

# Veiksniai, lemiantys miskanto (*Miscanthus × giganteus*) pridėtinių ūglių formavimąsi *in vitro*

Inga Jančauskienė,

Aušra Blinstrubienė,

Natalija Burbulis

Vytauto Didžiojo universitetas,  
Žemės ūkio akademija,  
K. Donelaičio g. 58,  
44248 Kaunas, Lietuva  
El. paštas [ausra.blinstrubiene@vdu.lt](mailto:ausra.blinstrubiene@vdu.lt)

Tyrimai atlikti Vytauto Didžiojo universiteto (iki 2019 m. Aleksandro Stulginskio universiteto) Agronomijos fakulteto Biologijos ir augalų biotechnologijos instituto Agrobiotechnologijos laboratorijoje. Tirtas bazinės maitinamosios terpės, subkultivavimo ir augimo reguliatorių poveikis miskanto (*Miscanthus × giganteus*) pridėtinių ūglių formavimuisi *in vitro* kultūroje. Eksplantai – *in vitro* kultūroje užaugintų pridėtinių ūglių apikalinės meristemos, auginti *Woody Plant Medium* (WPM), ir *Murashige* ir *Skoog* (MS) maitinamosiose terpėse be augimo reguliatorių ir su skirtingais (1,0–4,0 mg l<sup>-1</sup>) 6-benzylamino purino (BAP) ir 0,4 mg l<sup>-1</sup> indolil-3-sviesto rūgšties (ISR) bei 0,01 mg l<sup>-1</sup> indolil-3-acto rūgšties (IAR) deriniais. Įvertinus bazinės maitinamosios terpės poveikį ūglių proliferacijai *in vitro* nustatyta, kad pridėtinių ūglių formavimosi dažnis WPM terpėje buvo nuo 5,0 % iki 18,5 % (po pirmo subkultivavimo) ir nuo 19,5 % iki 38,3 % (po antro subkultivavimo) didesnis, palyginti su MS terpe, papildyta analogiškais augimo reguliatorių deriniais. Įvertinus subkultivavimo poveikį nustatyta, kad WPM maitinamojoje terpėje po antro subkultivavimo pridėtinių ūglių formavimosi dažnis buvo nuo 13,3 % iki 18,5 % didesnis, palyginti su pirmu subkultivavimu, o MS maitinamojoje terpėje esminių skirtumų tarp subkultivavimų nenustatyta. Intensyviausias (48,8 %) pridėtinių ūglių formavimo dažnis ir didžiausias (24,1 vnt.) ūglių kiekis iš eksplanto nustatytas po antro subkultivavimo WPM maitinamojoje terpėje, papildytoje 3,0 mg l<sup>-1</sup> BAP + 0,4 mg l<sup>-1</sup> ISR + 0,01 mg l<sup>-1</sup> IAR.

**Raktažodžiai:** augimo reguliatoriai, bazinė maitinamoji terpė, *Miscanthus × giganteus*, pridėtiniai ūgliai, subkultivavimas

## ĮVADAS

Senkant iškastinio kuro atsargoms, atsinaujinantis energijos ištekliams vis plačiau naudojami kaip alternatyva iškastiniam kurui biodegalų, chemikalų ir bioplastikų gamyboje (Sims et al., 2006; Bryan et al., 2008; Fernando et al., 2010; Soldatos et al., 2010; Zegada-Lizaraza et al., 2010). Mokslinėje literatūroje nurodoma, kad Lietuvoje

energetinėms reikmėms tikslinga naudoti nesumedėjusius augalus – tradicines, gerai augančias ir gyvulių pašarui naudojamas žoles (geriausia varpines) bei netradicinius žolinius augalus (topinambų, saulėgražų ir kitų stambastiebių augalų stiebus) ir sumedėjusius augalus (gluosnius, tuopas ir t. t.) (Jasinskas, Liubarskis, 2005). Europoje ir Šiaurės Amerikoje vis daugiau dėmesio skiriama daug celiuliozės turinčių daugiamečių

žolių auginimui, dėl jų gebėjimo augti mažo našumo žemėse ir tolerantiškumo drėgmės trūkumui (Lewandowski et al., 2003; Zegada-Lizaza et al., 2010).

*Miscanthus × giganteus* ( $3n = 057$ ), hibridas tarp *Miscanthus sinensis* ( $2n = 38$ ) ir *Miscanthus sacchariflorus* ( $4n = 76$ ), – tai daugiametis, labai produktyvus  $C_4$  fotosintezės tipo žolinis augalas, kilęs iš Rytų Azijos (Scally et al., 2001). Europoje *Miscanthus × giganteus* auginamas nuo 1935 m., jis vis plačiau naudojamas kaip atsinaujinantis energijos išteklius (Anderson et al., 2011; Clifton-Brown et al., 2015). Skirtingai nei kiti  $C_4$  tipo augalai, *Miscanthus × giganteus* gali išlaikyti aukštą produktyvumą esant vėsesnėms meteorologinėms sąlygoms vegetacijos metu, pasižymi dideliu dirvožemio drėgmės panaudojimo efektyvumu ir yra daug mažiau jautrus ligoms bei kenkėjams (Clifton-Brown, Lewandowski, 2000; Lewandowski et al., 2000; Clifton-Brown et al., 2008; Anderson et al., 2011). Mokslinėje literatūroje nurodoma, kad *Miscanthus × giganteus* pagamina dvigubai daugiau biomasės nei rykštinė sora dėl didesnio lapo ploto indekso ir efektyvesnio vandens, azoto ir šviesos panaudojimo (Heaton et al., 2004; Dohleman et al., 2009). Teigiama, kad *Miscanthus × giganteus* yra vienas perspektyviausių bioenergetinių augalų Europoje (Karp, Shield, 2008; Anderson et al., 2011).

Triploidas *Miscanthus × giganteus* nesubrandina gyvybingų sėklų, todėl gali būti dauginamas tik vegetatyviškai. Vegetatyviniu būdu augalai gali būti dauginami dalijant šakniastiebius, paimtus iš motininių augalų (Pyter et al., 2009; Anderson et al., 2011), tačiau nuimtus šakniastiebius galima laikyti tik trumpą laiką, o prieš sodinant juos reikia supjaustyti dalimis (Lewandowski et al., 2000). Iš 2–3 metų amžiaus augalo per metus galima išauginti tik 50–150 sodinukų (Lewandowski, 1997). Dėl brangaus ir laiku imlaus dauginimo būdo *Miscanthus × giganteus* sudėtinga gauti reikiamą kiekį sodinamosios medžiagos. Augalų dauginimas *in vitro* sistemoje yra sėkmingai naudojamas daugelio augalų rūšių mikrodauginimui (Lobrant, Altman, 2010; Kumar, Reddy, 2011).

Maitinamosios terpės sudėtis yra vienas svarbiausių veiksnių, lemiančių augalų izoliuotų audinių ir ląstelių kultūros efektyvumą (Perez-Tornero et al., 2000; Tetsumura et al., 2008; Gonzales-Garcia et al., 2010; Li et al., 2019).

Tyrimų tikslas – įvertinti bazinės maitinamosios terpės, subkultivavimo ir augimo reguliatorių poveikį miskantų pridėtinių ūglių formavimuisi *in vitro*.

## METODAI IR SĄLYGOS

Tyrimai atlikti Vytauto Didžiojo universiteto (iki 2019 m. Aleksandro Stulginskio universiteto) Agromijos fakulteto Biologijos ir augalų biotechnologijos instituto Agrobiotechnologijos laboratorijoje. Eksplantai – *in vitro* kultūroje užaugintų pridėtinių ūglių apikalinės meristemos – keturias savaites (pirmas subkultivavimas) auginti *Woody Plant Medium* (WPM) (Lloyd, McCown, 1980), *Murashige* ir *Skoog* (MS) (Murashige, Skoog, 1962) maitinamosiose terpėse be augimo reguliatorių ir su skirtingais ( $1,0\text{--}4,0\text{ mg l}^{-1}$ ) 6-benzylamino purino (BAP) ir  $0,4\text{ mg l}^{-1}$  indolil-3-sviesto rūgšties (ISR) bei  $0,01\text{ mg l}^{-1}$  indolil-3-acto rūgšties (IAR) deriniais. Maitinamosios terpės papildytos  $30\text{ g l}^{-1}$  sacharozės ir  $8\text{ g l}^{-1}$  Difco Bacto agaru. Terpių pH –  $5,7 \pm 0,1$ . Sterili kultūra auginta kontroliuojamomis sąlygomis: šviesos intensyvumas –  $50\text{ }\mu\text{mol m}^{-2}\text{ s}^{-1}$ , fotoperiodas – 16/8 val. (dieną / naktį), aplinkos temperatūra –  $22 \pm 2\text{ }^\circ\text{C}$ . Po keturių savaičių (pirmas subkultivavimas) ūgliai steriliomis sąlygomis perkelti į šviežią tos pačios sudėties maitinamąją terpę ir auginti 4 savaites (antras subkultivavimas) anksčiau nurodytomis sąlygomis. Visuose eksperimentuose naudojama visiška randomizacija. Auginta po 50 kiekvieno varianto eksplantų, tyrimas atliktas keturiais pakartojimais.

Ūglių formavimosi dažnis ir ūglių kiekis iš eksplanto po pirmo ir antro subkultivavimo apskaičiuotas pagal formules:

$$\begin{aligned} \text{Ūglio formavimosi dažnis (\%)} &= \\ &= \frac{\text{eksplantų kiekis su pridėtiniais ūgliais}}{\text{bendras eksplantų kiekis}} \times 100. \quad (1) \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Ūglių kiekis iš eksplanto (vnt.)} &= \\ &= \frac{\text{pridėtinių ūglių kiekis}}{\text{pridėtinius ūglius formavusių eksplantų kiekis}}. \quad (2) \end{aligned}$$

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 Dun-  
kano kriterijų ( $P < 0,01$ ).

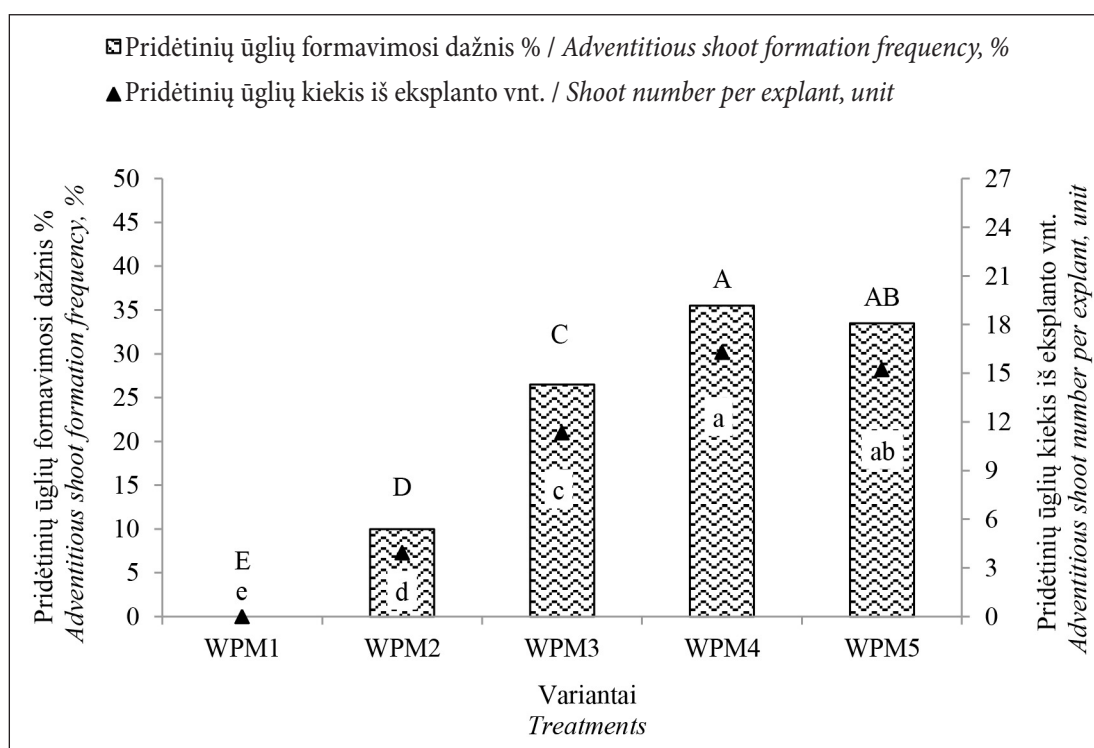
## REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS

Pirmo subkultivavimo metu WPM ir MS maitina-  
mosiose terpėse be augimo reguliatorių izoliuoti  
eksplantai pridėtinių ūglių neformavo (1, 2 pav.).

WPM maitinamojoje terpėje, papildytoje tirtais  
augimo reguliatorių deriniais, pirmoje subkultūro-  
je pridėtinius ūglius formavo vidutiniškai 26,4 %  
izoliuotų eksplantų (1 pav.). Didinant BAP koncen-  
traciją maitinamojoje terpėje, ūglių susiformavimo

dažnis ir ūglių kiekis iš eksplanto nuosekliai didėjo  
ir didžiausias (35,5 %) pridėtinių ūglių susiforma-  
vimo dažnis bei didžiausias (16,5 vnt.) ūglių kiekis  
iš eksplanto nustatytas maitinamojoje terpėje, papil-  
dytoje 3,0 mg l<sup>-1</sup> BAP + 0,4 mg l<sup>-1</sup> ISR + 0,01 mg l<sup>-1</sup>  
IAR. Padidinus BAP koncentraciją iki 4,0 mg l<sup>-1</sup>,  
ūglių formavimosi dažnis ir ūglių kiekis iš eksplanto  
sumažėjo, tačiau skirtumai statistiškai nepatikimi.

MS maitinamojoje terpėje, papildytoje tirtais  
augimo reguliatorių deriniais, po pirmo subkul-  
tivavimo pridėtinius ūglius formavo vidutiniškai  
13,1 % izoliuotų eksplantų (2 pav.). Didžiausias  
(18,5 %) ūglių susiformavimo dažnis ir ūglių kiekis

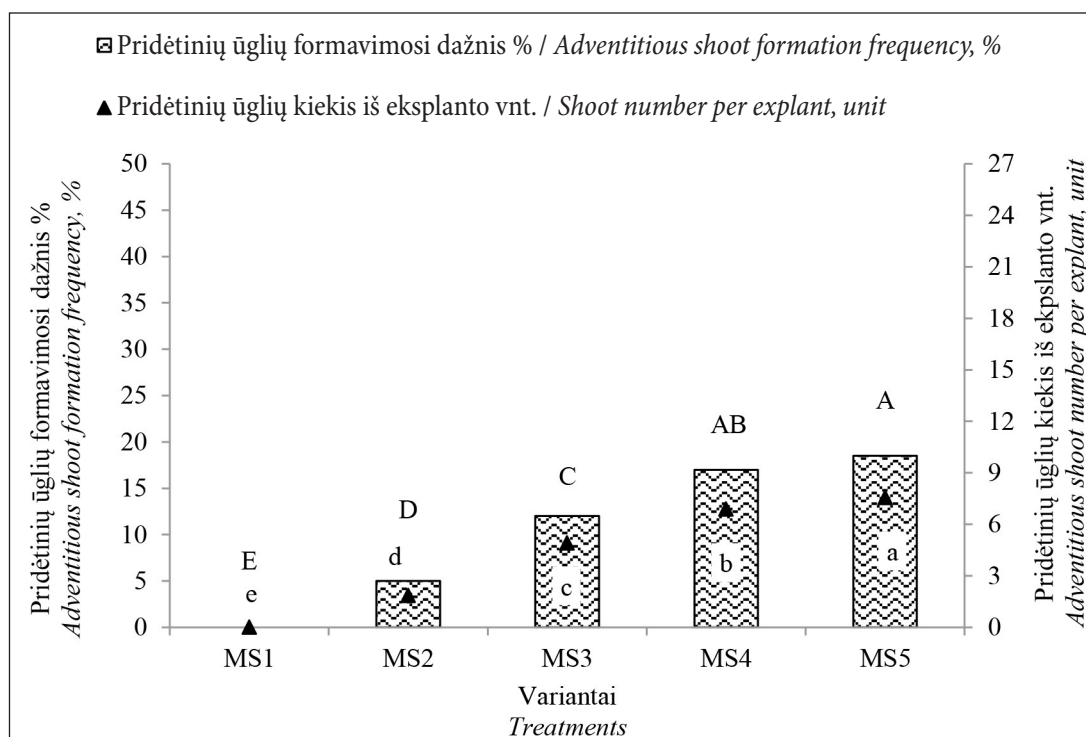


Pastaba: WPM1 – be augimo reguliatorių; WPM2 – 1,0 mg l<sup>-1</sup> BAP + 0,4 mg l<sup>-1</sup> ISR + 0,01 mg l<sup>-1</sup> IAR; WPM3 – 2,0 mg l<sup>-1</sup> BAP + 0,4 mg l<sup>-1</sup> ISR + 0,01 mg l<sup>-1</sup> IAR; WPM4 – 3,0 mg l<sup>-1</sup> BAP + 0,4 mg l<sup>-1</sup> ISR + 0,01 mg l<sup>-1</sup> IAR; WPM5 – 4,0 mg l<sup>-1</sup> BAP + 0,4 mg l<sup>-1</sup> ISR + 0,01 mg l<sup>-1</sup> IAR. Tarp variantų vidurkių, pažymėtų ne ta pačia raide (didžiosiomis raidėmis – ūglių formavimosi dažnis, mažosiomis raidėmis – ūglių kiekis iš eksplanto), skirtumai yra esminiai ( $P < 0,01$ ).

Note. WPM1: without growth regulators; WPM2: 1.0 mg l<sup>-1</sup> BAP + 0.4 mg l<sup>-1</sup> IBA + 0.01 mg l<sup>-1</sup> IAA; WPM3: 2.0 mg l<sup>-1</sup> BAP + 0.4 mg l<sup>-1</sup> IBA + 0.01 mg l<sup>-1</sup> IAA; WPM4: 3.0 mg l<sup>-1</sup> BAP + 0.4 mg l<sup>-1</sup> IBA + 0.01 mg l<sup>-1</sup> IAA; WPM5: 4.0 mg l<sup>-1</sup> BAP + 0.4 mg l<sup>-1</sup> IBA + 0.01 mg l<sup>-1</sup> IAA. Means not sharing a common letter (in capital case letters – shoot formation frequency, in lower letters – shoot number per explant) are significantly different ( $P < 0.01$ ).

**1 pav.** Augimo reguliatorių poveikis *Miscanthus* × *giganteus* pridėtinių ūglių formavimosi dažniui ir jų kiekiui iš eksplanto WPM maitinamojoje terpėje po pirmo subkultivavimo

**Fig. 1.** Effect of growth regulators on adventitious shoot formation frequency and shoot number per explant of *Miscanthus* × *giganteus* on WPM nutrition medium after the first subcultivation



Pastaba: WPM1 – be augimo reguliatorių; WPM2 – 1,0 mg l<sup>-1</sup> BAP + 0,4 mg l<sup>-1</sup> ISR + 0,01 mg l<sup>-1</sup> IAR; WPM3 – 2,0 mg l<sup>-1</sup> BAP + 0,4 mg l<sup>-1</sup> ISR + 0,01 mg l<sup>-1</sup> IAR; WPM4 – 3,0 mg l<sup>-1</sup> BAP + 0,4 mg l<sup>-1</sup> ISR + 0,01 mg l<sup>-1</sup> IAR; WPM5 – 4,0 mg l<sup>-1</sup> BAP + 0,4 mg l<sup>-1</sup> ISR + 0,01 mg l<sup>-1</sup> IAR. Tarp variantų vidurkių, pažymėtų ne ta pačia raide (didžiosiomis raidėmis – ūglių formavimosi dažnis, mažosiomis raidėmis – ūglių kiekis iš eksplanto), skirtumai yra esminiai ( $P < 0,01$ ).

Note. WPM1: without growth regulators; WPM2: 1.0 mg l<sup>-1</sup> BAP + 0.4 mg l<sup>-1</sup> IBA + 0.01 mg l<sup>-1</sup> IAA; WPM3: 2.0 mg l<sup>-1</sup> BAP + 0.4 mg l<sup>-1</sup> IBA + 0.01 mg l<sup>-1</sup> IAA; WPM4: 3.0 mg l<sup>-1</sup> BAP + 0.4 mg l<sup>-1</sup> IBA + 0.01 mg l<sup>-1</sup> IAA; WPM5: 4.0 mg l<sup>-1</sup> BAP + 0.4 mg l<sup>-1</sup> IBA + 0.01 mg l<sup>-1</sup> IAA. Means not sharing a common letter (in capital case letters – shoot formation frequency, in lower letters – shoot number per explant) are significantly different ( $P < 0.01$ ).

**2 pav.** Augimo reguliatorių poveikis *Miscanthus × giganteus* pridėtinių ūglių formavimosi dažniui ir jų kiekiui iš eksplanto MS maitinamojoje terpėje po pirmo subkultivavimo

**Fig. 2.** Effect of growth regulators on adventitious shoot formation frequency and shoot number per explant of *Miscanthus × giganteus* on MS nutrition medium after the first subcultivation

iš eksplanto (7,6 vnt.) nustatytas maitinamojoje terpėje, papildytoje 4,0 mg l<sup>-1</sup> BAP ir nekintančiu ISR bei IAR deriniu.

Vertinant bazinės maitinamosios terpės poveikį tiesioginei organogenezei *in vitro* pirmoje subkultūroje nustatyta, kad pridėtinių ūglių formavimosi dažnis WPM terpėje buvo nuo 5,0 % (1,0 mg l<sup>-1</sup> BAP + 0,4 mg l<sup>-1</sup> ISR + 0,01 mg l<sup>-1</sup> IAR) iki 18,5 % (3,0 mg l<sup>-1</sup> BAP + 0,4 mg l<sup>-1</sup> ISR + 0,01 mg l<sup>-1</sup> IAR) intensyvesnis, palyginti su MS terpe, papildyta analogiškais augimo reguliatorių deriniais.

Po antro subkultivavimo WPM maitinamojoje terpėje ūglius suformavo vidutiniškai 39,8 %

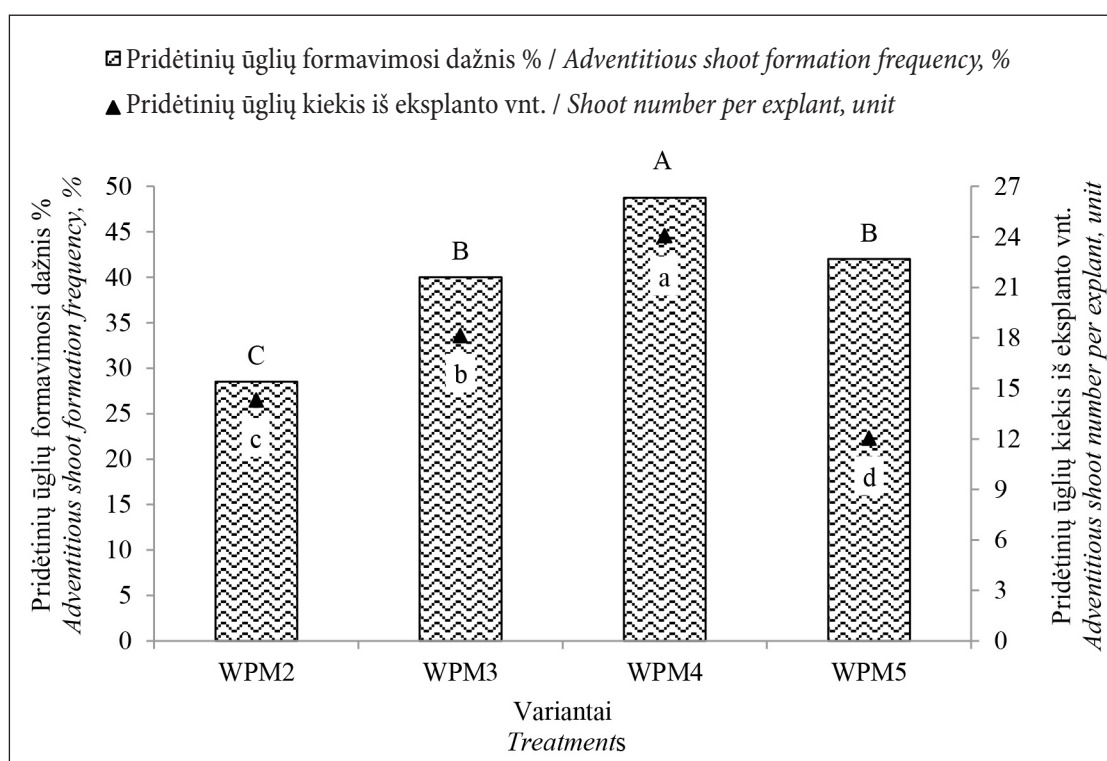
perkeltų eksplantų (3 pav.). Didinant BAP koncentraciją maitinamojoje terpėje, ūglių susiformavimo dažnis ir ūglių kiekis iš eksplanto nuosekliai didėjo ir didžiausias (48,8 %) pridėtinių ūglių susiformavimo dažnis bei didžiausias (24,1 vnt.) ūglių kiekis iš eksplanto nustatytas maitinamojoje terpėje, papildytoje 3,0 mg l<sup>-1</sup> BAP + 0,4 mg l<sup>-1</sup> ISR + 0,01 mg l<sup>-1</sup> IAR. Skirtingai nuo pirmo subkultivavimo, BAP koncentracijos padidinimas iki 4,0 mg l<sup>-1</sup> turėjo statistiškai patikimą neigiamą poveikį ūglių proliferacijai antroje subkultūroje. Dėl 4,0 mg l<sup>-1</sup> BAP + 0,4 mg l<sup>-1</sup> ISR + 0,01 mg l<sup>-1</sup> IAR poveikio ūglių susiformavimo dažnis sumažėjo

6,8 %, palyginti su 3,0 mg l<sup>-1</sup> BAP + 0,4 mg l<sup>-1</sup> ISR + 0,01 mg l<sup>-1</sup> IAR deriniu. Pridėtinių ūglių išėiga buvo slopinama dar labiau – ūglių kiekis iš eksplanto sumažėjo, palyginti su kitais augimo reguliatorių deriniais, skirtumai esminiai ir statistškai patikimi.

MS maitinamojoje terpėje po antro subkultivavimo ūglius suformavo vidutiniškai 11,0 % perkeltų eksplantų (4 pav.). Didžiausias (16,5 %) ūglių susiformavimo dažnis ir didžiausias (9,5 vnt.) ūglių kiekis iš eksplanto nustatytas maitinamojoje terpėje, papildytoje 4,0 mg l<sup>-1</sup> BAP + 0,4 mg l<sup>-1</sup> ISR + 0,01 mg l<sup>-1</sup> IAR.

Vertinant bazinės maitinamosios terpės poveikį tiesioginei organogenezei *in vitro* antroje subkultūroje nustatyta, kad pridėtinių ūglių formavimosi dažnis WPM terpėje buvo nuo 19,5 % (1,0 mg l<sup>-1</sup> BAP + 0,4 mg l<sup>-1</sup> ISR + 0,01 mg l<sup>-1</sup> IAR) iki 38,3 % (3,0 mg l<sup>-1</sup> BAP + 0,4 mg l<sup>-1</sup> ISR + 0,01 mg l<sup>-1</sup> IAR) didesnis, palyginti su MS terpe, papildyta analogiškais augimo reguliatorių deriniais.

Vertinant subkultivavimo poveikį tiesioginei organogenezei *in vitro* nustatyta, kad po antro subkultivavimo WPM maitinamojoje terpėje pridėtinių ūglių formavimosi dažnis ir ūglių kiekis iš

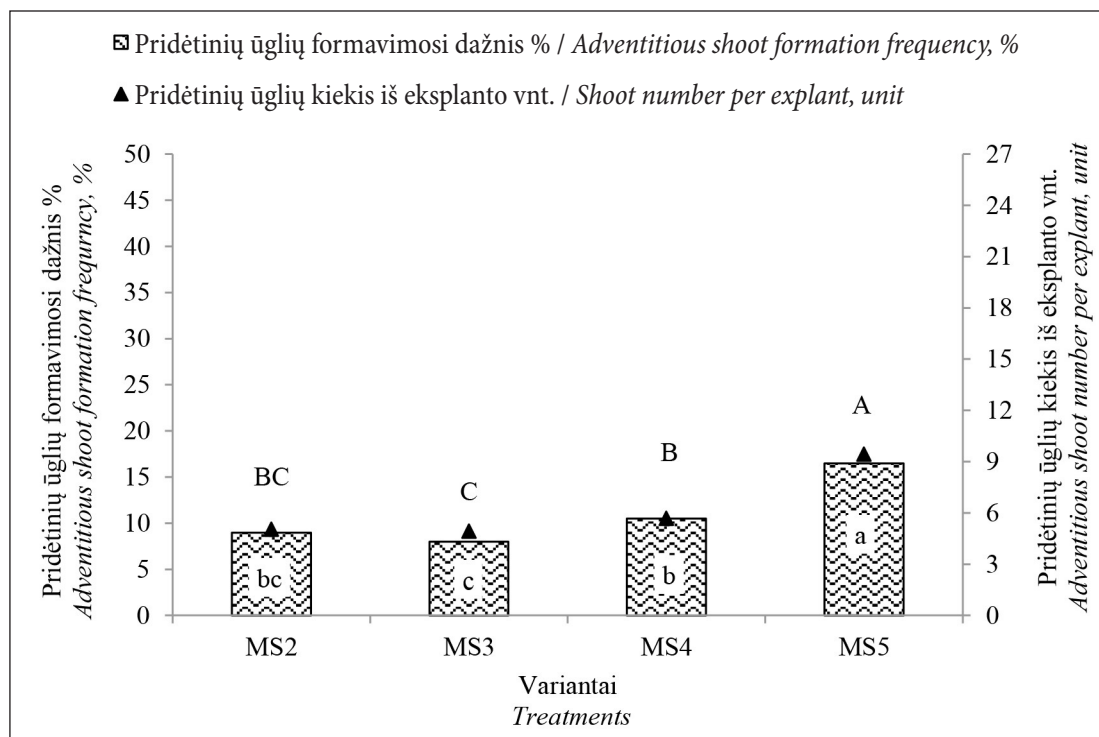


Pastaba: WPM2 – 1,0 mg l<sup>-1</sup> BAP + 0,4 mg l<sup>-1</sup> ISR + 0,01 mg l<sup>-1</sup> IAR; WPM3 – 2,0 mg l<sup>-1</sup> BAP + 0,4 mg l<sup>-1</sup> ISR + 0,01 mg l<sup>-1</sup> IAR; WPM4 – 3,0 mg l<sup>-1</sup> BAP + 0,4 mg l<sup>-1</sup> ISR + 0,01 mg l<sup>-1</sup> IAR; WPM5 – 4,0 mg l<sup>-1</sup> BAP + 0,4 mg l<sup>-1</sup> ISR + 0,01 mg l<sup>-1</sup> IAR. Tarp variantų vidurkių, pažymėtų ne ta pačia raide (didžiosiomis raidėmis – ūglių formavimosi dažnis, mažosiomis raidėmis – ūglių kiekis iš eksplanto), skirtumai yra esminiai ( $P < 0,01$ ).

Note. WPM2: 1.0 mg l<sup>-1</sup> BAP + 0.4 mg l<sup>-1</sup> IBA + 0.01 mg l<sup>-1</sup> IAA; WPM3: 2.0 mg l<sup>-1</sup> BAP + 0.4 mg l<sup>-1</sup> IBA + 0.01 mg l<sup>-1</sup> IAA; WPM4: 3.0 mg l<sup>-1</sup> BAP + 0.4 mg l<sup>-1</sup> IBA + 0.01 mg l<sup>-1</sup> IAA; WPM5: 4.0 mg l<sup>-1</sup> BAP + 0.4 mg l<sup>-1</sup> IBA + 0.01 mg l<sup>-1</sup> IAA. Means not sharing a common letter (in capital case letters – shoot formation frequency, in lower letters – shoot number per explant) are significantly different ( $P < 0.01$ ).

**3 pav.** Augimo reguliatorių poveikis *Miscanthus × giganteus* pridėtinių ūglių formavimosi dažniui ir jų kiekiui iš eksplanto WPM maitinamojoje terpėje po antro subkultivavimo

**Fig. 3.** Effect of growth regulators on adventitious shoot formation frequency and shoot number per explant of *Miscanthus × giganteus* on WPM nutrition medium after the second subcultivation



Pastaba: WPM2 – 1,0 mg l<sup>-1</sup> BAP + 0,4 mg l<sup>-1</sup> ISR + 0,01 mg l<sup>-1</sup> IAR; WPM3 – 2,0 mg l<sup>-1</sup> BAP + 0,4 mg l<sup>-1</sup> ISR + 0,01 mg l<sup>-1</sup> IAR; WPM4 – 3,0 mg l<sup>-1</sup> BAP + 0,4 mg l<sup>-1</sup> ISR + 0,01 mg l<sup>-1</sup> IAR; WPM5 – 4,0 mg l<sup>-1</sup> BAP + 0,4 mg l<sup>-1</sup> ISR + 0,01 mg l<sup>-1</sup> IAR. Tarp variantų vidurkių, pažymėtų ne ta pačia raide (didžiosiomis raidėmis – ūglių formavimosi dažnis, mažosiomis raidėmis – ūglių kiekis iš eksplanto), skirtumai yra esminiai ( $P < 0,01$ ).

Note. WPM2: 1.0 mg l<sup>-1</sup> BAP + 0.4 mg l<sup>-1</sup> IBA + 0.01 mg l<sup>-1</sup> IAA; WPM3: 2.0 mg l<sup>-1</sup> BAP + 0.4 mg l<sup>-1</sup> IBA + 0.01 mg l<sup>-1</sup> IAA; WPM4: 3.0 mg l<sup>-1</sup> BAP + 0.4 mg l<sup>-1</sup> IBA + 0.01 mg l<sup>-1</sup> IAA; WPM5: 4.0 mg l<sup>-1</sup> BAP + 0.4 mg l<sup>-1</sup> IBA + 0.01 mg l<sup>-1</sup> IAA. Means not sharing a common letter (in capital case letters – shoot formation frequency, in lower letters – shoot number per explant) are significantly different ( $P < 0.01$ ).

**4 pav.** Augimo reguliatorių poveikis *Miscanthus × giganteus* pridėtinių ūglių formavimosi dažniui ir jų kiekiui iš eksplanto MS maitinamojoje terpėje po antro subkultivavimo

**Fig. 4.** Effect of growth regulators on adventitious shoot formation frequency and shoot number per explant of *Miscanthus × giganteus* on MS nutrition medium after the second subcultivation

eksplanto buvo nuo 13,3 % ir 7,8 vnt. (3,0 mg l<sup>-1</sup> BAP + 0,4 mg l<sup>-1</sup> ISR + 0,01 mg l<sup>-1</sup> IAR) iki 18,5 % ir 10,4 vnt. (1,0 mg l<sup>-1</sup> BAP + 0,4 mg l<sup>-1</sup> ISR + 0,01 mg l<sup>-1</sup> IAR) didesnis, palyginti su pirmu subkultivavimu. Priešingai, MS maitinamojoje terpėje didesnė ūglių proliferacija po antro subkultivavimo nustatyta tik terpėje, papildytoje 1,0 mg l<sup>-1</sup> BAP + 0,4 mg l<sup>-1</sup> ISR + 0,01 mg l<sup>-1</sup> IAR deriniu.

Palyginti su MS maitinamojoje terpe, WPM maitinamojoje terpėje yra 4,1 karto mažiau amonio nitrato, 3,5 karto mažiau kalcio chlorido ir visai nėra kalio nitrato (MS terpėje yra 1900,0 mg l<sup>-1</sup>). Teigiama, kad WPM maitinamoji terpė yra tin-

kamesnė kai kurių, ypač sumedėjusių, augalų mikrodauginimui dėl mažesnių druskų kiekio (Perez-Tornero et al., 2000), tačiau, pavyzdžiui, aukštosios šilauogės mikrodauginimui vieni mokslininkai kaip tinkamesnę nurodo WPM terpę (Gonzalez et al., 2000), kiti teigia, kad šiam augalui geriausia yra kompleksinė 0,5MS + 0,5 WPM terpė (Tetsumura et al., 2008).

Mums nepavyko rasti duomenų apie WPM maitinamosios terpės panaudojimą miskantų mikrodauginimui, tačiau gauti tyrimų rezultatai įrodo, kad WPM terpėje *Miscanthus × giganteus* pridėtinių ūglių proliferacija *in vitro* vyksta intensyviau nei MS terpėje.

## IŠVADOS

1. Įvertinus bazinės maitinamosios terpės poveikį ūglių proliferacijai *in vitro* nustatyta, kad pridėtinių ūglių formavimosi dažnis WPM terpėje buvo nuo 5,0 % iki 18,5 % (po pirmo subkultivavimo) ir nuo 19,5 % iki 38,3 % (po antro subkultivavimo) didesnis, palyginti su MS terpe, papildyta analogiškais augimo reguliatorių deriniais.

2. Įvertinus subkultivavimo poveikį nustatyta, kad WPM maitinamojoje terpėje antro subkultivavimo metu pridėtinių ūglių formavimosi dažnis buvo nuo 13,3 % iki 18,5 % didesnis, palyginti su pirmu subkultivavimu, o MS maitinamojoje terpėje esminių skirtumu tarp subkultivavimų nenustatyta.

3. Intensyviausias (48,8 %) pridėtinių ūglių formavimosi dažnis ir didžiausias (24,1 vnt.) ūglių kiekis iš eksplanto nustatytas po antro subkultivavimo WPM maitinamojoje terpėje, papildytoje 3,0 mg l<sup>-1</sup> BAP + 0,4 mg l<sup>-1</sup> ISR + 0,01 mg l<sup>-1</sup> IAR.

Gauta 2020 01 03

Priimta 2020 03 13

## 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.
- Bryan B. A., Ward J., Hobbs T. 2008. An assessment of the economic and environmental potential of biomass production in an agricultural region. *Land Use Policy*. Vol. 25. P. 533–549.
- Clifton-Brown J., Lewandowski I. 2000. Water use efficiency and biomass partitioning of three different *Miscanthus* genotypes with limited and unlimited water supply. *Annals of Botany*. Vol. 86. P. 191–200.
- Clifton-Brown J., Chiang Y. Ch., Hodkinsin T. R. 2008. *Miscanthus*: genetic resources and breeding potential to enhance bioenergy production. In: *Genetic Improvement of Bioenergy Crops*. Springer. P. 273–294.
- Clifton-Brown J., Schwarz K. U., Hastings A. 2015. History of the development of *Miscanthus* as a bioenergy crop: from small beginnings to potential realisation. *Biology and Environment*. Vol. 115. No. 1. P. 1–13.
- Dohleman F. G., Heaton E. A., Leakey A. D. B., Long S. P. 2009. Does greater leaf-level photosynthesis explain the larger solar energy conversion efficiency of *Miscanthus* relative to switchgrass? *Plant, Cell & Environment*. Vol. 32. P. 1525–1537.
- Fernando A. L., Duarte M. P., Almeida J., Boleo S., Mendes B. 2010. Environmental impact assessment of energy crops cultivation in Europe. *Biofuels, Bioproducts, Biorefining*. Vol. 4. P. 594–604.
- Gonzalez M. V., Lopez M., Valdes A. E., Ordas R. J. 2000. Micropropagation of three berry fruit species using nodal segments from field grown plants. *Annals of Applied Biology*. Vol. 137. P. 73–78.
- Gonzales-Garcia R., Quiroz K., Carrasco B., Caligari P. 2010. Plant tissue culture: Current status, opportunities and challenges. *Ciencia e Investigacion Agraria*. Vol. 37. No. 3. P. 5–30.
- Heaton E. A., Voigt T., Long S. P. 2004. A quantitative review comparing the yields of two candidate C4 perennial biomass crops in relation to nitrogen, temperature and water. *Biomass & Bioenergy*. Vol. 27. P. 21–30.
- Jasinskis A., Liubarskis V. 2005. *Energetinių augalų auginimo ir naudojimo kurui technologijos*: studija. Raudondvaris. 90 p.
- Karp A., Shield I. 2008. Bioenergy from plants and the sustainable yield challenge. *New Phytologist*. Vol. 179. P. 15–32.
- Kumar N., Reddy M. P. 2011. *In vitro* plant propagation: a review. *Journal of Forest Science*. Vol. 27. P. 61–72.
- Lewandowski I. 1997. Micropropagation of *Miscanthus × giganteus*. *Biotechnology in Agriculture and Forestry*. Vol. 39. P. 239–255.
- Lewandowski I., Clifton-Brown J., Scurlock J. M. O., Huisman W. 2000. *Miscanthus*: European experience with a novel energy crop. *Biomass and Bioenergy*. Vol. 19. P. 209–227.
- Lewandowski I., Heinz A. 2003. Delayed harvest of miscanthus – influences on biomass quantity and quality and environmental impact of energy production. *European Journal of Agronomy*. Vol. 19. P. 45–63.
- Li Q., Gu M., Deng M. 2019. *In vitro* propagation of oriental white oak *Quercus aliena* Blume. *Forests*. Vol. 10. No. 463. P. 1–9.
- Lloyd G., McCown B. 1980. Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture. *Combined Proceedings of the International Plant Propagators' Society*. Vol. 30. P. 421–427.
- Loberant B., Altman A. 2010. Micropropagation of plants. In: *Encyclopedia of Industrial Biotechnology: Bioprocess, Bioseparation, and Cell Technology*. Wiley. P. 1–17.
- Murashige T., Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*. Vol. 15. P. 473–497.
- Perez-Tornero O., Lopez J. M., Egea J., Burgos L. 2000. Effect of basal media and growth regulators on the *in vitro* propagation of apricot (*Prunus armeniaca* L.) cv. Canino. *Journal of Horticultural*

- Sciences and Biotechnology*. Vol. 75. No. 3. P. 283–286.
22. Pyter R., Heaton E., Dohleman F., Voigt T., Long S. 2009. Agronomic experiences with *Miscanthus × giganteus* in Illinois, USA. *Methods in Molecular Biology*. Vol. 581. P. 41–52.
  23. Raudonius S. 2017. Application of statistics in plant and crop research: important issues. *Žemdirbystė–Agriculture*. Vol. 104. No. 4. P. 377–382.
  24. Scally L., Hodkinson T. R., Jones M. B. 2001. Origins and taxonomy of *Miscanthus*. In: *Miscanthus for Energy and Fibre*. James & James. P. 1–9.
  25. Sims R. H., Hastings A., Schlamadinger B., Taylor G., Smith P. 2006. Energy crops: current status and future prospects. *Global Change Biology*. Vol. 12. P. 2054–2076.
  26. Soldatos P., Lychnaras V., Panoutsou C., Cosentino S. L. 2010. Economic viability of energy crops in the EU: the farmer's point of view. *Biofuels, Bioproducts, Biorefining*. Vol. 4. P. 637–657.
  27. Tetsumura T., Matsumoto Y., Sato M., Honsho Ch., Yamashita K., Komatsu H., Sugimoto Y., Kunitake H. 2008. Evaluation of basal media for micropropagation of four highbush blueberry cultivars. *Scientia Horticulturae*. Vol. 119. P. 72–74.
  28. Zegada-Lizaraza W., Elbersen W. H., Cosentino S. L., Zatta A., Alexopoulou E., Monti A. 2010. Agronomic aspects of future energy crops in Europe. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*. Vol. 4. P. 674–691.

**Inga Jančiauskienė, Aušra Blinstrubienė,  
Natalija Burbulis**

#### **FACTORS AFFECTING *MISCANTHUS × GIGANTEUS* ADVENTITIOUS SHOOTS FORMATION *IN VITRO***

##### *S u m m a r y*

The research was carried out at the Laboratory of Agrobiotechnology of the Institute of Biology and Plant Biotechnology, Faculty of Agronomy of Vytautas Magnus University (till 2019 Aleksandras Stulginskis University). The effect of basal nutrition medium, subculture and growth regulators on the adventitious shoots formation from isolated explants of *Miscanthus × giganteus* was analysed. The apical meristem of *in vitro* developed adventitious shoots of *Miscanthus × giganteus* was cultivated in the Woody Plant Medium (WPM) and Murashige and Skoog (MS) nutrition medium supplemented with different 6-benzylaminopurine (BAP) and indole-3-butyric acid (IBA) or indole-3-acetic acid (IAA) combinations. It has been determined that the formation frequency of adventitious shoots on the WPM nutrition medium was from 5.0 to 18.5% (after the first subculture) and from 19.5 to 38.3% (after the second subculture) higher in comparison with the MS nutrition medium supplemented with the same combinations of growth regulators. It has been established that on the WPM nutrition medium the formation frequency of adventitious shoots after the second subculture was from 13.3 to 18.5% higher in comparison with the first subculture, while on the MS nutrition medium the effect of subculture was not significant. The most intensive frequency of shoots formation (48.8%) and the highest shoot number per explant (24.1 units) have been obtained in the WPM medium supplemented with 3.0 mg l<sup>-1</sup> BAP + 0.4 mg l<sup>-1</sup> IBA + 0.01 mg l<sup>-1</sup> IAA after the second subculture.

**Keywords:** adventitious shoots, basal nutrition medium, growth regulators, *Miscanthus × giganteus*, subculture