

ЛАВРИНЕНКО Ю.О.^{1,2}✉, БАЛАШОВА Г.С.¹, БАЗАЛІЙ В.В.²

¹ Інститут зрошуваного землеробства НААН,
Україна, 73483, м. Херсон, сел. Наддніпрянське, e-mail: izz.ua@ukr.net

² Херсонський державний аграрний університет,
Україна, 73006, м. Херсон, вул. Стрітенська, 23
✉ izz.ua@ukr.net

ФОРМУВАННЯ МІКРОБУЛЬБ КАРТОПЛІ В КУЛЬТУРІ *IN VITRO* ЗАЛЕЖНО ВІД ТЕМПЕРАТУРИ ТА ІНТЕНСИВНОСТІ ОСВІТЛЕНOSTІ

Останнє десятиліття відзначено інтенсивним розвитком різноманітних біотехнологій, з-поміж яких важливе місце посідає розробка ефективних заходів боротьби з вірусними хворобами в насінництві картоплі [1–3]. Зокрема, створено методи оздоровлення картоплі за допомогою культури меристеми, широко застосовуються продуктивні способи культивування і клонального мікророзмноження рослин, високочутливі імунологічні [4–6] і ПЛР-методи діагностики вірусів. Активно ведуться пошуки шляхів створення вірусостійких сортів за допомогою генної інженерії [7], клітинних і тканинних технологій [8, 9].

Особливістю сучасного насінництва картоплі є використання для відтворення еліти вихідного матеріалу, оздоровленого методами активного лікування заражених сортів картоплі, серед яких термотерапія та культура меристемної тканини у поєднанні з мікроклональним розмноженням, що повинно забезпечити одержання вільного від хвороб вихідного матеріалу картоплі в обсягах, достатніх для потреб первинних ланок насінництва.

Змінюючи фактори зовнішнього середовища при культивуванні рослин *in vitro* за контрольованих умов на штучних живильних середовищах, можна регулювати процес органогенезу, зокрема, індукувати бульбоутворення. На цей процес впливають сортові особливості рослин: у більшості сортів (95 %) мікробульби утворюються за 55–60 днів, в інших – за триваліший період. Прискорити цей процес можна за рахунок оптимальної взаємодії основних факторів, які його стимулюють: вмісту в живильному середовищі вуглеводів та біологічно активних речовин, величин фотоперіоду і температури та ін. [10–12].

Оздоровлений біотехнологічними методами насіннєвий матеріал на перших етапах його

використання відзначається кращою якістю, оскільки під час його продукування синтез вірусного білка в рослинах затримується і, як наслідок, уповільнюється темп накопичення вірусної інфекції. Разом із тим, враховуючи значну вартість насіннєвого матеріалу, одержаного *in vitro*, особливої актуальності набуває удосконалення мікророзмноження оздоровленого матеріалу. Інтенсивність освітленості та температуру вважають одними з найважливіших факторів при вирощуванні мікробульб *in vitro*.

Мета роботи полягала у визначенні оптимальних технологічних прийомів, що впливають на підвищення інтенсивності бульбоутворення картоплі в культурі меристем *in vitro*.

Матеріали і методи

Для виявлення найоптимальнішого режиму бульбоутворення в культурі *in vitro* сорту картоплі Кобза за умов мікроклональної лабораторії проведено дослід із застосуванням загальноприйнятих методик [11–13]. Вивчали два фактори: температурний режим (14–16, 20–22, 24–26°C) та інтенсивність освітленості (500, 1500, 2000, 3000 лк).

Результати та обговорення

Аналіз отриманих даних щодо температурного режиму засвідчив прямо пропорційну залежність висоти рослин *in vitro* від температури. Так, уже на 20-й день спостережень цей показник за температури 24–26°C був вищим у середньому на 2,7 см, ніж за температури 14–16°C, та на 0,5 см – порівняно з температурою 20–22°C (табл. 1). На 40-й день спостережень ця залежність зберігалася і різниця становила 3,8 і 1,5 см відповідно. При цьому рослини *in vitro*, які вирощували при інтенсивності освітленості 1500 лк, були вищими на 9,4 %, ніж при освітленості 500 лк, та відповідно на 26,0 і 22,8 %

порівняно з освітленістю при 2000 і 3000 лк.

Із зростанням температури культивування гальмувався процес формування рослинами столонів. На 20-й день спостережень кількість рослин, що сформували столони за температури 24–26°C, в середньому виявилася на 30,2 і 21,4 відсотка менша, ніж за температури

14–16 і 20–22°C відповідно. Мікробульби на 20-й день спостережень сформувалися у 7,3, 8,7 і 2,0 % рослин за температур культивування 14–16, 20–22 і 24–26°C відповідно. На 40-й день спостережень найбільшу кількість столонів у середньому отримано за температури 24–26°C (63,6 %), а мікробульб – 14–16°C (69,5 %).

Таблиця 1. Вплив температури та інтенсивності освітлення на ріст і розвиток рослин ранньостиглого сорту картоплі Кобза в культурі *in vitro*

Температура, °C (А)	Інтенсивність освітлення, лк	На день культивування									
		20-й				40-й				60-й	80-й
		висота рослин, см	кількість міжвузлів, шт.	% рослин, що утворили		висота рослин, см	кількість міжвузлів, шт.	% рослин, що утворили			
				столони	мікробульби			столони	мікробульби	мікробульби	мікробульби
14–16	500	1,4	1,3	82,5	11,1	2,0	1,8	11,1	87,9	96,9	100,0
	1500	1,5	1,4	87,0	4,9	2,2	1,9	21,5	78,5	91,5	100,0
	2000	1,8	1,7	81,5	7,7	3,7	3,2	36,4	57,3	90,0	100,0
	3000	1,5	1,3	82,9	5,3	3,4	2,5	45,1	54,2	87,8	99,6
20–22	500	3,6	3,1	72,3	9,4	4,3	3,9	32,6	54,7	70,8	84,8
	1500	3,8	3,3	79,5	5,9	4,6	4,1	44,4	48,0	69,8	91,7
	2000	3,9	3,4	73,4	11,8	5,7	4,8	40,7	50,8	77,8	96,9
	3000	3,7	3,3	73,4	7,6	5,9	5,4	58,4	32,4	63,2	89,8
24–26	500	4,4	3,4	49,6	2,6	6,4	5,3	60,1	12,4	26,9	53,2
	1500	4,4	4,2	48,4	2,0	7,1	5,9	62,3	10,5	34,6	62,3
	2000	4,2	4,0	59,2	1,2	6,6	5,7	66,9	11,7	38,6	62,7
	3000	4,1	3,8	56,0	2,1	6,3	5,5	64,9	12,1	43,7	69,4

Кореляційна залежність між загальною кількістю утворених рослинами *in vitro* мікробульб, виходом мікробульб масою понад 350 мг і взаємодією досліджуваних факторів істотна ($R = 0,878$ і $0,895$). Виявлено суттєвий обернений парний взаємозв'язок між температурою культивування та продуктивністю рослини *in vitro*: кількістю і масою сформованих мікробульб та масою середньої мікробульби. Парні коефіцієнти кореляції становлять відповідно $r = -0,895 \pm 0,141$; $-0,895 \pm 0,141$; $-0,801 \pm 0,189$.

Між температурними умовами та виходом мікробульб масою понад 350 мг помічено середню обернену кореляційну залежність ($r = -0,673 \pm 0,234$). На 60-й день спостереження найбільше мікробульб утворили рослини при температурі 14–16°C – 91,6 % від загальної їх кількості, при 20–22°C – 70,4 %, при 24–26 °C – усього 36,0 %, а на 80-й день відповідно до вказаних температурних режимів, цей показник становив 99,9, 90,8 і 61,9 %.

На 20-й день культивування інтенсивність освітленості практично не впливала на індукцію бульбоутворення: лише 4,3–7,7 % рослин *in vitro* сформували мікробульби. На кількість рослин, що утворили столони, цей фактор у зазначений період також не впливав. На 40-й день спостереження найбільше рослин (51,7 %), які сформували мікробульби, було в середньому при інтенсивності освітленості 500 лк. На 60-й день спостереження кількість таких рослин при режимах освітленості 500, 1500, 2000 і 3000 лк в середньому становила 64,9, 65,3, 68,8 і 64,9 %, відповідно.

На 80-й день культивування рослин відсоток утворених ними мікробульб вирівнявся в середньому практично між усіма варіантами досліджу, за винятком варіантів з інтенсивністю освітленості 500 лк. Зазначений показник при освітленості 1500–3000 лк становив 84,7–86,5 %, а при 500 лк – 79,3 %, тобто інтенсивність освітленості практично не впливала на

формування мікробульб рослинами *in vitro* ранньостиглого сорту картоплі Кобза.

Щодо взаємодії факторів впливу температури і освітленості встановлено, що найбільшу кількість рослин із мікробульбами сформовано на 80-й день культивування за температури 14–16°C та інтенсивності освітленості 500–3000 лк – 99,6–100 %. Індекс множинної кореляції дорівнював $R = 0,878$. Взаємодія температури культивування та інтенсивності освітленості чинила дуже помітний вплив на продуктивність рослин *in vitro* (табл. 2).

Маса середньої мікробульби і маса мікробульб на рослину були максимальними за температури 14–16°C і освітленості 2000 і 3000 лк та становили відповідно 263,8, 369,1 і 262,0, 363,7 мг. Також у цих варіантах помічено найбільший вихід мікробульб масою 350 мг і вище – 24,3 і 20,9 %. Кореляційна залежність між масою середньої мікробульби, масою мікробульб на рослину та досліджуваними факторами була дуже тісною: $R = 0,951$ і $0,971$ відповідно.

Таблиця 2. Продуктивність рослин картоплі ранньостиглого сорту Кобза в культурі *in vitro* залежно від температури та інтенсивності освітлення

Температура, °C (A)	Інтенсивність освітлення, лк (B)	Маса мікробульби, мг	Маса мікробульб, мг/рослину	Вихід мікробульб масою понад 350 мг, %	Кількість мікробульб, шт./рослину
14–16	500	163,8	224,6	6,8	1,2
	1500	210,9	266,4	15,8	1,2
	2000	263,8	369,1	24,3	1,1
	3000	262,0	363,7	20,9	1,2
20–22	500	95,0	82,3	0,4	0,9
	1500	138,8	143,0	6,0	1,1
	2000	140,7	154,1	6,2	1,1
	3000	174,0	186,1	11,4	0,9
24–26	500	60,5	42,8	0,0	0,6
	1500	128,9	81,4	6,8	0,6
	2000	132,1	82,4	7,2	0,6
	3000	132,2	119,1	9,4	0,8
Індекс множинної кореляції (R)		0,951	0,971	0,895	0,878
НІР ₀₅ для фактора температури		14,6	8,6		
НІР ₀₅ для фактора освітленості		12,1	13,9		

Із підвищенням температури культивування включається компенсаційна дія інтенсивності освітленості на показники продуктивності рослин *in vitro*: загальну масу мікробульб на рослину ($r = 0,377 \pm 0,293$), середню масу мікробульби ($r = 0,512 \pm 0,272$) та вихід мікробульб масою понад 350 мг ($r = 0,590 \pm 0,255$). За температури 20–22°C продуктивність рослин була нижчою, ніж за температури 14–16°C. Недобір продуктивності компенсується при найвищому рівні освітленості – 3000 лк: маса середньої мікробульби підвищується на 83,2 %, а маса мікробульб на одну рослину – в 1,3 раза порівняно з освітленістю 500 лк. За температури 24–26°C

найвищу продуктивність отримано при освітленості 3000 лк.

Регресійний аналіз отриманих даних дозволив одержати лінійні математичні моделі залежності продуктивності рослин картоплі ранньостиглого сорту Кобза в культурі *in vitro* від взаємодії температури культивування та інтенсивності освітленості.

Рівняння регресії залежності маси середньої мікробульби *in vitro* (Y) від температури (X_1) та інтенсивності освітленості (X_2) має вигляд:

$$Y = 321,4 - 11,45X_1 + 0,0334X_2$$

Рівняння регресії залежності маси мікробульб на рослину (Y) від температури (X_1) та інтенсивності освітленості (X_2) має вигляд:

$$Y = 541,16 - 22,85X_1 + 0,0439X_2$$

Рівняння регресії залежності виходу мікробульб масою понад 350 мг (Y) від температури (X_1) та інтенсивності освітленості (X_2) має вигляд:

$$Y = 24,0 - 1,17X_1 + 0,00466X_2$$

Встановлено, що вирішальним фактором у процесі морфогенезу рослин *in vitro* ранньостиглого сорту картоплі Кобза та формуванні їх продуктивності є температурні умови культивування; інтенсивність освітленості впливає значно менше. Максимальні показники продуктивності рослин *in vitro* отримано за використання

температурного режиму 14–16°C та освітленості 2000–3000 лк.

За температури культивування 14–16°C собівартість одиниці продукції становить 5,21 грн, а її підвищення до 20–22 і 24–26°C спричиняє зростання собівартості мікробульби в 1,2 та 1,9 рази і зниження рентабельності – на 54 і 147 % відповідно (табл. 3).

Інтенсивність освітленості не чинить суттєвого впливу на економічні показники. Найнижчу собівартість мікробульби та максимальну рентабельність виробництва одержано за температури культивування 14–16°C та інтенсивності освітленості 500 лк: 4,93 грн та 224 %, відповідно.

Таблиця 3. Економічна ефективність вирощування мікробульб картоплі ранньостиглого сорту Кобза в культурі *in vitro* залежно від температури та інтенсивності освітлення

Температура, °C (А)	Інтенсивність освітлення, лк (В)	Кількість мікробульб на одну рослину, шт.	Витрати на одну рослину, грн	Собівартість, грн/мікробульбу	Умовний чистий прибуток, грн/мікробульбу	Рентабельність, %
14–16	500	1,2	5,92	4,93	11,07	224
	1500	1,2	6,01	5,01	10,99	219
	2000	1,1	6,15	5,59	10,41	186
	3000	1,2	6,37	5,31	10,69	201
20–22	500	0,9	5,97	6,63	9,37	141
	1500	1,1	6,28	5,71	10,29	180
	2000	1,1	6,41	5,83	10,17	174
	3000	0,9	6,55	7,28	8,72	121
24–26	500	0,6	6,11	10,18	5,82	57
	1500	0,6	6,43	10,72	5,28	49
	2000	0,6	6,62	11,03	4,97	45
	3000	0,8	6,70	8,38	7,62	91

Висновки

За умов південного посушливого клімату важливим є добір мікробульб із якомога більшою масою, що в подальшому дозволить отримати максимальну кількість оздоровлених мінібульб картоплі та сприятиме підвищенню врожайів до базового та базового насіння. При визначенні оптимальних елементів технології вирощування мікробульб ранньостиглого сорту картоплі Кобза у культурі *in vitro* встановлено, що кращі показники продуктивності та економічної

ефективності забезпечує вирощування пробіркових рослин за температури культивування 14–16°C та інтенсивності освітленості 3000 лк. При цьому кількість мікробульб на одну рослину становить 1,2 шт., маса середньої мікробульби – 262,0 мг, маса мікробульб на одну рослину – 363,7 мг, кількість мікробульб масою понад 350,0 мг – 20,9 %; собівартість мікробульби – 5,31 грн за рентабельності 201 %.

Література

1. Замалиева Ф.Ф., Сафиуллина Г.Ф., Назмиева р.Р. Внедрение системы семеноводства картофеля на оздоровленной основе в Республике Татарстан // Картофелеводство в регионах России : актуальные проблемы науки и практики / ВНИИКС. – М., 2006. – С. 167–181.
2. Гареев р.Г., Замалиева Ф.Ф., Зайнулина А.С. Семеноводство – на оздоровленную меристемную основу // Картофель и овощи. – 2001. – № 1. – С. 9–10.
3. Almasi A., Harsanyi A., Gaborjanyi R. Photosintetic aleration of virus infected plants // Acta Phytopathol Acad. – 2001. – V. 36, N ½. – P. 15–29.
4. Кравченко Д.В., Усков А.И., Варицев Ю.А. [и др.] Возможности использования иммунохроматографических тест-систем для диагностики вирусов картофеля // Сб. науч. тр. «Картофелеводство»: материалы координац. совещ. и науч.-практ. конф., посвящ. 120-летию со дня рождения А.Г. Лорха. – М.: РАСХН, ВНИИКС, 2009. – С. 208–213.
5. Анисимов Б.В., Овзс Е.В., Топишева О.В. [и др.] Совершенствование вирусологического контроля в процессе формирования и поддержания банка здоровых сортов картофеля // Сб. науч. тр. «Картофелеводство»: материалы координац. совещ. и науч.-практ. конф., посвящ. 120-летию со дня рождения А.Г. Лорха. – М.: РАСХН, ВНИИКС, 2009. – С. 188–192.
6. Сологуб А.С., Мельник П.А. Способ биохимической идентификации сортов картофеля // Сб. науч. тр. «Картофелеводство»: материалы координац. совещ. и науч.-практ. конф., посвящ. 120-летию со дня рождения А.Г. Лорха. – М. РАСХН, ВНИИКС, 2009. – С. 178–182.
7. Жук В.Н., Олийных Т.Н., Емец А.И. [и др.] Агробактериальная трансформация сортов картофеля украинской селекции CRU-генами, обеспечивающими устойчивость к насекомым-вредителям // Картофелеводство : сб. науч. тр. – Минск, 2008. – Т. 14. – С. 67–73.
8. Awan A.R. Mughal S.M. *In vitro* elimination of potato leaf roll polerovirus from potato varieties // European Journal of Scientific Research. – 2007. – V. 18, N 1. – P. 155–164.
9. Ramirez-Malagon R., Perez-Moreno L., Borodanenko A. Differential organ infection studies, potyvirus elimination and field performance of virus-free garlic plants produce by tissue culture // Plant Cell Tiss Organ Cult. – 2006. – V. 86. – P. 103–110.
10. Бугаева І.П., Сніговий В.С., Культура картоплі на півдні України. – Херсон, 2002. – 176 с.
11. Бондарчук А.А. Наукові основи насінництва картоплі в Україні. – Біла Церква, 2010. – 400 с.
12. Куценко В.С., Осипчук А.А., Подгасцький А.А. [та ін.] Методичні рекомендації щодо проведення досліджень з картоплею / Ін-т картоплярства. – Немішаєве, 2002. – 183 с.
13. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid grown and bio-assays with tobacco tissue cultures // Physiol. Plant. – 1962. – V. 15. – P. 473–497.

LAVRYNENKO Yu.O.^{1,2}, BALASHOVA H.S.¹, BAZALIY V.V.²

¹ Institute of irrigated agriculture NAAS,
Ukraine, 73483, Kherson, Naddneprianske, e-mail: lavrin52@mail.ru

² Kherson state agrarian university,
Ukraine, 73006, Kherson, Strytenska, 23

FORMATION OF POTATO MICROTUBERS *IN VITRO* DEPENDING ON TEMPERATURE AND LIGHT INTENSITY

Aim. To specify optimal techniques influencing the increase of intensity of potato tuber formation in meristem culture *in vitro*. **Methods.** Integrated use of laboratory, mathematical and statistical, calculation and comparison methods and the method of systematic analysis. **Results.** The paper represents experimental data about the influence of temperature and light intensity on the induction of tuber formation under microclonal reproduction of the health-improved initial material. It proves that the decisive factor in the process of morphogenesis of plants *in vitro* of the early maturing potato variety Kobza and their productivity is temperature conditions for cultivation. **Conclusions.** Optimal indexes of productivity and economic efficiency are maintained by growing test-tube plants under the temperature of cultivation of 14–16°C and the light intensity of 3000 lux. The number of microtubers per plant was 1.2 pieces, the weight of an average microtuber was 262.0 mg, the weight of microtubers per plant was 363.7 mg, the number of microtubers weighing more than 350.0 mg was 20.9 %; the cost price of microtubers was 5.31 UAH with the profitability of 201 %.

Keywords: potato, microtubers, temperature mode, light intensity, *in vitro*.