

УДК 631.53.01:633.491

© 2016

Ю.О. Лавриненко,
член-кореспондент НААН,
доктор сільсько-
господарських наук

Г.С. Балашова,
доктор сільсько-
господарських наук

О.І. Котова
Інститут зрощуваного
землеробства НААН

КУЛЬТИВУВАННЯ РОСЛИН КАРТОПЛІ *IN VITRO* ЗА МІКРОКЛОНАЛЬНОГО РОЗМНОЖЕННЯ

Мета. Визначити оптимальний режим бульбоутворення в культурі *in vitro* середньораннього сорту картоплі Невська залежно від кислотності живильного середовища (рН), інтенсивності освітлення та фотоперіоду для збільшення обсягу виробництва вихідного оздоровленого посадкового матеріалу. **Методи.** Комплексне використання лабораторного, математико-статистичного, розрахунково-порівняльного методів і системного аналізу. **Результати.** Наведено експериментальні дані щодо впливу кислотності живильного середовища (рН), інтенсивності освітлення та фотоперіоду на індукцію бульбоутворення за мікроклонального розмноження оздоровленого вихідного матеріалу. Встановлено, що рН живильного середовища впливає на інтенсивність бульбоутворення. **Висновки.** Максимальні показники продуктивності та економічної ефективності рослин *in vitro* середньораннього сорту Невська отримано за рН=5,3; фотоперіоду 16 год та освітлення 2500 лк: інтенсивність бульбоутворення становила 92,7%, маса середньої мікробульби — 667,7 мг, маса мікробульб на 1 рослину — 617,3 мг, кількість мікробульб масою понад 350 мг — 79,1% за рентабельності виробництва 117%, собівартості 7,37 грн/мікробульбу, умовний чистий прибуток — 8,63 грн/мікробульбу.

Ключові слова: бульбоутворення, кількість міжвузлів, висота рослин, кислотність живильного середовища, фотоперіод, інтенсивність освітлення, маса мікробульб.

Основою розробки технології одержання мікро- та мінібульб є знання механізму бульбоутворення як фізіолого-біохімічного процесу та способів його регуляції. Установлено, що бульбоутворення в рослині індукується з системою чинників, а саме: надлишком асимілянтів, гормональним станом рослини, фотоперіодом, зниженням температури, дефіцитом азоту, зміною атрагуючих центрів через затухання активності апікальної меристеми стебла у бік столонів і бульб,

онтогенетичний стан рослини [1, 2]. Отже, процес бульбоутворення можна регулювати рядом ендо- та екзогенних чинників, що є основою для низки технологій одержання мікро- та мінібульб у первинному насінництві картоплі, спрямованих на довготривале збереження репродуктивних властивостей безвірусної насіннєвої картоплі [3].

Успіх у культивуванні культур клітин, тканин та органів рослин визначається складом живильного середовища [4–6].

Для культивування культури картоплі використовують середовище Т. Murashige, F. Skoog (МС) [7], до складу якого входять макро- та мікроелементи, залізо, кальцій, вітаміни, стимулятори росту. Велике значення має кислотність цього середовища. Відомо, що в нативних умовах рослинна клітина функціонує у вузьких межах коливань концентрації водневих іонів. Відносна стабільність величини рН у внутрішньоклітинному та навколишньому середовищі клітини підтримується буферними системами, в яких найважливішу роль виконують білкові молекули як амфоліти. Від величини рН залежить структура й активність біологічних макромолекул, передусім білків, особливо білків-ферментів [4]. Також кислотність середовища визначає доступність поживних речовин для рослин *in vitro*. Відомо, що дуже кислі або лужні середовища лімітують надходження деяких елементів, наприклад, фосфору і заліза, роблячи їх відносно нерозчинними, чим обмежують ріст рослин. Водночас за високої кислотності інші елементи переходять у розчинений стан і стають токсичними для експлантів [8]. Дуже важливо, щоб усі процеси відбувалися за визначеної кислотності. Зокрема,

це потрібно для нормального функціонування біологічних каталізаторів — ферментів (у разі виходу за ці межі їхня активність може різко уповільнюватися).

На ефективність біотехнологічного методу отримання якісного вихідного матеріалу значною мірою впливає інший чинник процесу бульбоутворення — інтенсивність освітлення та фотоперіод. Отже, вивчення взаємодії перелічених вище чинників має велике значення для оптимізації процесу бульбоутворення картоплі в культурі *in vitro* [6].

Мета досліджень — визначити оптимальний режим бульбоутворення в культурі *in vitro* сорту картоплі Невська залежно від кислотності живильного середовища (рН), інтенсивності освітлення та фотоперіоду для збільшення обсягу виробництва вихідного оздоровленого посадкового матеріалу.

Матеріали і методика досліджень. Інтенсивність бульбоутворення різних сортів картоплі за однакової кислотності відрізняється. В умовах мікроклональної лабораторії вивчено вплив рН живильного середовища у взаємодії з фоторежимом на інтенсивність бульбоутворення картоплі сорту Невська в культурі *in vitro*. На вивчення було поставлено 3 чинники: А — фотоперіод (10 та

1. Вплив кислотності (рН) живильного середовища, фотоперіоду та інтенсивності освітлення на бульбоутворення картоплі сорту Невська в культурі *in vitro*

Фотоперіод, год	Інтенсивність освітлення, лк	рН живильного середовища	День культивування									
			20-й				40-й				60-й	80-й
			висота рослин, см	кількість міжвузлів, шт.	кількість рослин, що утворили, %		приріст висоти рослин, см	кількість міжвузлів, шт.	кількість рослин, що утворили, %			
					столони	бульби			столони	бульби		
10	1500	4,8	5,2	4,2	99,7	0,3	1,7	5,8	91,0	9,0	19,7	55,7
		4,3	4,3	3,9	98,3	1,7	1,5	5,1	92,7	7,3	14,0	30,0
		5,3	4,0	3,7	96,3	3,7	1,3	4,9	85,3	14,7	25,3	45,7
	2500	4,8	3,3	3,5	91,3	8,7	1,9	4,8	74,3	25,7	47,3	83,0
		4,3	3,5	3,9	95,0	5,0	2,3	5,5	91,7	8,3	9,3	59,7
		5,3	3,6	3,4	97,7	2,3	2,0	5,1	88,3	11,7	22,0	83,7
16	1500	4,8	3,5	3,5	97,7	2,3	3,3	5,8	94,0	6,0	13,0	45,0
		4,3	4,9	4,4	95,0	5,0	2,7	6,4	90,7	9,3	19,3	49,7
		5,3	4,2	4,2	90,3	9,7	2,4	5,6	86,0	14,0	25,7	74,0
	2500	4,8	4,5	4,3	98,7	1,3	2,4	6,0	90,7	9,3	28,0	76,7
		4,3	4,4	4,1	94,3	5,7	2,2	5,7	85,3	14,7	42,3	71,7
		5,3	3,9	3,8	93,3	6,7	2,3	5,4	81,0	19,0	43,7	92,7

16 год), В — інтенсивність освітлення (1500 та 2500 лк), С — кислотність живильного середовища (рН=4,3; 4,8; 5,3).

Дослідження виконано згідно із загальноприйнятими методиками. Для отримання вихідних оздоровлених біотехнологічним методом рослин картоплі *in vitro* застосовано метод термо-хімотерапії у поєднанні з культурою апікальних меристем згідно з методичними рекомендаціями [3, 5, 8–10]. Експерименти проводили за загальноприйнятими методиками [11, 12]. Економічну ефективність виробництва оздоровленого вихідного матеріалу в культурі *in vitro* розраховували виходячи з фактичної собівартості мікробульб згідно з технологічними картами.

Результати досліджень. Установлено, що середній приріст рослин у висоту залежав від фотоперіоду. Так, на 20-й день культивування рослини *in vitro* були вищі в середньому на 0,2 см за освітлення 16 год, ніж за освітлення 10 год (табл. 1).

На 40-й день спостережень приріст рослин у висоту за фотоперіоду 16 год був також більшим на 44,4%, ніж за 10 год і становив 2,6 см.

Кількість міжвузлів на 20- та 40-й дні культивування була більшою за фотоперіоду 16 год і становила в середньому 4,1 та 5,8 шт. проти 3,8 та 5,2 шт. за освітлення 10 год.

Невська — середньоранній сорт картоплі. Тому на 20-й день спостережень за

16-годинного освітлення було утворено лише 5,1% мікробульб, а за 10-годинного — 3,6%. На 40-й день культивування фотоперіод майже не впливав на утворення мікробульб: за освітлення 16 год 12,1% рослин утворили мікробульби, за 10 год — 12,8%.

За взаємодії фотоперіоду та інтенсивності освітлення висота рослин на 20-й день спостережень у середньому майже однакова за фотоперіоду 16 год — 4,2 та 4,3 см за 1500 та 2500 лк, відповідно, а за 10 год та 1500 лк приріст — 4,6 см, що на 31,4% більше, ніж за 2500 лк. На 40-й день культивування приріст рослин у висоту в межах фотоперіодів відрізняється. Так, за 10-годинного фотоперіоду він становив 1,5 см за 1500 лк, проти 2,1 см за 2500 лк. За фотоперіоду 16 год приріст рослин у висоту — 2,8 та 2,3 см за 1500 та 2500 лк, відповідно.

На 20-й день спостережень за фотоперіоду 10 год та 2500 лк утворено 5,3% мікробульб проти 1,9% за 1500 лк. За 16 год — 4,6 та 5,7%, відповідно. На 40-й день культивування інтенсивність бульбоутворення вища за більшої інтенсивності освітлення. Так, за 10 год і інтенсивності освітлення 1500 лк утворено на 4,9% мікробульб менше, ніж за 2500 лк. За 16 год і освітлення 1500 лк 9,8% рослин утворили мікробульби, що в 1,5 раза менше, ніж за освітлення 2500 лк.

2. Продуктивність рослин картоплі сорту Невська в культурі *in vitro* залежно від кислотності (рН) живильного середовища, фотоперіоду та інтенсивності освітлення

Фотоперіод, год	Інтенсивність освітлення, лк	рН живильного середовища	Маса середньої мікробульби, мг	Маса мікробульб, мг/рослину	Вихід мікробульб масою понад 350 мг, %	Кількість рослин, що утворили мікробульби, %	Кількість мікробульб на 1 рослину, шт.
10	1500	4,8	177,6	106,1	13,2	55,7	0,58
		4,3	96,3	29,2	0,0	30,0	0,30
		5,3	117,7	53,6	0,0	45,7	0,49
	2500	4,8	185,1	152,6	10,0	83,0	0,81
		4,3	306,4	182,3	35,8	59,7	0,60
		5,3	413,9	343,0	54,6	83,7	0,84
16	1500	4,8	384,7	171,1	46,0	45,0	0,45
		4,3	340,7	166,1	40,9	49,7	0,50
		5,3	557,3	411,5	71,6	74,0	0,72
	2500	4,8	446,7	337,9	58,3	76,7	0,79
		4,3	307,3	215,8	34,9	71,7	0,70
		5,3	667,7	617,3	79,1	92,7	0,91

3. Економічна ефективність вирощування мікробульб картоплі середньораннього сорту Невська в культурі *in vitro* залежно від фотоперіоду та кислотності живильного середовища

Фотоперіод, год	Інтенсивність освітлення, лк	pH живильного середовища	Кількість мікробульб на одну рослину, шт.	Витрати на одну рослину, грн	Собівартість, грн/мікробульбу	Умовний чистий прибуток або збиток, грн/мікробульбу	Рентабельність, %
10	1500	4,8	0,56	6,00	10,71	5,29	49
		4,3	0,30	6,10	20,33	-4,33	-21
		5,3	0,46	6,20	13,48	2,52	19
	2500	4,8	0,83	6,35	7,65	8,35	109
		4,3	0,60	6,45	10,75	5,25	49
		5,3	0,84	6,55	7,80	8,20	105
16	1500	4,8	0,45	6,30	14,00	2,00	14
		4,3	0,50	6,40	12,80	3,20	25
		5,3	0,74	6,50	8,78	7,22	82
	2500	4,8	0,77	6,65	8,64	7,36	85
		4,3	0,72	6,75	9,38	6,63	71
		5,3	0,93	6,85	7,37	8,63	117

Кислотність живильного середовища на 20- та 40-й дні спостережень незначно впливала на приріст рослин у висоту та кількість міжвузлів. На 20-й день приріст рослин у висоту становив 3,9; 4,3 та 4,1 см (pH=5,3; 4,3; 4,8); кількість міжвузлів — 3,8; 4,1 та 3,9 шт., відповідно. На 40-й день приріст рослин у висоту — 2,0; 2,2 та 2,3 см, відповідно, а кількість міжвузлів — 5,3; 5,7 та 5,6 шт. (pH=5,3; 4,3; 4,8).

Інтенсивність бульбоутворення на 20- та 40-й дні культивування була вищою за pH живильного середовища 5,3–5,6% та 14,8% проти 4,3 та 9,9% і 3,2 та 12,5% за pH=4,3; 4,8.

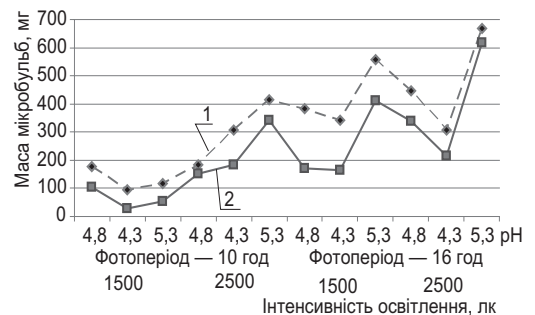
На 60-й день спостережень кращі показники бульбоутворення за фотоперіоду 10 год, інтенсивності освітлення 2500 лк і pH=4,8 — 47,3%, а за 16 год за освітлення 2500 лк і pH=5,3 — 43,7%.

На 80-й день культивування інтенсивність бульбоутворення значно зростає. Так, за фотоперіоду 10 год, 2500 лк і pH=5,3 інтенсивність бульбоутворення становила 84%, 16 год, 2500 лк і pH=5,3 — 91%. За фотоперіоду 16 год маса середньої мікробульби становила 450,7 мг, маса мікробульб на одну рослину — 320 мг, що у 2,1 та 2,2 раза більше, ніж за фотоперіоду 10 год (табл. 2).

На процес бульбоутворення значно впливала інтенсивність освітлення. За 2500 лк 77,9% рослин утворили мікробульби проти 50% за 1500 лк. Маса середньої мікробульби та маса мікробульб на одну рослину

за 2500 лк освітлення становила 387,9 та 308,2 мг, відповідно, що на 108,8 та 151,9 мг більше, ніж за освітлення 1500 лк, відповідно. Спостерігалася значна різниця інтенсивності бульбоутворення та маси середньої мікробульби і маси мікробульб на одну рослину за різних показників pH живильного середовища. Найнижчу інтенсивність бульбоутворення виявлено за pH 4,3 — 52,8%, що на 12,3 та 21,2% менше, ніж за кислотності 4,8 та 5,3, відповідно.

У досліді виявлено зменшення маси середньої мікробульби за pH живильного середовища 4,3 — 262,7 мг проти 298,5 мг та 439,2 мг за pH 4,8 та 5,3, відповідно. За



Вплив фотоперіоду та кислотності живильного середовища на формування мікробульб картоплі сорту Невська в культурі *in vitro*: 1 — маса середньої мікробульби, мг; 2 — маса мікробульб на 1 рослину, мг

нижчого рН живильного середовища маса мікробульб на одну рослину становила 148,4 мг, що на 43,5 та 208 мг менше, ніж за рН 4,8 та 5,3, відповідно.

Якщо порівнювати показники бульбоутворення за різної інтенсивності освітлення, то в межах 10-годинного фотоперіоду маса середньої мікробульби за 2500 лк у 2,4 раза більша, ніж за 1500 лк і становить 301,8 мг, а маса мікробульб на одну рослину за 2500 лк у 3,6 раза більше, ніж за освітлення 1500 лк і становить 226 мг (рисунк). У відсотковому значенні інтенсивність бульбоутворення за 2500 лк — 75,5% проти 43,8% за 1500 лк.

У межах фотоперіодів рН живильного середовища впливає на бульбоутворення. За фотоперіоду 10 год середня маса мікробульб за кислотності 5,3 становить 265,8 мг, що на 84,4 та 64,4 мг більше, ніж за рН

4,8 та 4,3, відповідно. За 16 год маса середньої мікробульби за рН 5,3 — 612,5 мг проти 415,7 мг та 324 шт. за рН 4,8 та 4,3, відповідно. Маса мікробульб на одну рослину за 10 год значно більша за рН 5,3 — 198,3 мг, що на 68,9 та 92,5 мг більше, ніж за рН 4,8 та 4,3. За фотоперіоду 16 год за рН 5,3 маса мікробульб на одну рослину — 514,4 мг, що у 2 та 2,7 раза більше, ніж за рН 4,8 та 4,3.

Собівартість однієї мікробульби за застосування 16-годинного освітлення зростає на 16%, порівняно з 10-годинним, у середньому за чинником (табл. 3). За використання під час культивування рослин *in vitro* інтенсивності освітлення 2500 лк собівартість знижувалась на 35,6%, а за рН живильного середовища 5,3 вона була на 8,7 та 29,7% нижчою, ніж за рН 4,8 та 4,3.

Висновки

Максимальні показники продуктивності та економічної ефективності рослин *in vitro* середньораннього сорту картоплі Невська отримані за рН=5,3; фотоперіод 16 год та освітлення 2500 лк: інтенсивність бульбоутворення становила 92,7%, маса

середньої мікробульби — 667,7 мг, маса мікробульб на одну рослину — 617,3 мг, кількість мікробульб масою понад 350 мг — 79,1% за рентабельності виробництва 117%, собівартості 7,37 грн/мікробульбу, умовний чистий прибуток становив 8,63 грн/мікробульбу.

Бібліографія

1. Чайлахян М.Х. Механізми клубнеобрання у рослин картофеля/М.Х. Чайлахян//Регуляція росту і розвитку картофеля. — М.: Наука, 1990. — С. 48–62.
2. Awan A.R. In vitro elimination of potato leaf roll polerovirus from potato varieties/A.R. Awan, S.M. Mughal//European J. of Scientific Research. — 2007. — V. 18. — № 1. — P. 155–164.
3. Биотехнологические методы получения и оценки оздоровленного картофеля: метод. реком.; подгот.: Л.Н. Трофимец, В.Б. Бойко, Т.В. Зейрук [и др.]. — М., 1988. — 37 с.
4. Калинин Ф.Л. Методы культуры тканей в физиологии и биотехнологии растений/Ф.П. Калинин, В.В. Сарнацкая, В.Э. Полищук. — К.: Наук. думка. — 1980. — С. 27–28.
5. Методичні рекомендації щодо проведення досліджень з картоплею; підгот.: В.С. Куценко, А.А. Осипчук, А.А. Подгасцький [та ін.]/Немішаєве: Ін-т картоплярства, 2002. — 183 с.
6. Мелик-Саркисов О.С. Использование эффекта клубнеобрання в биотехнологии картофелеводства/О.С. Мелик-Саркисов, И.И. Фадеева//Вестн. с.-х. науки. — 1989. — № 9. — С. 86–91.
7. Murashige T. A revised medium for rapid growth

and bioassays with tobacco tissue cultures/T. Murashige, F. Skoog//Physiol. Plant. — 1962. — V. 15. — P. 473–497.

8. Совершенствование вирусологического контроля в процессе формирования и поддержания банка здоровых сортов картофеля/Б.В. Анисимов, Е.В. Овэс, О.В. Топишева [и др.]/Картофелеводство: материалы науч.-практ. конф., посвящ. 120-летию со дня рождения А.Г. Лорха/РАСХН, ВНИИКС; под ред. Е.А. Симакова. — М., 2009. — С. 188–192.

9. Клональное микроразмножение растений: уч.-метод. пособие/О.А. Тимофеева, Ю.Ю. Невмержицкая. — Казань: Казанский ун-т, 2012. — 56 с.

10. Оптимизация приемов оздоровления, размножения и защиты семенного картофеля от вирусной инфекции: метод. указания. — Минск: БелНИИЗР, 1996. — 16 с.

11. Методика польових і лабораторних досліджень на зрошуваних землях/Р.А. Вожегова, Ю.О. Лавриненко, М.П. Малярчук та ін.; за ред. Р.А. Вожегової. — Херсон: Ін-т зрощ. землероб., 2014. — 286 с.

12. Бондарчук А.А. Наукові основи насінництва картоплі в Україні/А.А. Бондарчук. — Біла Церква, 2010. — 400 с.

Надійшла 26.07.2016.