

УДК 631.53.01:
633.491(477.7)

© 2019

**ВПЛИВ ЯРУСУ ЖИВЦЯ ТА СКЛАДУ
ЖИВИЛЬНОГО СЕРЕДОВИЩА
НА ПРОЦЕСИ МІКРОКЛОНАЛЬНОГО
РОЗМНОЖЕННЯ КАРТОПЛІ IN VITRO***Г.С. Балашова¹, Ю.О. Лавриненко², Р.А. Вожегова³, Б.С. Котов⁴*¹доктор сільськогосподарських наук^{2,3}доктори сільськогосподарських наук, професори,
члени-кореспонденти НААНІнститут зрошуваного землеробства НААН
смт Наддніпрянське, м. Херсон, 73483, Україна
e-mail: ¹lavrin52@ukr.net, ⁴borakruzer@gmail.com

Надійшла 12.09.2019

Мета. Визначити оптимальний режим бульбоутворення середньораннього сорту картоплі *in vitro* Левада залежно від ярусів живців пробіркових рослин і складу живильного середовища. **Методи.** Комплексне використання лабораторного, математико-статистичного, розрахунково-порівняльного методів і системного аналізу. Згідно зі схемою досліджень було закладено 6 варіантів — по 100 пробіркових рослин (25 рослин у 4-разовій повторності у кожному варіанті). **Результати.** Наведено експериментальні дані щодо впливу ярусів живців пробіркових рослин і складу живильного середовища на індукцію бульбоутворення за розмноження середньораннього сорту картоплі Левада в культурі *in vitro*. На основі дисперсійного аналізу 3-річних даних встановлено, що вирішальним чинником у процесі морфогенезу рослин картоплі середньораннього сорту Левада та формуванні їхньої продуктивності в умовах *in vitro* є склад живильного середовища. Взаємодія чинників та окремих впливів ярусів живців були незначними. **Висновки.** За результатами 3-х років досліджень кращі показники продуктивності отримано за вирощування мікробульб середньораннього сорту картоплі Левада на живильному середовищі Інституту зрошуваного землеробства НААН у рослин з 4 – 6-го ярусів живця. Так, маса середньої мікробульби становила 449,8 мг; маса мікробульб на 1 рослину — 351,8 мг. Вихід мікробульб масою понад 350 мг — 53,5%; інтенсивність бульбоутворення становила 78%.

Ключові слова: сорт, культура, дисперсійний аналіз, мікробульба, продуктивність.DOI: <https://doi.org/10.31073/agrovisnyk201910-10S>

Погодні умови степової зони (високі температури повітря і ґрунту, низька вологість, часті суховії) значно ускладнюють ведення картоплярства, притаманного іншим регіонам України, а підвищена загроза ураження рослин вірусними, грибними та бактеріальними захворюваннями лише пришвидшує виродження. У бульбах накопичується, переважно, вірусна інфекція, яка передається

наступним поколінням, унаслідок чого насіннєвий матеріал втрачає продуктивність) [1].

Південна та східна частини України належать до зони сильного виродження, а сортооновлення тут рекомендовано проводити кожні 1–2 роки. Зважаючи на все зазначене вище, перед насінництвом картоплі у цьому регіоні стоять дуже високі вимоги, а постійне задоволення попиту виробників у таких

умовах неможливе без застосування методів відтворення оздоровленого вихідного матеріалу в умовах *in vitro* та процесу їхнього постійного удосконалення [2–4].

Аналіз останніх досліджень і публікацій. До чинників, що мають прямий вплив на ефективність біотехнологічного методу, належать інтенсивність освітлення, рівень рН, температурний режим, тривалість фотоперіоду та ін. [5–10].

Основою культивування клітин, тканин і органів рослин *in vitro* є живильне середовище. До його складу входять мікро- і макросолі, вітаміни, регулятори росту та інші речовини, виходячи із потреб культивованих рослин [10–18].

Слід зазначити, що комплексний вплив ярусів живців середньораннього сорту Левада та складу живильного середовища на продуктивність бульбоутворення маловивчений, отже, це дослідження набуває актуальності у вирішенні питання оптимізації процесу отримання оздоровленого насінневого матеріалу картоплі в культурі *in vitro*.

Мета досліджень — визначити оптимальний режим бульбоутворення картоплі *in vitro* середньораннього сорту Левада залежно від ярусів живців пробіркових рослин і складу живильного середовища.

Матеріали і методи досліджень. Вихідний матеріал отримано оздоровленням середньораннього сорту картоплі Левада селекції Інституту картоплярства НААН (ІК НААН). Левада — середньоранній сорт (період вегетації 90–105 днів), колір шкірки — світло-рожевий, м'якоті — кремовий, квіток — червоно-фіолетовий.

Цей сорт введено в культуру *in vitro* в лабораторії біотехнології картоплі Інституту зрошуваного землеробства НААН (ІЗЗ НААН) з метою оздоровлення від вірусів з використанням методів апікальної меристеми, термо- та хемотерапії. Для цього бульби картоплі пророщували в термостаті за температури 35–37°C протягом 30-ти діб. Відокремлення меристем розміром 100–200 мкм проводили в мікробіологічному боксі з подальшою посадкою на агаризоване живильне середовище Murashige, Skoog (MS) з додаванням 1,0 мг/л кінетину та 2,0 мг/л гіберелінової кислоти. Меристеми картоплі росли за температури

20–23°C, вологості повітря 70%, інтенсивності освітлення 2000 лк за 16-годинного фотоперіоду [19].

Через 30 діб проростки меристем розміром 3–5 мм пересаджували на рідке живильне середовище для мікроживцювання модифікації ІЗЗ НААН з метою пришвидшення росту та укорінення (табл.1). Через 6 тижнів отримані рослини живцювали за кількістю міжвузлів і розсаджували у пробірки на зазначене вище живильне середовище [20].

Через 30 діб отримані рослини картоплі *in vitro* середньораннього сорту Левада заввишки 8–10 см з кількістю міжвузлів 5–6 шт. живцювали згідно зі схемою досліді з 1–3- та 4–6-го ярусів живців і розсаджували у пробірки на рідкі живильні середовища MS (де замість сахарози додавали цукор у кількості 70000 мг/л) (ІК НААН та ІЗЗ НААН) [19–21].

Для визначення найоптимальнішого режиму бульбоутворення картоплі в культурі *in vitro* в умовах мікроклональної лабораторії проведено дослід відповідно до загальноприйнятих методик [20–24].

Згідно зі схемою досліджень було закладено 6 варіантів — по 100 пробіркових рослин (25 рослин у 4-разовій повторності у кожному варіанті).

На 20-, 40- та 60-й дні культивування заміряли висоту рослин, визначали кількість міжвузлів і кількість сформованих мікробульб, які збирали на 80-й день культивування. Визначали масу середньої мікробульби, масу мікробульб на одну рослину, вихід мікробульб масою понад 350 мг та інтенсивність бульбоутворення.

Результати досліджень. На 40-й день найвищу інтенсивність бульбоутворення у сорту Левада виявлено на живильному середовищі ІЗЗ НААН за вирощування з 4–6-го ярусів живця — 75,7% проти 11,3 та 50% на середовищах MS та ІК НААН, відповідно. За культивування з 1–3-го ярусів живця інтенсивність бульбоутворення становила 61,3; 30,0 та 66,3% (середовища ІЗЗ НААН; MS та ІК НААН, відповідно).

На 60-й день спостережень найвищий показник бульбоутворення сорту Левада був на живильному середовищі ІЗЗ НААН при вирощуванні з 4–6-го ярусів живця — 77%,

1. Склад досліджуваних живильних середовищ, мг/л

Основні інгредієнти	Середовище Murashige, Skoog (оригінальне)	Модифіковані живильні середовища, для		
		мікроживцювання <i>in vitro</i>	утворення мікробульб	
		ІЗЗ НААН	ІК НААН	ІЗЗ НААН
Макросолі				
NH ₄ NO ₃	1650	1250	1250	1650
KNO ₃	1900	1100	1100	1900
Ca(NO ₃) ₂ ×4H ₂ O	—	440	440	440
KH ₂ PO ₄	170	970	970	170
Na ₂ ЕДТА*	37,3	37,3	37,3	37,3
FeSO ₄ ×7H ₂ O	27,8	27,8	27,8	27,8
MgSO ₄ ×7H ₂ O	370	770	770	370
CaCl ₂ ×2H ₂ O	440	—	—	—
Мікросолі				
Na ₂ MoO ₄ ×2H ₂ O	0,25	0,25	0,25	0,25
H ₃ BO ₃	6,2	6,2	6,2	6,2
MnSO ₄ ×4H ₂ O	22,3	22,3	22,3	22,3
ZnSO ₄ ×4H ₂ O	8,6	8,6	8,6	8,6
KI	0,83	0,83	0,83	0,83
CuSO ₄ ×5H ₂ O	0,025	0,025	0,025	0,025
CoCl ₂ ×6H ₂ O	0,025	0,025	0,025	0,025
Вітаміни				
Нікотинова кислота	0,5	—	—	—
Піридоксин _(B6)	0,5	1,0	1,0	1,0
Тіамін _(B1)	0,1	1,6	1,6	1,6
Аскорбінова кислота	—	3,0	3,0	3,0
Мезоінозит	100	—	—	—
Регулятори росту				
Кінетин	0,01	—	0,5	0,5
Аденін	—	0,5	—	—
Гіберелінова кислота	1,0	—	—	—
ІОК**	2,0	1,0	1,0	1,0
Інші речовини				
Агар-агар	10000	—	—	—
Сахароза	30000	10000	—	—
Цукор	—	—	70000	70000
Гідролізат казеїну	1000	—	—	—
*Трилон Б; **β-індоліл-3-оцтова кислота.				

*Трилон Б; **β-індоліл-3-оцтова кислота.

що на 58 та на 26,7% більше, ніж на середовищах MS та ІК НААН, відповідно. За культивування з 1–3-го ярусів живця інтенсивність бульбоутворення становила 73; 44 та 68,7% (середовища ІЗЗ НААН; MS та ІК НААН, відповідно).

На 80-й день кращий показник продуктивності сорту Левада було отримано на живильному середовищі ІЗЗ НААН — 79,9% проти 35,2 та 60,5% на середовищах MS та ІК НААН, відповідно. За вирощування картоплі *in vitro* сорту Левада на рослинах,

2. Продуктивність середньораннього сорту картоплі Левада залежно від живильного середовища та ярусів живця рослин в умовах *in vitro*

Живильне середовище (чинник А)	Ярус живця (чинник В)	Маса, мг		Вихід мікробульб масою понад 350 мг, %	Кількість рослин, що утворили мікробульби, %
		середньої мікробульби	мікробульб на 1 рослину		
MS	1–3	318,2	148,2	38,2	47,0
	4–6	178,2	47,2	4,0	23,7
Інститут картоплярства	1–3	144,7	101,9	0,9	70,7
	4–6	90,0	45,8	0,0	50,3
I33 НААН	1–3	412,6	336,2	44,9	81,7
	4–6	449,8	351,8	53,5	78,0
HIP ₀₅	A	25,8	19,8	7,5	7,4
	B	37,7	37,8	7,7	4,0
Частка впливу чинників	A	82,9	87,5	68,2	76,2
	B	3,5	3,3	5,6	14,4
	AB	6,5	3,4	14,6	4,4
	Залишкове	7,1	5,8	11,6	5,1

що культивувалися з 1–3-го ярусів живця, бульбоутворення становило 66,5% проти 50,5% за культивування з 4–6-го ярусів живця (табл. 2).

Продуктивність середньораннього сорту Левада була значно більшою на живильному середовищі I33 НААН. Так, маса середньої мікробульби та маса бульб на 1 рослину становила 431,2 та 344,0 мг, що в 1,7 і 3,5 рази більше, ніж за вирощування на середовищі MS, та в 3,7 і 4,7 рази більше, ніж на середовищі ІК НААН.

Маса середньої мікробульби та маса мікробульб на 1 рослину відрізняються при використанні живців різних ярусів. Так, на рослинах, культивованих з 1–3-го ярусів живця, маса середньої бульби становила 291,8 мг, що на 52,5 мг більше, ніж з 4–6-го ярусів;

маса мікробульб на 1 рослину — 195,4 мг (яруси 1–3) проти 148,3 мг (яруси 4–6).

Вихід мікробульб масою понад 350 мг більший за вирощування на живильному середовищі I33 НААН і становив 49,2% проти 21,1 та 0,45% на середовищах MS та ІК, відповідно. За вирощування рослин *in vitro* з 1–3-го ярусів живця вихід мікробульб масою понад 350 мг становив 28% проти 19,2% за культивування рослин з 4–6-го ярусів.

На основі дисперсійного аналізу 3-річних даних встановлено, що вирішальним чинником у процесі морфогенезу рослин картоплі середньораннього сорту Левада та формуванні їхньої продуктивності в умовах *in vitro* є склад живильного середовища. Взаємодія чинників та окремих впливів ярусів живців були незначними.

Висновки

За результатами 3-х років досліджень кращі показники продуктивності середньораннього сорту Левада картоплі *in vitro* отримано за вирощування мікробульб на живильному середовищі I33 НААН у рослин

з 1–3-го ярусів живця. Так, маса середньої мікробульби становила 449,8 мг; маса мікробульб на 1 рослину — 351,8 мг. Вихід мікробульб масою понад 350 мг — 53,5%, а інтенсивність бульбоутворення — 78%.

Балашова Г.С.¹, Лавриненко Ю.А.², Вожегова Р.А.³, Котов Б.С.⁴

Інститут орошаного землеробства НААН, пгт Наддніпрянське, г. Херсон, 73483, Україна;

e-mail: ¹lavrin52@ukr.net, ⁴borakruzer@gmail.com

Влияние ярусов живца и состава питательной среды на процессы микроклонального размножения картофеля *in vitro*

Цель. Определить оптимальный режим клубнеобразования среднераннего сорта картофеля *in vitro* в зависимости от ярусов живцов пробирочных растений и состава питательной среды. **Методы.** Комплексное использование лабораторного, математико-статистического, расчетно-сравнительного методов и системного анализа. Согласно схеме исследований было заложено 6 вариантов — по 100 пробирочных растений (25 растений в 4-разовой повторяемости в каждом варианте). **Результаты.** Приведены экспериментальные данные о влиянии частей пробирочных растений и состава питательной среды на индукцию клубнеобразования среднераннего сорта картофеля Левада в культуре *in vitro*. На основании дисперсионного анализа 3-летних данных установлено, что решающим фактором в процессе морфогенеза растений картофеля среднераннего сорта Левада и формировании их продуктивности в условиях *in vitro* является состав питательной среды. Взаимодействие факторов и отдельное влияние ярусов живцов были незначительными. **Выводы.** По результатам 3-х лет исследований лучшие показатели продуктивности среднераннего сорта картофеля Левада получены при выращивании на питательной среде ИОЗ НААН у растений с 4–6 ярусов живца. Так, масса среднего микроклубня составила 449,8 мг; масса микроклубней на 1 растение — 351,8 мг; выход микроклубней массой более 350 мг — 53,5%; интенсивность клубнеобразования составляла 78%.

Ключевые слова: сорт, культура, дисперсионный анализ, микроклубень, продуктивность.

DOI: <https://doi.org/10.31073/agrovisnyk201910-10S>

Balashova H.¹, Lavrynenko Yu.², Vozhegova R.³, Kotov B.⁴

Institute of Irrigated Agriculture of NAAS, sett. Naddniprianske, Kherson, 73483, Ukraine; e-mail: ¹lavrin52@ukr.net, ⁴borakruzer@gmail.com

Influence of various parts of plants and the composition of nutrient media on the processes of microclonal reproduction of potatoes in vitro condition

The purpose. To determine optimal regime of tuber formation of medium early potato cultivar Levada depending of the parts of plants in vitro and the composition of the nutrient medium. **Methods.** Complex using of laboratory, mathematical-statistical, computational-comparative methods and system analysis. **Results.** The article presents data of the influence of different plants parts and the composition of the nutrient medium on the induction of tuber formation of medium early potato cultivar Levada in in vitro culture. **Conclusions.** According to the results of three years of research, the best productivity showing were obtained by cultivating the microtubers of the medium early potato cultivar Levada on the nutrient medium of the IIA NAAS from 4–6 tiers of steems in in vitro culture. In this case, the mass of the average microtuber was 449.8 mg; microtubers weight per plant — 351.8 mg.; the output of microtubers weighing more than 350 mg is 53,5%; the intensity of tuber formation was 78%.

Key words: potato, cultivar, in vitro culture, tiers of steems, microtuber, productivity.

DOI: <https://doi.org/10.31073/agrovisnyk201910-10S>

Бібліографія

1. Бондарчук А.А. Наукове забезпечення виробництва картоплі в Україні. *Картоплярство*. 2004. № 33. С. 3–9. <https://doi.org/10.31210/visnyk2019.02.02>

2. Бугасєва І. П., Черниченко О. О., Черниченко І. І. Результати випробування сортів картоплі вітчизняної селекції в умовах зрошення на півдні України. *Зрошуване землеробство*. 2007. № 47. С. 142–146. <https://doi.org/10.21498/2518-1017.14.1.2018.126508>

3. Бондарчук А. А. Виродження картоплі та прийоми боротьби з ним. Біла Церква, 2007. 103 с.

4. Теслюк П. С., Молоцький М. Я. Картопля на вашому городі. Біла Церква: БДАУ, 2000. 154 с.

5. Mahmoud O., Nazarian F., Struik P.C. Effects of temperature fluctuation during *in vitro* phase on *in vitro* microtuber production in different cultivars of potato (*Solanum tuberosum* L.) *Plant cell, tissue and organ culture (PCTOC)*. 2009. V. 98(2). P. 213–218. <https://doi.org/10.1007/s11240-009-9554-6>

6. Hoque M.E. *In vitro* tuberization in potato (*Solanum tuberosum* L.) *Plant omics journal*. 2010. V. 3(1). P. 7–11.

7. Shambhu P.D., Lim H.T. Microtuberization of potato (*Solanum tuberosum* L.) as Influenced by supplementary nutrients, plant growth regulators, and *in vitro* culture conditions. *Potato Research*. 2012. V. 55(2). P. 97–108. <https://doi.org/10.1007/s11540-012-9212-y>

8. Rocha P., Scivittaro W., Oliveira D.P. New light sources for *in vitro* potato micropropagation. *Biosci*. 2015. V.31(5). P. 1312–1318. <https://doi.org/10.14393/BJ-v31n5a2015-26601>

9. Mng'omba S., Brian Ch., Hellen M., Kareem L. *In vitro* potato (*Solanum tuberosum* L.) growth under different orientation and light/dark exposure conditions. *African journal of biotechnology*. 2017. V.16(4). P. 1784–1790. <https://doi.org/10.5897/AJB2016.15804>

10. Elif Vural G., Gözen V., Özsan T., Onus A.N. *In vitro* micro tuber formation in potato (*Solanum tuberosum* L.): is there any relation between methyl

jasmonate, sugars, and explants? *International Journal of Biotech Trends and Technology (IJBT)*. 2018. V. 8(1). P. 1–8. <https://doi.org/10.14445/22490183/IJBT-V8I1P601>

11. Mohamed M., Alsadon A. Influence of ventilation and sucrose on growth and leaf anatomy of micropropagated potato plantlets. *Sci. Hortic.* 2010. V. 123. P. 295–300. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2009.09.014>

12. Ovono P.O., Kevers C., Dommes J. Tuber formation and growth of *Dioscorea cayenensis*-D. rotundata complex: interactions between exogenous and endogenous jasmonic acid and polyamines. *Plant Growth Regul.* 2009. V. 60(3). P. 247–253. <https://doi.org/10.1007/s10725-009-9441-5>

13. Shahriyar S., Akram S., Khan K. et al. *In vitro* plant regeneration of potato (*Solanum tuberosum* L.) at the rate of different hormonal concentration. *Asian J. Med. Biol. Res.* 2015. V. 1(2). P. 297–303. <https://doi.org/10.3329/ajmbr.v1i2.25625>

14. Gülsün E.V., Ozsan T., Gozen V., Onus A.N. *In vitro* micro tuber formation in potato (*Solanum tuberosum* L.): is there any relation between methyl jasmonate, sugars, and explants. *International Journal of Biotech Trends and Technology*. 2018. V. 8(1). P. 1–8. <https://doi.org/10.14445/22490183/IJBT-V8I1P601>

15. Балашова Г. С. Влияние температуры, фотопериода и концентрации микросолей в питательной среде на продуктивность картофеля в культуре *in vitro*. *Молодой ученый*. 2015. № 14. С. 675–678.

16. Эрстова М. А., Федорова Ю. Н. Подбор питательной среды при клональном размножении *in vitro*. *Картофель и овощи*. 2008. № 4. С. 28.

17. Dragičević I., Konjević R., Vinterhalter B. et al. The effects of IAA and tetcyclacis on tuberization in potato (*Solanum tuberosum* L.) shoot cultures *in vitro*. *Plant growth regulation*. 2008. V. 54(3). P. 189–193. <https://doi.org/10.1007/s10725-007-9243-6>

18. Badr A., Angers P., Desjardins Y. Comprehensive analysis of *in vitro* to *ex vitro* transition of tissue cultured potato plantlets grown with or without sucrose using metabolic profiling technique. *Plant cell, tissue and organ culture (PCTOC)*. 2015. V. 122(2). P. 491–508. <https://doi.org/10.1007/s11240-015-0786-3>

19. Murashige T. A., Skoog F. Revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 1962. V. 15. P. 473–497. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>

20. Вожегова Р.А., Лавриненко Ю.О., Балашова Г.С. та ін. Оздоровлення картоплі в культурі *in vitro*: науково-методичні рекомендації. Херсон, 2013. 20 с.

21. Куценко В.С., Осипчук А.А., Подгаєцький А.А. та ін. Методичні рекомендації щодо проведення досліджень з картоплею. Немішаєве, 2002. 183 с.

22. Трофимец Л. Н. Биотехнология в картофелеводстве. Москва, 1989. 45 с.

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

24. Вожегова Р.А., Лавриненко Ю.О., Маларчук М.П. та ін. Методика польових і лабораторних досліджень на зрошуваних землях. Херсон, 2014. 286 с.