантності до сольового стресу (рис. 6). Ефективним фоном було живильне середовище з 1,0 % NaCl , на якому виділено генотипи *M. sinensis* 'Silberspinne', *M. sinensis*, *M. giganteus* (зразок № 1). Всі вони мали високу толерантність до засолення, яка оцінена у максимальну кількість балів – 9.

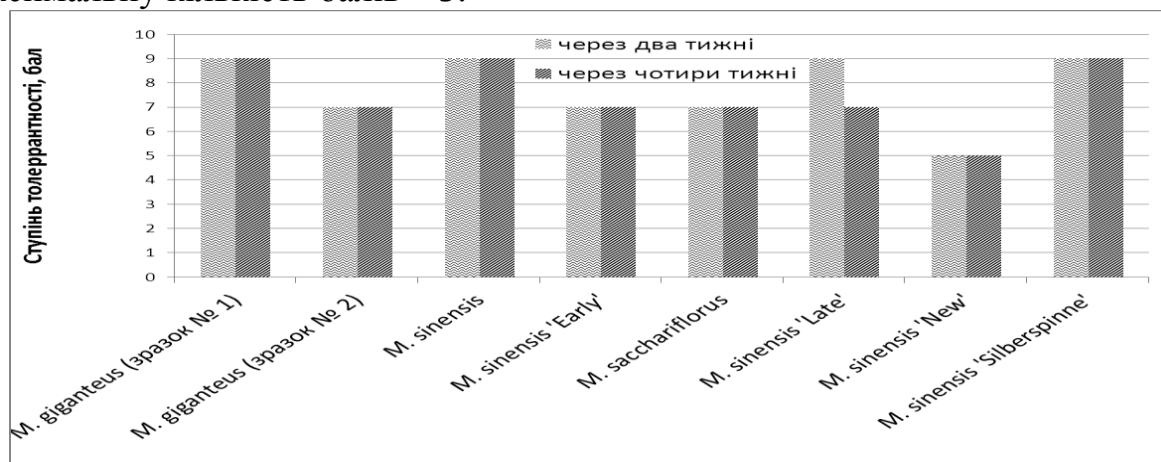


Рис. 6. Оцінка толерантності генотипів міскантусу до сольового стресу (концентрація NaCl 1,0 %), бал

Розроблена шкала оцінювання ступеня толерантності міскантусу до абіотичних чинників враховує комплексні показники фізіологічного стану і дає можливість спростити добір джерел толерантності до певних стресів.

Продуктивність вихідних форм міскантусу та їх адаптивність до абіотичних факторів *ex vitro*

Визначено біоморфологічні та фізіолого-біохімічні показники рослин *M. giganteus* (зразки № 1 та № 2), *M. sinensis* та *M. sacchariflorus* залежно від різної (40 і 80 %) вологоємності ґрунту в умовах вегетаційного дослідження.

Через два місяці дії стресового фактору у 2014 р. відмічали зниження всіх біоморфологічних показників порівняно з контролем. Різниця між контролем та варіантами становила: за висотою рослин – 2,0–27,5 см, за кількістю пагонів – 0–1,5 шт., за кількістю листків – 0,1–0,5 шт., за площею листової поверхні – 2,6–23,4 cm^2 (40 % ПВГ) і відповідно 21,5–30,7 см, 2,2–5,5 шт., 0,5–1,0 шт., 15,2–25,8 cm^2 (80 % ПВГ).

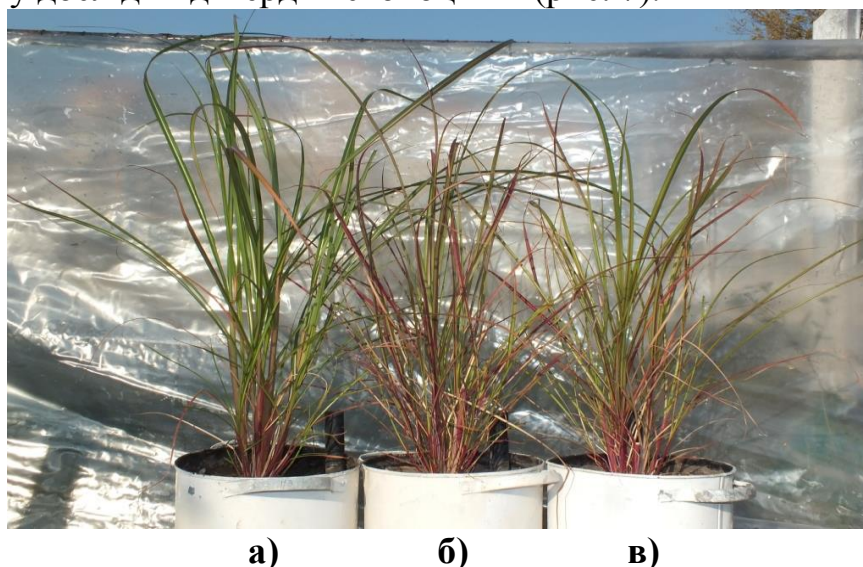
У 2015 р. ризоми рослин міскантусу були більш розвиненими, тому вони незалежно від генотипу показали більшу в 1,1–2,0 рази масу сухої рослини.

Вміст хлорофілу *a* у рослин за недостатньої вологоємності ґрунту був нижчий від контролю на 0,18–1,36 мг/г сирої маси. За умов надмірної вологоємності ґрунту цей показник був ще більш пригніченим і знижувався порівняно з контролем на 0,41–1,44 мг/г сирої маси. Вміст хлорофілу *b* у всіх селекційних зразках знижувався: у першому варіанті (40 % ПВГ) на 0,06–0,25 мг/г сирої маси, у другому варіанті (80 % ПВГ) на 0,09–0,25 мг/г сирої маси. За сумарним вмістом хлорофілів *a* і *b* найбільш різка різниця між варіантами № 1 та № 2 до контролю була відмічена у *M. giganteus* (зразок № 1), де зниження становило в 4,5 рази, у інших видів – в середньому у 2,0 рази.

Відмічено специфічну реакцію генотипів на різну вологоємність ґрунту за активністю оксидоредуктаз. Активність каталази збільшувалася в рослинах міскантусу на варіанті № 1 порівняно до контролю у *M. giganteus* (зразки № 1 та № 2) відповідно на 15,7 та 52,5 % та знижувалася у *M. sinensis* та у *M. sacchariflorus* відповідно на 14,8 та 5,9 %. Порівняння показників каталази контролю та варіанту № 2 (80 % ПВГ) показало підвищення активності у всіх досліджуваних селекційних зразках на 3,5–78,6 %. Активність пероксидази у варіанті № 1 (40 % ПВГ) у рослин *M. giganteus* (зразки № 1 та № 2) збільшувалася відповідно на 8,3 та 3,7 %. У другому варіанті (80 % ПВГ) спостерігалася така ж закономірність. Ці види мали найбільш стабільну функціональну активність пероксидази.

Оцінка ступеня збереження вмісту хлорофілів *a* та *b* та активності оксидоредуктаз за різних умов стресу може бути використана як тест-ознака толерантності до посухи у рослин міскантусу.

За дії сольового стресу (1 та 3 % хлоридно-сульфатного засолення – I та II варіанти) у всіх генотипів міскантусу відмічено зниження біоморфологічних показників (висота, кількість пагонів та листків, площа листкової поверхні), причому у II варіанті воно було більш вираженим. Рослини виду *M. giganteus* (зразок № 1), відібраного як кращий за толерантністю до солей *in vitro*, у вегетаційному досліді підтвердив свої оцінки (рис. 7).



**Рис. 7. Рослини *M. giganteus* (зразок № 1) в умовах сольового стресу:
а) контроль, б) 1 % та в) 3 % хлоридно-сульфатне засолення**

Підвищення засолення у ґрунті негативно позначилося на вмісті хлорофілів *a* і *b*. У виду *M. giganteus* (зразок № 1) у 2,9 рази, у *M. sinensis* та у *M. sacchariflorus* – відповідно у 1,4 та 1,7 рази (I варіант) і у *M. giganteus* (зразок № 1) – у 8,1 рази (II варіант).

На двох варіантах хлоридно-сульфатного засолення у всіх селекційних зразків міскантусу активність каталази зростала. Найбільше цей показник зріс у *M. giganteus* (зразок № 1) та у *M. sacchariflorus* на варіанті № 1 – відповідно на 63,1 та 47,0 % та на варіанті № 2 – на 144,6 та 95,0 %. Активність пероксидази у *M. giganteus* (зразок № 1) зростала на обох варіантах дії стресового чинника

порівняно з контролем на 25,0 та 27,8 %, що вказувало на відносну толерантність цього зразка.

При перенесенні рослин міскантусу з умов *in vitro* у відкритий ґрунт коефіцієнт приживлюваності розсади становив 91,0 %, з коливаннями за генотипами: *M. giganteus* (зразок № 1) – 79,0, *M. sinensis* ‘Late’ – 93,0, *M. sinensis* ‘Early’ – 88,0, *M. sinensis* – 98,0, *M. sinensis* ‘New’ – 93,0 та *M. sacchariflorus* – 93,0 % адаптованих рослин. Найбільш інтенсивне наростання структурних елементів біомаси (кількість пагонів, висота рослин, кількість листків та площа листової поверхні) продемонстрували види *M. giganteus* (зразок № 1), *M. sinensis* та сорт *M. sinensis* ‘Early’.

Для зменшення втрат рослин міскантусу за посадки у відкритий ґрунт застосовували адаптацію їх у тепличному комплексі Ялтушківської ДСС. Коефіцієнт приживлюваності рослин міскантусу за такого способу адаптації рослин *in vitro* в середньому становив 89,0 % з коливанням по генотипах від 67,0 (*M. sinensis* ‘Late’) до 100,0 % (*M. sacchariflorus*) адаптованих рослин.

Найвищі показники наростання висоти рослин міскантусу та виходу сухої біомаси були у *M. giganteus* (зразки № 1 та № 2) і становили відповідно 290 і 350 см та 25,0 і 31,6 т/га. За рахунок високих показників наростання висоти та виходу сухої біомаси у нових форм *M. giganteus* (зразки № 1 та № 2) отримано високий вихід твердого біопалива (30,0 та 37,9 т/га) та вихід енергії (510,0 та 644,6 ГДж/га).

ВИСНОВКИ

1. У дисертаційній роботі наведено теоретичне узагальнення і практичне вирішення важливого наукового завдання з розроблення принципів добору генотипів міскантусу толерантних до посухи та засолення на основі методів біотехнології і перевірки їх ефективності в польових умовах, внаслідок чого відібрано перспективні для комерційного використання види *M. giganteus* та *M. sinensis*.

2. Розроблено умови отримання асептичної культури насіння міскантусу – 92–100 % із застосуванням розчину гіпохлориту натрію з концентрацією 30 % за експозиції 10 хв. та бруньок, пророщених з ризом, – 90–100 % з показником життєздатності 80–100 % за використання розчину $HgCl_2$ в концентрації 0,1 % за експозиції 50 і 70 хв. Удосконалено склад живильних середовищ МС₁ для клонування міскантусу *in vitro* за рахунок використання цитокінінів: кінетин 0,5 мг/л + БАП 0,5 мг/л, яке забезпечує пагоноутворення до 8,5 шт. та МС₂ для стимулювання ризогенезу з додаванням ауксинів: ІОК 0,5 мг/л + НОК 0,5 мг/л, з виходом укорінених рослин 98–100 % у різних генотипів міскантусу.

3. Доведено, що різні генотипи міскантусу характеризуються адаптивністю по фенотиповій ознаці на осмотичний стрес. На живильному середовищі МС₁ + маніт 0,04 М відібрано толерантні форми *M. giganteus* (зразок № 2), *M. sinensis*, *M. sinensis* ‘Silberspinne’ та *M. giganteus* (зразок № 1) з показниками кількості пагонів, що вижили 50, 56, 65 та 82 %. Концентрація маніту, що перевищувала 0,04 М, починаючи з двох тижнів дії осмостресу,

інгібувала процес пагоноутворення генотипів усіх зразків міскантусу. За показниками укорінення пагонів кращими визнано види *M. giganteus* (зразок № 1 та № 2), *M. sinensis* (живильне середовище $MC_2 + \text{маніт } 0,02 \text{ M}$).

4. Установлено, що вміст сухої речовини в умовах осмостресу всіх зразків міскантусу залежав від генотипу і становив 6,32–20,99 %, а сумарний вміст хлорофілів *a* і *b* – 0,104–0,568 мг/г сирової маси. Фізіологічні показники параметрів довжини продихів та їх форми є малоінформативними для добору толерантних до водного стресу рослин *in vitro*.

5. Найбільш уразливою дозою *NaCl* у живильному середовищі для життєздатності пагонів була концентрація 2,0 %, а для пагоноутворення – 1,5 %. Кращим фоном для добору на толерантність до сольового стресу за показником пагоноутворення є живильне середовище $MC_1 + 1,5 \% \text{ NaCl}$, на якому відібрано кращі генотипи *M. giganteus* (зразок № 1), *M. sinensis* та *M. sinensis* 'Late'. При додаванні у живильне середовище 1,0 % *NaCl* спостерігали достовірно пригнічення здатності до ризогенезу у всіх генотипів міскантусу. Найвищий відсоток укорінення спостерігався у *M. giganteus* (зразки № 1 та № 2) і *M. sinensis* – відповідно 67, 65 і 70 %.

6. Виявлено, що види *M. giganteus* (зразки № 1 та № 2), *M. sinensis* та сорт *M. sinensis* 'Silberspinne' характеризуються зниженою чутливістю до засолення *in vitro*: сумарний вміст хлорофілів *a* і *b* становив 0,282–0,423 мг/г сирової маси (1,0 % *NaCl*) та 0,264–0,395 мг/г сирової маси (1,5 % *NaCl*). За вмістом сухої речовини найменш чутливим до засолення виявився *M. giganteus* (зразок № 1) (1,0 % *NaCl* – 14,79, 1,5 % *NaCl* – 13,85 %), у якого була краще збережена функціональна активність каталази (1,0 % *NaCl* – 142,98, 1,5 % *NaCl* – 254,29 мкМ перекису водню, яка розкладає 1 г наважки за 1 хв.) і пероксидази (1,0 % *NaCl* – 31,63, 1,5 % *NaCl* – 49,97 мкМ гваяколу, окисленого 1 г наважки за 1 хв.), як системи антиоксидантного захисту.

7. Розроблено шкалу оцінки толерантності міскантусу до абіотичних стресових факторів *in vitro*, застосування якої спрощує добір джерел толерантності. Виділено толерантні до посухи зразки *M. giganteus* (зразок № 1) і *M. sinensis* 'Silberspinne' (по 7 балів), *M. giganteus* (зразок № 2) і *M. sinensis* (по 5 балів) та до засолення – генотипи *M. sinensis* 'Silberspinne', *M. sinensis*, *M. giganteus* (зразок № 1) (по 9 балів).

8. Підтверджена відповідність доборів кращих генотипів міскантусу *in vitro*, у вегетаційному досліді та у польових умовах (*ex vitro*). За зниженої вологоємності ґрунту (40 % ПВГ) найбільш інтенсивне наростання вегетативної маси відмічено у *M. giganteus* (зразки № 1 та № 2) та *M. sinensis*. Маса сухої рослини міскантусу за другий рік вегетації по відношенню до першого зросла залежно від виду у 1,1–2,0 рази. В умовах вегетаційного досліді за сукупністю біоморфологічних та фізіолого-біохімічних показників кращими селекційними зразками виявилися *M. giganteus* (зразки № 1 та № 2). Ці ж зразки міскантусу було відібрано в умовах *in vitro* на селективних живильних середовищах як толерантні до водного дефіциту.

9. Відібрано форми *M. giganteus* (зразок № 1) та *M. sinensis*, які мають ознаки толерантності до сольового стресу *in vitro* та в умовах вегетаційного

досліді за сукупністю біоморфологічних та фізіолого-біохімічних показників. Засолення ґрунту в 1,0 % майже не впливає на кількість пагонів та листків у рослин міскантусу порівняно з контролем.

10. При перенесенні міскантусу *in vitro* у відкритий ґрунт визначена висока приживлюваність рослин (в середньому 91,0 %). Розкриття біоенергетичного потенціалу міскантусу за анатомо-морфологічними показниками відбувається з третього року вегетації.

11. У толерантних до абіотичних стресів форм *M. giganteus* (зразки № 1 та № 2), відібраних *in vitro*, в умовах ЯДСС зафіксовано найвищі показники виходу енергії 510,0 та 644,6 ГДж/га, що перевищує середні показники по групі на 26,1 та 59,4 %.

РЕКОМЕНДАЦІЇ СЕЛЕКЦІЙНІЙ ПРАКТИЦІ

1. Для селекції як вихідний матеріал та для комерційного вирощування на маргінальних землях міскантусу як сировини для отримання відновлюваних джерел енергії використовувати толерантні до посухи і засолення ґрунту види *M. giganteus* та *M. sinensis*.

2. Для ефективного добору генотипів міскантусу *in vitro* до абіотичних стресів з метою проведення експрес-оцінки за комплексними показниками фізіологічного стану і морфо-біологічними параметрами великих обсягів селекційного матеріалу застосовувати розроблений метод оцінки отримання нових форм.

3. Розроблені в Інституті біоенергетичних культур і цукрових буряків НААН методичні рекомендації «Оцінка та отримання нових форм міскантусу толерантних до абіотичних стресових факторів в умовах *in vitro*», «Створення поліплоїдних форм міскантусу і проса прутоподібного в культурі *in vitro*» і патент на корисну модель «Спосіб стерилізації дрібного насіння для введення в культуру *in vitro*» застосовувати у селекційному процесі для ефективного добору генотипів міскантусу *in vitro*.

Статті у наукових фахових виданнях України:

1. Коцар М. О., Бех Н. С. Моніторинг видів міскантусу на посухостійкість з використанням біотехнологічних методів. *Збірник наукових праць Інституту біоенергетичних культур і цукрових буряків*. 2013. Вип. 17. Т. II. С. 233–236. (авторство 75 %, отримано експериментальні дані, проведено аналіз результатів, підготовлено статтю до друку).

2. Роїк М. В., Бех Н. С., Коцар М. О. Отримання розсади *Miscanthus giganteus* методом клонального мікророзмноження. *Наукові праці Інституту біоенергетичних культур і цукрових буряків*. 2013. Вип. 19. С. 104–108. (авторство 55 %, отримано експериментальні дані, проведено аналіз результатів, підготовлено статтю до друку).

3. Коцар М. О. Вплив сольового стресу *in vitro* на розвиток пагонів міскантусу. *Наукові праці Інституту біоенергетичних культур і цукрових буряків*. 2014. Вип. 21. С. 221–225.

4. Роїк М. В., Коцар М. О. Динаміка анатомо-морфологічних показників рослин міскантусу з культури *in vitro* за вирощування у відкритому ґрунті. *Вісник аграрної науки*. Вип. 9. 2018. С. 39–44. (авторство 55 %, отримано експериментальні дані, проведено аналіз результатів, підготовлено статтю до друку).

Статті в наукових виданнях інших держав:

5. Роик Н. В., Коцар М. А., Бех Н. С. Влияние солевого стресса *in vivo* на развитие мискантуса. *Земледелие и селекция в Беларуси: сборник научных трудов*. Вип. 52. 2016. С. 144–149. (авторство 55 %, отримано експериментальні дані, проведено аналіз результатів, підготовлено статтю до друку).

Тези наукових доповідей:

6. Коцар М. О., Бех Н. С. Клональне мікророзмноження міскантусу, як спосіб підвищення коефіцієнту розмноження посадкового матеріалу. *Матеріали Міжнародної науково-практичної конференції молодих вчених, аспірантів і студентів «Інноваційні та екологічно безпечні технології виробництва і зберігання сільськогосподарської продукції», 29–30 жовтня 2015 р.* Харків: ХНАУ, 2015. С. 123–125. (авторство 55 %, отримано експериментальні дані, проведено аналіз результатів, написання тез).

7. Коцар М. О. Визначення активності ферментів антиоксидантного захисту у міскантусу *in vitro* за умов сольового стресу. *Матеріали Міжнародної науково-практичної конференції (м. Ужгород), Інноваційний розвиток науки нового тисячоліття 21–22 квітня 2017 року. У 3-х частинах.* Херсон : Видавничий дім «Гельветика», 2017. Ч. 2. 156 с.

8. Бех Н. С., Коцар М. О. Створення поліплоїдних форм міскантусу і проса прутноподібного в культурі *in vitro*. *Новітні агротехнології: теорія та практика Міжнародна науково-практична конференція, присвячена 95-річчю ІБКЦБ НААН (м. Київ, 11 липня 2017 р.)*. Вінниця, 2017. С. 178–179. (авторство 55 %, отримано експериментальні дані, проведено аналіз результатів, написання тез).

9. Бех Н. С., Коцар М. О. Влияние разной влагоемкости почвы на биоморфологические и физиолого-биохимические показатели мискантуса. *Проблемы и перспективы развития сельского хозяйства юга России*. Майкоп, 2018. С. 208–213. (авторство 55 %, отримано експериментальні дані, проведено аналіз результатів, підготовлено статтю до друку).

Авторські свідоцтва і патенти:

10. Коцар М. О. Патент на корисну модель № 119303 Україна, МПК (2006), А01Н 4/00. Спосіб стерилізації дрібного насіння для введення в культуру *in vitro*. Заявник та патентовласник Інститут біоенергетичних культур і цукрових буряків НААН № u201701463; заявл. 16.02.2017; опубл. 25.09.2017, Бюл. № 18. 4 с.

Методичні та науково-практичні рекомендації:

11. Роїк М. В., Бех Н. С., Коцар М. О. Оцінка та отримання нових форм міскантусу толерантних до абіотичних стресових факторів в умовах *in vitro*: методичні рекомендації. Інститут біоенергетичних культур і цукрових буряків НААН, 2015. 16 с. (авторство 55 %, отримано експериментальні дані, проведено аналіз результатів, написання методичних рекомендацій).

12. Роїк М. В., Бех Н. С., Коцар М. О. Створення поліплоїдних форм міскантусу і проса прутіподібного в культурі *in vitro*: методичні рекомендації. Інститут біоенергетичних культур і цукрових буряків НААН, 2015. 18 с. (авторство 55 %, отримано експериментальні дані, проведено аналіз результатів, написання методичних рекомендацій).

АНОТАЦІЯ

Коцар М. О. Оцінка та добір вихідного матеріалу для селекції міскантусу біотехнологічними методами – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата сільськогосподарських наук за спеціальністю 06.01.05 «Селекція і насінництво» – Інститут біоенергетичних культур і цукрових буряків. – Київ, 2019.

Дисертація присвячена розроблянню принципів добору генотипів міскантусу толерантних до посухи та засолення на основі методів біотехнології і перевірки їх ефективності в польових умовах.

Удосконалено методику клонального мікророзмноження міскантусу на основі підбору стерилізуючих реагентів, їх експозицій та додавання різних концентрацій цитокінінів та ауксинів у живильному середовищі.

Висвітлено питання щодо реакції пагонів міскантусу *in vitro* на абіотичні стреси (посуху і засолення). Визначено оптимальні концентрації та експозиції дії стресових чинників маніту та солей на життєздатність та пагоноутворення експлантів різних генотипів міскантусу *in vitro*. Розроблено шкалу оцінки ступеня толерантності міскантусу до абіотичних чинників *in vitro*, яка враховує комплексні показники фізіологічного стану і сприяє спрощенню добору джерел толерантності до певних абіотичних стресів.

Досліджено біоморфологічні показники реакції рослин міскантусу, які було відібрано на селективних живильних середовищах *in vitro*, до дії різної вологості ґрунту та сольового стресу в умовах вегетаційного досліду.

Проведено оцінку вмісту хлорофілів *a* і *b*, сухої речовини та зміни активності оксидоредуктаз (каталази і пероксидази) у пагонах міскантусу з умов *in vitro* та вирощених у польових умовах за дії стресових чинників, що дає змогу використовувати їх як тест-ознаку толерантності до посухи і засолення у рослин міскантусу.

З'ясовано приживлюваність міскантусу при перенесенні з *in vitro* в умови відкритого ґрунту за попередньої адаптації в умовах теплиці та в умовах відкритого ґрунту, за якої обрано оптимальний спосіб їх перенесення. Установлено строки розкриття біоенергетичного потенціалу міскантусу за

анатомо-морфологічними показниками. Визначено елементи структури урожайності біомаси та вихід енергії у різних видів міскантусу в польових умовах. Відібрано перспективні для комерційного використання види міскантусу (*M. giganteus* та *M. sinensis*) з поєднанням толерантності до абіотичних стресів та високим виходом енергії.

Ключові слова: міскантус, методи біотехнології, толерантність, абіотичний стрес, біоморфологічні та фізіолого-біохімічні показники, вихід енергії.

АННОТАЦИЯ

Коцар М. А. Оценка и отбор исходного материала для селекции мискантуса биотехнологическими методами - Квалификационная научный труд на правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук по специальности 06.01.05 «Селекция и семеноводство» – Институт биоэнергетических культур и сахарной свеклы. – Киев, 2019.

Диссертация посвящена разработке принципов отбора генотипов мискантуса толерантных к засухе и засолению на основе методов биотехнологии и проверки их эффективности в полевых условиях.

Усовершенствована методика клонального микроразмножения мискантуса на основе подбора стерилизующих реагентов, их экспозиций и добавления различных концентраций цитокининов и ауксинов в питательной среде.

Освещены вопросы относительно реакции побегов мискантуса *in vitro* на абиотические стрессы (засухи и засоления). Определены оптимальные концентрации и экспозиции действия стрессовых факторов маннита и солей на жизнеспособность и побегообразования эксплантов разных генотипов мискантуса *in vitro*. Разработана шкала оценки степени толерантности мискантуса к абиотическим факторам *in vitro*, которая учитывает комплексные показатели физиологического состояния и позволяет упростить отбор источников толерантности к определенным абиотическим стрессам.

Исследованы биоморфологические показатели реакции растений мискантуса, которые были отобраны на селективных питательных средах *in vitro*, к действию различной влагоемкости почвы и солевого стресса в условиях вегетационного опыта.

Проведена оценка содержания хлорофиллов *a* и *b*, сухого вещества и изменения активности оксидоредуктаз (каталазы и пероксидазы) в побегах мискантуса из условий *in vitro* и выращенных в полевых условиях за действия стрессовых факторов, что позволяет использовать их в качестве тест-признака толерантности к засухе и засолению у растений мискантуса.

Установлено приживаемость при переносе мискантуса с *in vitro* в условия открытого грунта с предварительной адаптацией в условиях теплицы и в условиях открытого грунта, при которой выбран оптимальный способ их переноса. Установлены сроки раскрытия биоэнергетического потенциала

мискантуса по анатомо-морфологическим показателям. Определены элементы структуры урожайности биомассы и выход энергии у разных видов мискантуса в полевых условиях. Отобраны перспективные для коммерческого использования виды мискантуса (*M. giganteus* и *M. sinensis*) с совмещением толерантности к абиотическим стрессам и высоким выходом энергии.

Ключевые слова: мискантус, методы биотехнологии, толерантность, абиотический стресс, биоморфологические и физиолого-биохимические показатели, выход энергии.

ABSTRACT

Kotsar M. O. Evaluation and selection of source material for breeding miscanthus by biotechnological methods – The manuscript.

Thesis for Candidate Degree in Agricultural Sciences. Specialty 06.01.05 Breeding and Seed Production. Institute of Bioenergy Crops and Sugar Beet, Kyiv, 2019.

The thesis is devoted to the development of principles for the breeding of genotypes of miscanthus tolerant to drought and salinity based on biotechnology methods and their effectiveness in open soil.

The method of clonal micropropagation of miscanthus based on the selection of sterilizing reagents, their exposures and the addition of different concentrations of cytokinins and auxins in the nutrient medium has been improved.

The issue of the reaction of miscanthus shoots *in vitro* to abiotic stresses (drought and salinity) is covered. The optimal concentrations and exposures of the effects of stress factors of mannitol and salts on the viability and shoots formation development of explants of various genotypes *in vitro* were determined. The scale of estimation of the degree of miscanthus tolerance to the abiotic factors *in vitro* which takes into account the complex parameters of physiological state is developed, which allows to simplify the selection of sources of tolerance to certain abiotic stresses.

The biomorphological parameters of the reaction of miscanthus which were selected on selective nutrient medium to the effect of different moisture content of the soil and salt stress in the vegetative experiment were investigated.

The content of chlorophylls *a* and *b*, dry matter and changes in the activity of oxidoreductase (catalase and peroxidase) in miscanthus shoots *in vitro* and grown in the field under the influence of stress factors have been estimated, which allows them to be used as a test sign of tolerance to drought and salinity in miscanthus.

The survival of miscanthus was established when transferred from *in vitro* in open soil for preliminary adaptation in greenhouse and in open soil, in which the optimal method of their transfer was chosen. The terms of revealing of the bioenergy potential of miscanthus according to the anatomical and morphological parameters were established. The elements of the structure of biomass yield and energy output in different species of miscanthus in the field are determined. Prospective for commercial use miscanthus species (*M. giganteus* and *M. sinensis*) with a combination of tolerance to abiotic stresses and high energy output are selected.

Keywords: miscanthus, biotechnology methods, tolerance, abiotic stress, biomorphological, physiological and biochemical parameters, energy output.

Підписано до друку 15.02.2019 р. Зам. № 108.
Формат 60х90 1/16. Папір офсетний. Друк – цифровий.
Наклад 100 прим. Ум. друк. арк. 0,9.
Друк ЦП «КОМПРИНТ». Свідоцтво ДК №4131 від 04.08.2011 р.
м. Київ, вул. Предславинська, 28
528-05-42, 067-209-54-30
email: komprint@ukr.net