

Augimo reguliatorių poveikis *Miscanthus × giganteus* tiesioginei organogenezei *in vitro*

Inga Jančiauskienė,

Aušra Blinstrubienė,

Natalija Burbulis,

Ramunė Masienė

Aleksandro Stulginskio universitetas,
Studentų g. 11,
53361 Akademija, Kaunas
El. paštas jancauskiene.inga@gmail.com

Tyrimai atlikti Aleksandro Stulginskio universiteto Agronomijos fakulteto Biologijos ir augalų biotechnologijos institute ir Jungtinio tyrimų centro Agrobiotechnologijos laboratorijoje. Tirtas augimo reguliatorių poveikis tiesioginei *Miscanthus × giganteus* organogenezei *in vitro*. Miskantų šakniastiebių segmentai auginti Murashige ir Skoog (MS) maitinamojoje terpėje, papildytoje skirtingais 6-benzylamino purino (BAP) ar tidiazurono (TDZ) ir α -naftilacto rūgšties (NAR) deriniais. Nustatyta, kad maitinamojoje terpėje be augimo reguliatorių izoliuoti eksplantai pridėtinių ūglių neformavo. Maitinamojoje terpėje, papildytoje augimo reguliatoriais, regeneracijos dažnis, priklausomai nuo augimo reguliatorių koncentracijos, varijavo nuo 5,6 % iki 21,1 %. Pridėtinių ūglių formavimosi dažnis dėl TDZ poveikio, priklausomai nuo koncentracijos, buvo nuo 5,4 % iki 10,0 % didesnis (derinyje su 0,05 mg l⁻¹ NAR) bei nuo 4,4 % iki 8,8 % didesnis (derinyje su 0,1 mg l⁻¹ NAR), palyginti su atitinkamomis BAP koncentracijomis. Dėl augimo reguliatorių derinio 2,0 mg l⁻¹ TDZ + 0,05 mg l⁻¹ NAR maitinamojoje terpėje gautas intensyviausias ūglių formavimosi dažnis ir didžiausia ūglių išauga iš eksplanto.

Raktažodžiai: augimo reguliatoriai, *in vitro*, *Miscanthus × giganteus*, tiesioginė organogeneze

ĮVADAS

Didėjantis energetinių išteklių naudojimas yra vienas veiksnių, skatinančių globalią klimato kaitą. Augalinės biomasės tvarus naudojimas, darni atsinaujinančių energijos išteklių plėtra įgyja vis didesnę reikšmę ir yra vienas svarbiausių nūdienos iššūkių visame pasaulyje. Pastaraisiais metais mokslininkai daug dėmesio skiria bioenergetikai, o energija, gaunama iš augalų, ypač iš daugiamečių žolių ir medžių, galėtų prisidėti prie pasaulinių klimato kaitos problemų sušvelninimo (Karp, Shield, 2008). Dėl šios priežasties pastaruoju metu daug dėmesio skiriama *Miscanthus × giganteus*,

priklausančiam miglinių (*Poaceae*) šeimai, *Miscanthus* genčiai. Šios aukštaūgės, daugiametės, tropinės kilmės žolės vertinamos dėl savo gebėjimo augti sausringose ir nederlingose, prastos kokybės žemėse, kurios yra netinkamos daugumai kitų žemės ūkio augalų (Heaton et al., 2008; Hastings et al., 2009; Brosse et al., 2012). Alternatyvių atsinaujinančių energijos šaltinių reikalingumas yra neabejotinas. Vienas svarbesnių miskantų privalumų – platus biomasės panaudojimas (Lewandowski et al., 2000). Jų auginimui prireikia mažai trąšų ir pesticidų, augalai atsparūs ligoms ir kenkėjams (Anderson et al., 2011). Miskantai iš kitų C4 tipo augalų išsiskiria gebėjimu vykdyti fotosintezę

esant žemai aplinkos temperatūrai. Ši daugiamečių žolė yra alotriploidas (diploido *M. sinensis* ir tetraploido *M. sacchariflorus* hibridas), nesubrandina sėklų ir dauginasi išskirtinai vegetatyviniu būdu (Atkison, 2009). Dėl miskantų reikšmės užtikrinant žemės ūkio tvarumą šių augalų poreikis rinkoje sparčiai auga (Heaton et al., 2010). Mūsų šalies mokslininkai, įvertinę miskantų toleranciją Lietuvos klimatui, nustatė, kad *Miscanthus × giganteus* gali būti auginamas Lietuvoje bioenergetikos tikslais (Kryževičienė et al., 2011) ir kad sintetinio kuro iš miskantų biomasės pagrindinių komponentų sudėtis yra labai panaši į mineralinio dyzelino (Kadžiulienė et al., 2014).

Mokslinėje literatūroje pateikiama nemažai duomenų apie netiesioginį pridėtinių ūglių regeneravimą per tarpinį kaliaus tarpsnį (Kim et al., 2010; Plažek, Dubert, 2010; Gubišova et al., 2013; Ślusarkiewicz-Jarzina et al., 2017), tačiau vis dar stinga duomenų apie veiksnius, lemiančius miskantų tiesioginės organogenezės procesą *in vitro*. Komerciniais tikslais sukurta genetiškai vienodų augalų mikrodauginimo technologija leistų išplėtoti miskantų, potencialaus biomasės producento, auginimą ne tik Lietuvoje, bet ir kitose Europos šalyse.

Tyrimų tikslas – nustatyti augimo reguliatorių derinių poveikį *Miscanthus × giganteus* tiesioginės organogenezės procesui.

METODAI IR SĄLYGOS

Tyrimai atlikti Aleksandro Stulginskio universiteto Agronomijos fakulteto Biologijos ir augalų biotechnologijos institute bei JTC Agrobiotechnologijos laboratorijoje. Donoriniai augalai auginami vegetaciniuose induose kontroliuojamomis sąlygomis: šviesos intensyvumas $150 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, fotoperiodas 16/8 val. (dieną / naktį), temperatūra 22/18 °C (dieną / naktį).

Miskantų šakniastiebiai 60 min. plauti po tekančiu vandeniu, 3 min. sterilinti 70 % etanolio vandeniniame tirpale ir 5 min. 10 % natrio hipochlorito tirpale, po to 3 kartus po 5 min. plauti steriliame distiliuotame vandenyje. Sterilūs šakniastiebiai supjaustyti 1,0–1,5 cm ilgio segmentais ir auginami Murashige ir Skoog (MS) (Murashige, Skoog, 1962) maitinamojoje terpėje be augimo reguliatorių ir su skirtingais ($1,0\text{--}2,0 \text{ mg l}^{-1}$) 6-benzylamino purino (BAP) ir ($0,05\text{--}0,1 \text{ mg l}^{-1}$)

α -naftilacto rūgšties (NAR) deriniais bei skirtingais ($1,0\text{--}2,0 \text{ mg l}^{-1}$) tidiazurono (TDZ) ir ($0,05\text{--}0,1 \text{ mg l}^{-1}$) α -naftilacto rūgšties (NAR) deriniais. Maitinamoji terpė papildyta 30 g l^{-1} sacharozės ir 8 g l^{-1} Difco Bacto agaru. Terpės pH – $5,7 \pm 0,1$. Sterili kultūra auginama kontroliuojamomis sąlygomis: šviesos intensyvumas – $50 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, fotoperiodas – 16/8 val. (dieną / naktį), aplinkos temperatūra – $22 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$.

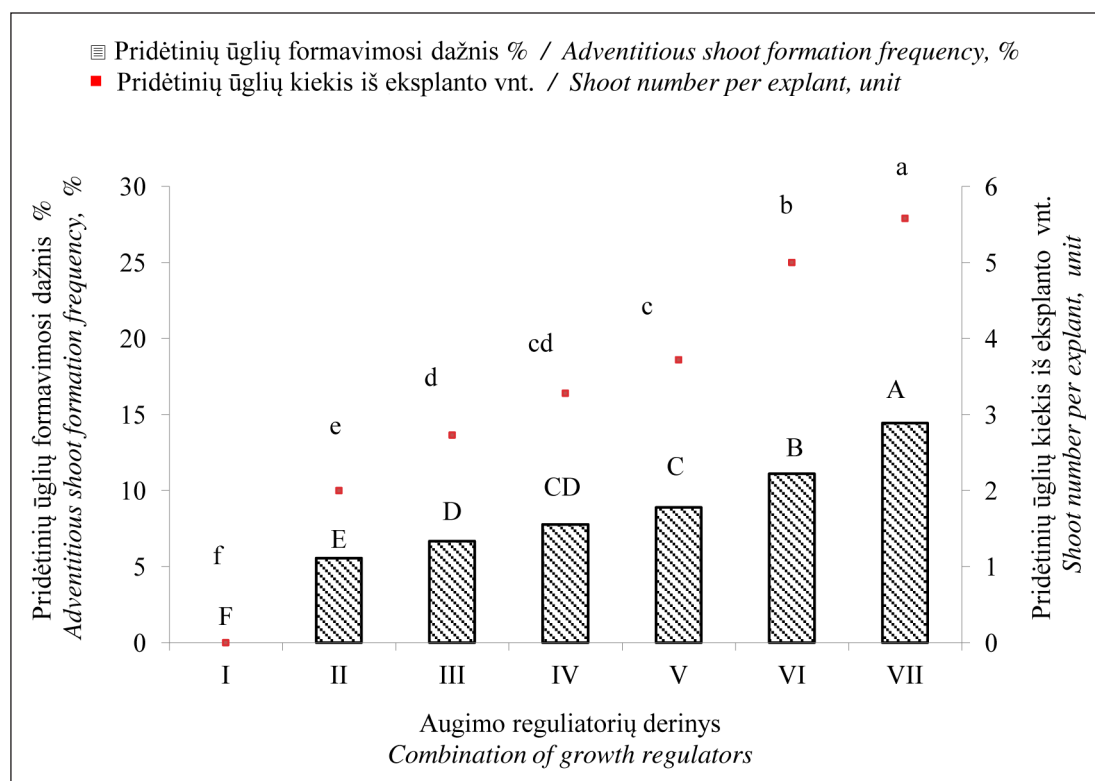
Visuose eksperimentuose naudojama visa apimanti randomizacija. Auginama po 50 kiekvieno varianto eksplantų, tyrimas atliktas keturiais pakartojimais. Kas keturias savaites eksplantai perkelti į šviežią tos pačios sudėties maitinamąją terpę.

Tyrimo duomenų statistinė analizė atlikta naudojantis kompiuterinėmis programomis iš programų paketo SELEKCIJA (Raudonius, 2017). Vidurkiai ir standartinė paklaida apskaičiuoti STAT_ENG programa. Rezultatų patikimumas įvertintas dispersinės analizės metodu pagal Dunkano kriterijų ($P < 0,01$).

REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS

Tiesioginė ūglių regeneracija izoliuotų šakniastiebių kultūroje prasidėjo praėjus trimis savaitėms po eksplantų izoliavimo. Maitinamojoje terpėje be augimo reguliatorių izoliuoti eksplantai pridėtinių ūglių neformavo (1 pav.). Maitinamojoje terpėje, papildytoje $1,0 \text{ mg l}^{-1}$ BAP + $0,05 \text{ mg l}^{-1}$ NAR deriniu, ūglius formavo vidutiniškai 5,5 % izoliuotų eksplantų. Padidinus NAR koncentraciją iki $0,1 \text{ mg l}^{-1}$ derinyje su $1,0 \text{ mg l}^{-1}$ BAP, pridėtinių ūglių formavimosi dažnis padidėjo vidutiniškai 1,2 karto. BAP koncentraciją padidinus iki $1,5 \text{ mg l}^{-1}$ derinyje su $0,05 \text{ mg l}^{-1}$ NAR, ūglių formavimosi dažnis padidėjo vidutiniškai 1,4 karto. Didinant abiejų augimo reguliatorių koncentracijas maitinamojoje terpėje, ūglių susiformavimo dažnis nuosekliai didėjo ir didžiausias (14,4 %) pridėtinių ūglių formavimosi dažnis nustatytas maitinamojoje terpėje, papildytoje $2,0 \text{ mg l}^{-1}$ BAP + $0,1 \text{ mg l}^{-1}$ NAR.

Nustatyta, kad papildžius maitinamąją terpę $1,0 \text{ mg l}^{-1}$ BAP + $0,05 \text{ mg l}^{-1}$ NAR augimo reguliatorių deriniu izoliuoti šakniastiebių segmentai vidutiniškai formavo 2 ūglius iš eksplanto. Abiejų tirtų augimo reguliatorių koncentracijos didinimas skatino miskantų ūglių išėigą. Didžiausias



Pastaba / Note: **I** – be augimo reguliatorių; **II** – 1,0 mg l⁻¹ BAP + 0,05 mg l⁻¹ NAR; **III** – 1,0 mg l⁻¹ BAP + 0,1 mg l⁻¹ NAR; **IV** – 1,5 mg l⁻¹ BAP + 0,05 mg l⁻¹ NAR; **V** – 1,5 mg l⁻¹ BAP + 0,1 mg l⁻¹ NAR; **VI** – 2,0 mg l⁻¹ BAP + 0,05 mg l⁻¹ NAR; **VII** – 2,0 mg l⁻¹ BAP + 0,1 mg l⁻¹ NAR / **I**, without growth regulators; **II**, 1.0 mg l⁻¹ BAP + 0.05 mg l⁻¹ NAA; **III**, 1.0 mg l⁻¹ BAP + 0.1 mg l⁻¹ NAA; **IV**, 1.5 mg l⁻¹ BAP + 0.05 mg l⁻¹ NAA; **V**, 1.5 mg l⁻¹ BAP + 0.1 mg l⁻¹ NAA; **VI**, 2.0 mg l⁻¹ BAP + 0.05 mg l⁻¹ NAA; **VII**, 2.0 mg l⁻¹ BAP + 0.1 mg l⁻¹ NAA.

1 pav. Augimo reguliatorių BAP ir NAR poveikis *Miscanthus × giganteus* ūglių formavimosi dažniui ir ūglių išėgai *in vitro* (tarp variantų vidurkių, pažymėtų ne ta pačia raide, skirtumai yra esminiai ($P < 0,01$))

Fig. 1. Effect of growth regulators BAP and NAA on the *Miscanthus × giganteus* shoot regeneration frequency and the shoot number per explant *in vitro* (means not sharing a common letter are significantly different ($P < 0.01$))

(5,6 vnt.) ūglių kiekis iš eksplanto nustatytas maitinamojoje terpėje, papildytoje 2 mg l⁻¹ BAP + 0,1 mg l⁻¹ NAR.

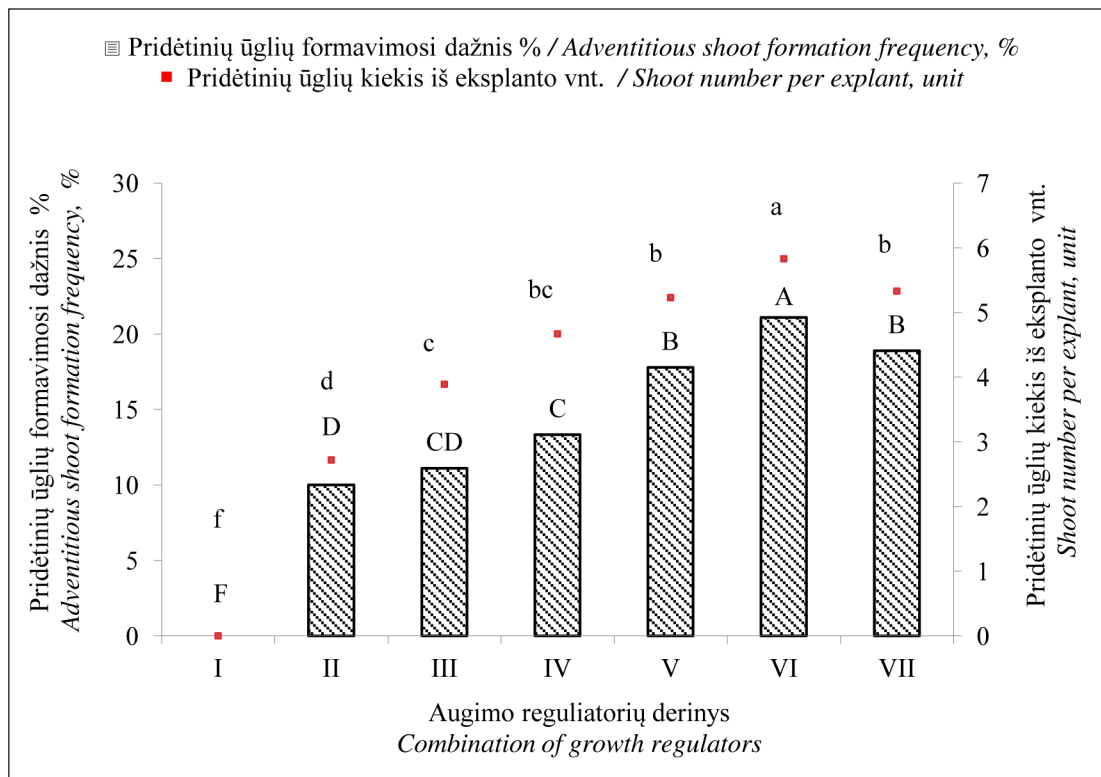
Maitinamojoje terpėje, papildytoje 1,0 mg l⁻¹ TDZ + 0,05 mg l⁻¹ NAR, ūglius formavo vidutiniškai 10,0 % izoliuotų eksplantų (2 pav.).

Padidinus NAR koncentraciją iki 0,1 mg l⁻¹ derinyje su 1,0 mg l⁻¹ TDZ, pridėtinių ūglių formavimosi dažnis padidėjo vidutiniškai 1,1 karto. Padidinus TDZ koncentraciją iki 1,5 mg l⁻¹ derinyje su 0,05 mg l⁻¹ NAR, ūglių formavimosi dažnis padidėjo vidutiniškai 1,2 karto. Didinant augimo reguliatorių koncentraciją ūglių susiformavimo dažnis nuosekliai didėjo ir didžiausias (21,1 %) nustatytas maitinamojoje terpėje, papildytoje

dytoje 2,0 mg l⁻¹ TDZ + 0,05 mg l⁻¹ NAR. Padidinus NAR koncentraciją iki 0,1 mg l⁻¹ derinyje su 2,0 mg l⁻¹ TDZ, ūglių formavimosi dažnis statistiškai patikimai sumažėjo.

Dėl 1,0 mg l⁻¹ BAP + 0,05 mg l⁻¹ NAR augimo reguliatorių derinio poveikio izoliuoti šakniastiebių segmentai vidutiniškai formavo 10,0 ūglių iš eksplanto. Didžiausias (5,8 vnt.) ūglių kiekis iš eksplanto nustatytas maitinamojoje terpėje, papildytoje 2,0 mg l⁻¹ TDZ + 0,05 mg l⁻¹ NAR. Dėl NAR koncentracijos padidinimo iki 0,1 mg l⁻¹ derinyje su 2,0 mg l⁻¹ TDZ ūglių kiekis iš eksplanto sumažėjo 1,1 karto.

Tidiazuronas (TDZ) – karbamido darinys be purino žiedo, tačiau jis yra veiksmingesnis už



Pastaba / Note: **I** – be augimo reguliatorių; **II** – 1,0 mg l⁻¹ TDZ + 0,05 mg l⁻¹ NAR; **III** – 1,0 mg l⁻¹ TDZ + 0,1 mg l⁻¹ NAR; **IV** – 1,5 mg l⁻¹ TDZ + 0,05 mg l⁻¹ NAR; **V** – 1,5 mg l⁻¹ TDZ + 0,1 mg l⁻¹ NAR; **VI** – 2,0 mg l⁻¹ TDZ + 0,05 mg l⁻¹ NAR; **VII** – 2,0 mg l⁻¹ TDZ + 0,1 mg l⁻¹ NAR / **I**, without growth regulators; **II**, 1.0 mg l⁻¹ TDZ + 0.05 mg l⁻¹ NAA; **III**, 1.0 mg l⁻¹ TDZ + 0.1 mg l⁻¹ NAA; **IV**, 1.5 mg l⁻¹ TDZ + 0.05 mg l⁻¹ NAA; **V**, 1.5 mg l⁻¹ TDZ + 0.1 mg l⁻¹ NAA; **VI**, 2.0 mg l⁻¹ TDZ + 0.05 mg l⁻¹ NAA; **VII**, 2.0 mg l⁻¹ TDZ + 0.1 mg l⁻¹ NAA.

2 pav. Augimo reguliatorių TDZ ir NAR poveikis *Miscanthus × giganteus* ūglių formavimosi dažniui ir ūglių išėigai *in vitro* (tarp variantų vidurkių, pažymėtų ne ta pačia raide, skirtumai yra esminiai ($P < 0,01$))

Fig. 2. Effect of growth regulators TDZ and NAA on the *Miscanthus × giganteus* shoot regeneration frequency and the shoot number per explant *in vitro* (means not sharing a common letter are significantly different ($P < 0.01$))

purino tipo citokininus (Lu, 1993). Vieni mokslininkai mano, kad TDZ pasižymi ir citokinino, ir auksino-citokinino aktyvumu (Singh et al., 2003), kitų nuomone – tidiazuronui labiau būdingas stiprus citokininis aktyvumas, stimuliuojantis veiksmingus morfogeninius atsakus *in vitro* kultūrose (Guo et al., 2011). Teigiamas tidiazurono poveikis organogenezei buvo nustatytas vykdant tyrimus su gervuogėmis (Vujović et al., 2010), stveja (Lata et al., 2013), braškėmis ir mėlynėmis (Cappelletti et al., 2016).

Vertinant tirtų citokininų efektyvumą miskančių tiesioginei organogenezei *in vitro* izoliuotų šakniastiebių kultūroje nustatyta, kad pridėtinių ūglių formavimosi dažnis dėl TDZ povei-

kio, priklausomai nuo koncentracijos, buvo nuo 5,4 % iki 10,0 % didesnis (derinyje su 0,05 mg l⁻¹ NAR) bei nuo 4,4 % iki 8,8 % didesnis (derinyje su 0,1 mg l⁻¹ NAR), palyginti su atitinkamomis BAP koncentracijomis. Ūglių kiekiui iš eksplanto nustatytos analogiškos tendencijos, išskyrus dėl 2,0 mg l⁻¹ BAP + 0,1 mg l⁻¹ NAR ir 2,0 mg l⁻¹ TDZ + 0,1 mg l⁻¹ NAR derinių poveikio, tarp kurių skirtumai neesminiai ir statistiškai nepatikimi. Mokslinėje literatūroje nurodoma, kad TDZ + NAR priedas maitinamojoje terpėje yra efektyvesnis, palyginti su kitais ištirtais augimo reguliatoriais ir jų deriniais auksuotosios alstromerijos (Hutchinson et al., 2014), dažinio dygmino (Radhika et al., 2006) ir gumbinės begonijos

(Nada et al., 2011) pridėtinių ūglių formavimuisi *in vitro*.

IŠVADOS

1. Murashige ir Skoog (MS) maitinamojoje terpėje be augimo reguliatorių miskantų izoliuoti šakniastiebių segmentai pridėtinių ūglių neformavo.

2. Pridėtinių ūglių formavimosi dažnis dėl tidiuzurono poveikio buvo nuo 5,4 % iki 10,0 % didesnis (derinyje su 0,05 mg l⁻¹ α-naftilacto rūgšties) bei nuo 4,4 % iki 8,8 % didesnis (derinyje su 0,1 mg l⁻¹ α-naftilacto rūgšties), palyginti su atitinkamomis 6-benzylamino purino koncentracijomis.

3. Intensyviausias ūglių formavimosi dažnis ir didžiausia ūglių išeiga iš eksplanto gauta dėl augimo reguliatorių 2,0 mg l⁻¹ tidiuzurono ir 0,05 mg l⁻¹ α-naftilacto rūgšties priedo maitinamojoje terpėje.

Gauta 2018 05 21

Priimta 2018 06 22

LITERATŪRA

- Anderson E., Arundale R., Maughan M., Oladeinde A., Wycislo A., Voigt T. 2011. Growth and agronomy of *Miscanthus × giganteus* for biomass production. *Biofuels*. Vol. 2. P. 167–183.
- Atkinson C. J. 2009. Establishing perennial grass energy crops in the UK: a review of current propagation options for *Miscanthus*. *Biomass Bioenergy*. Vol. 33. P. 752–759.
- Brosse N., Dufour A., Meng X., Sun Q., Ragauskas A. 2012. *Miscanthus*: a fast-growing crop for biofuels and chemicals production. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*. Vol. 6. P. 580–598.
- Cappelletti R., Sabbadini S., Mezzetti B. 2016. The use of TDZ for the efficient *in vitro* regeneration and organogenesis of strawberry and blueberry cultivars. *Scientia Horticulturae*. Vol. 207. P. 117–124.
- Gubišova M., Gubiš J., Žofajova A., Mihalik D., Kraic J. 2013. Enhanced *in vitro* propagation of *Miscanthus × giganteus*. *Industrial Crops and Products*. Vol. 41. P. 279–282.
- Guo B., Abbasi B. H., Zeb A., Xu L. L., Wei Y. H. 2011. Thidiazuron: a multi-dimensional plant growth regulator. *African Journal of Biotechnology*. Vol. 10. P. 8984–9000.
- Hastings A., Clifton-Brown J., Wattenbach M., Mitchell C. P., Stampfl P., Smith P. 2009. Future energy potential of *Miscanthus* in Europe. *GCB Bioenergy*. Vol. 1. P. 180–196.
- Heaton E. A., Dohleman F. G., Long S. P. 2008. Meeting US biofuel goals with less land: the potential of *Miscanthus*. *Global Change Biology*. Vol. 14. P. 2000–2014.
- Heaton E. A., Dohleman F. G., Miguez A. F., Juvik J. A., Lozovaya V., Widholm J., Zobotina O. A., McIsaac G. F., David M. B., Voigt T. B., Boersma N. N., Long S. P. 2010. *Miscanthus*: a promising biomass crop. *Advances in Botanical Research*. Vol. 56. P. 76–137.
- Hutchinson M. J., Onamu R., Kipkosgei L., Obukosia S. D. 2014. Effect of thidiazuron, NAA and BAP on *in vitro* propagation of *Alstromeria aurantiaca* cv. 'Rosita' from shoot tip explants. *The Journal of Agriculture, Science and Technology*. Vol. 16. No. 2. P. 58–71.
- Kadžiulienė Ž., Jasinskas A., Zinkevičius R., Makarevičienė V., Šarūnaitė L., Tilvikienė V., Šlepetys J. 2014. *Miscanthus* biomass quality composition and methods of feedstock preparation for conversion into synthetic diesel fuel. *Žemdirbystė-Agriculture*. Vol. 101. No. 1. P. 27–34.
- Karp A., Shield I. 2008. Bioenergy from plants and the sustainable yield challenge. *New Phytologist*. Vol. 179. P. 15–32.
- Kim H. N. S., Zhang G. I., Juvik J. A., Widholm J. A. M. 2010. *Miscanthus × giganteus* plant regeneration: effect of callus types, ages and culture methods on regeneration competence. *GCB Bioenergy*. Vol. 2. P. 192–200.
- Kryževičienė A., Kadžiulienė Ž., Šarūnaitė L., Dabkevičius Z., Tilvikienė V., Šlepetys J. 2011. Cultivation of *Miscanthus × giganteus* for biofuel and its tolerance of Lithuania's climate. *Žemdirbystė-Agriculture*. Vol. 98. No. 3. P. 267–274.
- Lata H., Chandra S., Wang Y. H., Raman V., Khan I. A. 2013. TDZ-induced high frequency plant regeneration through direct shoot organogenesis in *Stevia rebaudiana* Bertoni: an important medicinal plant and a natural sweetener. *American Journal of Plant Sciences*. Vol. 4. P. 117–128.
- Lewandowski I., Clifton-Brown J., Scurlock J. M. O., Huisman W. 2000. *Miscanthus*: European experience with a novel energy crop. *Biomass Bioenergy*. Vol. 19. P. 209–227.
- Lu C. 1993. The use of thidiazuron in tissue culture. *In Vitro Cellular & Developmental Biology*. Vol. 29. P. 92–96.
- Murashige T., Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*. Vol. 15. P. 473–497.
- Nada S., Chennareddy S., Goldman S. 2011. Direct shoot bud differentiation and plantlet regeneration from leaf and petiole explants of *Begonia tuberhybrida*. *Hortscience*. Vol. 46. No. 5. P. 759–764.

20. Plažek A., Dubert F. 2010. Improvement of medium for *Miscanthus × giganteus* callus induction and plant regeneration. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*. Vol. 52. No. 1. P. 105–110.
21. Radhika K., Sujatha M., Nageshwar Rao T. 2006. Thidiazuron stimulates adventitious shoot regeneration in different safflower explants. *Biologia Plantarum*. Vol. 50. No. 2. P. 174–179.
22. Raudonius S. 2017. Application of statistics in plant and crop research: important issues. *Žemdirbystė–Agriculture*. Vol. 104. No. 4. P. 377–382.
23. Sing N. D., Sahoo N. B., Jaiwal P. K. 2003. The effect of TDZ on organogenesis and somatic embryogenesis in pigeonpea (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.). *Plant Science*. Vol. 164. P. 341–347.
24. Ślusarkiewicz-Jarzina A., Ponitka A., Cerazy-Waliszewska J., Wojciechowicz M. K., Sobańska K., Jeżowski S., Pniewski T. 2017. Effective and simple *in vitro* regeneration system of *Miscanthus sinensis*, *M. × giganteus* and *M. sacchariflorus* for planting and biotechnology purposes. *Biomass and Bioenergy*. Vol. 107. P. 219–226.
25. Vujović T., Ružić D., Cerović R., Momirović G. S. 2010. Adventitious regeneration in blackberry (*Rubus fruticosus* L.) and assessment of genetic stability in regenerants. *Plant Growth Regulators*. Vol. 61. P. 265–275.

Inga Jančiauskienė, Aušra Blinstrubienė, Natalija Burbulis, Ramunė Masienė

EFFECT OF GROWTH REGULATORS ON DIRECT *MISCANTHUS × GIGANTEUS* ORGANOGENESIS *IN VITRO*

Summary

Research was carried out at the Institute of Biology and Plant Biotechnology of Aleksandras Stulginskis University and at the Laboratory of Agrobiotechnology of the Joint Research Centre. The effect of growth regulators on the direct organogenesis from isolated explants of *Miscanthus × giganteus* was analysed. Rhizome segments of *Miscanthus × giganteus* were cultivated in the Murashige and Skoog (MS) nutrient medium supplemented with different 6-benzylaminopurine (BAP) or thidiazuron (TDZ) and α -naphthalacetic acid (NAA) combinations. It has been determined that the isolated explants in the nutrient medium without growth regulators did not form adventitious shoots. In the nutrient medium supplemented with growth regulators the regeneration frequency varied from 5.6 to 21.1%. The adventitious shoots formation frequency due to the TDZ exposure, depending on the concentration, was from 5.4 to 10.0% higher (in combination with 0.05 mg l⁻¹ NAA) and from 4.4 to 8.8% higher (in combination with 0.1 mg l⁻¹ NAA) in comparison with the adequate concentration of TDZ. The most intensive shoot formation frequency and the highest shoot number per explant have been obtained in the medium supplemented with 2.0 mg l⁻¹ TDZ + 0.05 mg l⁻¹ NAA.

Keywords: growth regulators, *in vitro*, *Miscanthus × giganteus*, direct organogenesis