

СЕЛЕКЦІЯ, НАСІННИЦТВО

УДК 631.53.01:633.491:631.811.98

DOI <https://doi.org/10.32848/agrar.innov.2020.1.12>

ІНДУКЦІЯ БУЛЬБОУТВОРЕННЯ КАРТОПЛІ В КУЛЬТУРІ *IN VITRO* ЗАЛЕЖНО ВІД ТРИВАЛОСТІ ФОТОПЕРІОДУ ТА РІВНЯ АЗОТНОГО ЖИВЛЕННЯ

Балашова Г.С. – доктор сільськогосподарських наук, старший науковий співробітник
<https://orcid.org/0000-0001-7023-621X>

Інститут зрошуваного землеробства Національної академії аграрних наук України

Котова О.І. – науковий співробітник

<https://orcid.org/0000-0001-8970-5071>

Інститут зрошуваного землеробства Національної академії аграрних наук України

Котов Б.С. – молодший науковий співробітник

<https://orcid.org/0000-0003-2369-7288>

Інститут зрошуваного землеробства Національної академії аграрних наук України

Юзюк С.М. – кандидат сільськогосподарських наук, старший науковий співробітник

<https://orcid.org/0000-0001-8761-642X>

Інститут зрошуваного землеробства Національної академії аграрних наук України

Юзюк О.О. – науковий співробітник

<https://orcid.org/0000-0001-7785-1055>

Інститут зрошуваного землеробства Національної академії аграрних наук України

Нетіс В.І. – кандидат сільськогосподарських наук, старший науковий співробітник
<https://orcid.org/0000-0002-4403-083X>

Інститут зрошуваного землеробства Національної академії аграрних наук України

Постановка проблеми. Насінництво картоплі (*Solanum tuberosum* L.) на півдні України базується на оздоровленій основі. Через вегетативне розмноження культури в бульбах накопичуються бактеріальні, грибні та вірусні інфекції, внаслідок негативної дії яких насінний матеріал втрачає продуктивність і вироджується через інфікування наступних поколінь. Сортооновлення в південно-східній частині України рекомендовано проводити через кожні 1–2 роки, адже сприятливі для патогенів погодні умови степової зони лише пришвидшують процес виродження [1–4].

Отже, ведення насінництва на півдні України неможливе без застосування біотехнологічного методу оздоровлення насінного матеріалу та постійного вдосконалення цього процесу.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Оптимізація процесу отримання оздоровленого насінного матеріалу в контрольованих умовах *in vitro* проводиться завдяки правильно підбраному комплексу головних факторів впливу, таких як інтенсивність освітлення, рівень рН, температурний і світловий режими [4–7]. Мікро- та макросолі, рiстрегулятори, вітаміни та інші речовини, що входять до складу живильних середовищ, мають обов'язково відповідати фізіологічним потребам рослин *in vitro* [8–11].

Численні дослідження показують, що кожен окремий сорт картоплі в умовах *in vitro* має власну унікальну реакцію на зміну умов вирощування [7; 12; 13].

Мета статті. Визначити оптимальний режим культивування картоплі *in vitro* середньораннього сорту Невська залежно від тривалості фотоперіоду та рівня азотного живлення задля збільшення виходу оздоровленого насінного матеріалу.

Матеріали та методика досліджень. Для визначення найбільш оптимального режиму бульбоутворення в культурі *in vitro* середньораннього сорту картоплі Невська було проведено лабораторний дослід відповідно до загальноприйнятих методик [14–18]. На вивчення було поставлено такі фактори: А – тривалість фотоперіоду (10 та 16 годин); В – вміст азоту в живильному середовищі (повна та половина норми, без азоту). Живці рослин середньораннього сорту картоплі Невська вирощували на рідкому живильному середовищі Murashige, Skoog (MS) [19] за 10 та 16 годин освітлення на добу за температури 18–20 °С. На 20-й день живці переносили з живильного середовища з вмістом азоту 868 мг/л на розчин з ½ норми азоту (434 мг/л) та без азоту. Фотоперіод і температура зберігалися попередні.

Результати досліджень. Спостереження за ростом рослин та інтенсивністю бульбоутворення засвідчили, що кількість рослин із мікробульбами на двадцятий день спостережень на фоні десятигодинного фотоперіоду становила 2,9 %, а за шістнадцятигодинного – 0,4 %. Але вже на 40-й день цей показник становив відповідно 34,8 та 12,5 %, а на 60-й – 73,3 та 54,0 %. Загальна кількість мікробульб за весь період вегетації за десятигодинного фотоперіоду становила 97,1 %, шістнадцятигодинного – 97,3 %.

Встановлено, що додавання до живильного середовища повної норми азоту сприяло збільшенню формування кількості міжвузлів рослинами *in vitro* в перші 20 днів росту та розвитку на 5,8 %, а в 40-й і 60-й дні – на 18,3 та 12,1%, відповідно. Висота рослин при цьому була на 11,3–17,4 % більшою протягом усього строку культивування, ніж за відсутності азоту у складі живильного

Таблиця 1 – Вплив умов культивування на ріст, розвиток рослин *in vitro* середньораннього сорту картоплі Невська

Фотоперіод, год (фактор А)	Вміст азоту (фактор В)	Показники на день живцювання									Інтенсивність бульбоутворення, %
		20-й			40-й			60-й			
		висота рослин, см	кількість міжвузлів, шт.	кількість рослин із мікробульбами, %	висота рослин, см	кількість міжвузлів, шт.	кількість рослин із мікробульбами, %	висота рослин, см	кількість міжвузлів, шт.	кількість рослин із мікробульбами, %	
10	повна норма	4,1	3,4	4,4	5,5	5,0	39,4	6,2	5,6	73,0	94,3
	½ норми	3,5	3,0	3,4	4,3	4,0	37,1	5,1	4,9	71,5	98,7
	без азоту	3,1	2,8	0,8	4,0	3,5	27,8	4,4	4,5	75,4	98,3
16	повна норма	3,9	3,6	1,1	6,0	5,4	16,1	6,2	6,0	52,1	92,7
	½ норми	4,2	3,8	0,0	5,9	5,4	10,9	6,1	5,6	56,1	100,0
	без азоту	4,0	3,6	0,0	5,5	5,0	10,6	6,1	5,7	53,7	99,2

середовища. На 40-й день культивування під час додавання до живильного середовища повної норми азоту кількість рослин із мікробульбами становила 27,8 %, що на 30,8 % вище, ніж за культивування на живильному середовищі без азоту. Проте інтенсивність бульбоутворення під час додавання ½ норми азоту була найбільшою і становила 99,4 %.

У результаті кореляційно-регресійного аналізу зазначено щільний позитивний зв'язок між середньою масою мікробульби, масою і кількістю мікробульб на одну рослину та досліджуваними факторами, при цьому

коефіцієнти множинної кореляції (R) становили 0,977; 0,961 та 0,826, відповідно.

Встановлено, що тривалість фотоперіоду чинить високий прямий вплив на середню масу мікробульби та масу мікробульб на одну рослину (парні коефіцієнти кореляції при цьому становлять $r = -0,880 \pm 0,237$ та $0,807 \pm 0,295$, відповідно).

Аналіз даних свідчить, що за шістнадцятигодинного освітлення порівняно з десятигодинним у середньому збільшувалася маса мікробульби на 21,1 %, а маса бульб з однієї рослини – на 26,0 % (табл. 2).

Таблиця 2 – Вплив тривалості фотоперіоду та рівня азотного живлення на продуктивність рослин картоплі середньораннього сорту Невська в культурі *in vitro*

Фотоперіод, год (фактор А)	Вміст азоту (фактор В)	Середня маса мікробульби, мг	Маса мікробульб, мг/рослину
10	повна норма	172,7	163,9
	½ норми	204,8	211,8
	без азоту	201,3	213,7
16	повна норма	226,7	227,0
	½ норми	247,6	283,2
	без азоту	259,0	286,4
Індекс множинної кореляції (R)		0,977	0,961
HIP ₀₅ , мг		A	11,3
		B	7,7
			6,0

Варто зазначити, що між кількістю азоту в живильному середовищі та показниками продуктивності встановлено середній обернений парний зв'язок, тобто під час додавання до складу середовища повної норми азоту середня маса мікробульби, маса та кількість мікробульб на одну рослину знижувалась на 14,2; 23,3 та 18,2 % відповідно, при цьому коефіцієнти парної кореляції становили $-0,425 \pm 0,453$; $-0,521 \pm 0,427$ та $-0,640 \pm 0,384$.

Кількість утворених мікробульб на одну рослину у розрізі досліду коливалась у межах від 0,9 до 1,2 шт. із найбільшим значенням, зафіксованим під час куль-

тивування на живильному середовищі з додаванням ½ норми азоту за 16-ти годинного фотоперіоду (рис. 1).

Висновки. Максимальну продуктивність під час визначення оптимальних елементів технології вирощування мікробульб середньораннього сорту картоплі Невська в культурі *in vitro* отримано під час тривалості освітлення в 16 годин за культивування на середовищі з половинною нормою азоту. Кількість мікробульб на одну рослину при цьому становила 1,2 шт., маса середньої мікробульби – 247,6 мг, маса мікробульб на одну рослину – 283,2 мг.



Рис. 1. Формування мікротубер картоплі рослинами *in vitro* залежно від фотоперіоду та рівня азотного живлення, шт

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ:

1. Бондарчук А.А. Наукове забезпечення виробництва картоплі в Україні. *Картоплярство*. 2004. № 33. С. 3–9.
2. Балашова Г.С. Насінництво картоплі за дво-врожайної культури в умовах Степу України. *Картоплярство*. 2012. № 41. С. 64–69.
3. Бугаєва І.П., Сніговий В.С. Культура картоплі на півдні України : монографія. Херсон : Видавництво ХДПУ, 2002. 176 с.
4. Кушнір Г.П. Мікроклональне розмноження рослин : монографія. Київ : Наукова думка, 2005. 271 с.
5. Aksenova M. P., Konstantinova T.N., Lozhnikova V.N., Golyanovskaya S.A., Sergeeva L.I. Interaction between day length and phytohormones in the control of potato (*Solanum tuberosum* L.) tuberization in the *in vitro* culture. *Russian Journal of Plant Physiology*. 2009. Vol. 56 (4). P. 454–461.
6. 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.
7. 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. Vol. 98 (2). P. 213–2018.
8. 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. Vol. 55 (2). P. 97–108.
9. Khalil M.M., El Aal. Abd A.M.H., Samy M.M. Growth Improvement of Potato Plants Produced from Tissue Culture. *Middle East Journal of Agriculture Research*. 2016. Vol. 5 (4). P. 666–671.
10. Рябцева Т.В., Куликова В.И., Ходаева В.П. Оценка питательных сред при размножении сортов картофеля *in vitro*. *Международный научно-исследовательский журнал*. 2017. № 12 (66). С. 134–137.
11. Gülsün E.V., Ozsan T., Gozen V., and 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. Vol. 8 (1). P. 1–8.

12. Elkazzaz A. Micropropagation of four potato cultivars *in vitro*. *Academia Journal of Agricultural Research*. 2015. Vol. 3 (9). P. 184–188.

13. Salem J., Hassanein A.M. *In vitro* propagation, microtuberization, and molecular characterization of three potato cultivars. *Biologia Plantarum*. 2017. Vol. 61(3). P. 427–435.

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

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

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

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

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

19. Murashige T., Skoog F.A. Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures. *Physiologia Plantarum*. 1962. Vol. 1 (3). P. 473–497.

REFERENCES:

1. Bondarchuk, A.A. (2004). Naukove zabezpechennia vyrobnytstva kartopli v Ukraini [Scientific support for potato production in Ukraine]. *Kartopliarstvo – Potato growing*, 33, 3-9 [in Ukrainian].
2. Balashova, H.S. (2012). Nasinnnytstvo kartopli za dvovrozжайnoi kultury v umovakh Stepu Ukrainy [Seed production of potatoes in a double-crop culture under the conditions of the Ukrainian Steppe]. *Kartopliarstvo – Potatoes*, 41, 64-69 [in Ukrainian].
3. Buhaiieva, I.P., & Snihovyi, V.S. (2002). *Kultura kartopli na pivdni Ukrainy* [Culture of potato in the south of Ukraine]. Kherson: Kherson State Pedagogical University [in Ukrainian].

4. Kushnir, G.P., & Sarnatska, V.V. (2005). *Mikroklonalne rozmnozhenia roslyn [Microclonal propagation of plants]*. Kyiv: Naukova dumka [in Ukrainian].
5. Aksenova, M.P., Konstantinova, T.N., Lozhnikova, V.N., Golyanovskaya, S.A., & Sergeeva, L.I. (2009). Interaction between day length and phytohormones in the control of potato (*Solanum tuberosum* L.) tuberization in the *in vitro* culture. *Russian Journal of Plant Physiology*, 56(4), 454-461 [in English].
6. Balashova, H.S. (2015). Vliyanie temperatury, fotoperioda i kontsentratsii mikrosoley v pitatelnoy srede na produktivnost kartofelya v kulture *in vitro* [The effect of temperature, photoperiod and the concentration of micronized salts in the nutrient medium on the productivity of potatoes in *in vitro* culture]. *Kazan: Molodoy ucheniy – Young scientist*, 14, 675-678 [in Russian].
7. Mahmoud, O., Nazarian, F., & Struik, P.C. (2009). 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)*, 98(2), 213-2018 [in English].
8. Shambhu, P.D., & Lim, H.T. (2012). Microtuberization of potato (*Solanum tuberosum* L.) as Influenced by supplementary nutrients, plant growth regulators, and *in vitro* culture conditions. *Potato Research*, 55(2), 97-108 [in English].
9. Khalil, M.M., El Aal. Abd, A.M.H., & Samy, M.M. (2016). Growth Improvement of Potato Plants (*Solanum tuberosum* L.) Produced from Tissue Culture. *Middle East Journal of Agriculture Research*, 5(4), 666-671 [in English].
10. Riabtseva, T.V., Kulykova, V.Y., & Khodaeva, V.P. (2017). Otsenka pytatelnukh sred pry razmnozheniy sortov kartofelia *in vitro* [Assessment of nutrient media during the propagation of potato varieties *in vitro* conditions]. *Mezhdunarodnui nauchno-yssledovatel'skiy zhurnal – International Research Journal*, 66, 134-137 [in Russian].
11. Gülsün, E.V., Ozsan, T., Gozen, V., & Onus, A.N. (2018). *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*, 8(1), 1-8 [in English].
12. Elkazzaz, A. (2015). Micropropagation of four potato cultivars *in vitro*. *Academia Journal of Agricultural Research*, 3(9), 184-188 [in English].
13. Salem, J., Hassanein, A.M. (2017). *In vitro* propagation, microtuberization, and molecular characterization of three potato cultivars. *Biologia Plantarum*, 61(3), 427-435 [in English].
14. Vozhehova, R.A., Lavrynenko, Yu.O., Balashova, H.S., Chernychenko, I.I., Chernychenko, O.O., & Kotova, O.I. (2013). *Ozdoroviennia kartopli v kulturi in vitro: naukovometodychni rekomendatsii [Improvement of potatoes in *in vitro* culture: scientific and methodological recommendations]*. Kherson: Institute of irrigated agriculture of NAAS [in Ukrainian].
15. Kutsenko, V.S., Osypchuk, A.A., Podhaietskyi, A.A., Kononuchenko, V.V., Bugaeva, E.P., & Vermenko, Yu.Ya. et al. (2002). *Metodychni rekomendatsii shchodo provedennia doslidzhen z kartopleiu [Methodical recommendations for research with potatoes]*. Nemeshaevo [in Ukrainian].
16. Trofymets, L.N. (1989). *Byotekhnolohiya v kartofelevodstve [Biotechnology in potato production]*. Moskva [in Russian].
17. Optymyzatsiya pryemov ozdorovleniya, rozmnozheniya y zashchytu semennoho kartofelia ot vyirusnoi ynfektsyy. (1996). [Optimization of methods for improving, multiplying and protecting seed potatoes from viral infection]. Mynsk [in Russian].
18. Vozhehova, R.A., Lavrynenko, Yu.O., Maliarchuk, M.P., Gusev, M.G., Netis, I.T., & Kokovihin, C.V. et al. (2014). *Metodyka polovoykh i laboratornykh doslidzhen na zroshuvanykh zemliakh [Methods of field and laboratory research on irrigated lands]*. Kherson: Institute of irrigated agriculture of NAAS [in Ukrainian].
19. Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures. *Physiologia Plantarum*, 15(3), 473-497 [in English].

Балашова Г.С., Котова О.І., Котов Б.С., Юзюк С.М., Юзюк О.О., Нетіс В.І. Індукція бульбоутворення картоплі в культурі *in vitro* залежно від тривалості фотоперіоду та рівня азотного живлення

Мета. Визначити оптимальний режим культивування картоплі *in vitro* середньораннього сорту Невська залежно від тривалості фотоперіоду та рівня азотного живлення задля збільшення виходу оздоровленого насінневого матеріалу. **Методи:** комплексне використання лабораторного, математично-статистичного, розрахунково-порівняльного методів та системного аналізу. **Результати.** Наведено експериментальні дані щодо впливу тривалості фотоперіоду та рівня азотного живлення на ріст, розвиток і продуктивність картоплі *in vitro* середньораннього сорту Невська. Спостереження за ростом рослин та інтенсивністю бульбоутворення засвідчили, що кількість рослин із мікробульбами на двадцятий день спостережень на фоні десятигодинного фотоперіоду становила 2,9 %, а за шістнадцятигодинного – 0,4 %. Але вже на 40-й день цей показник становив відповідно 34,8 та 12,5 %, а на 60-й – 73,3 та 54,0 %. Встановлено, що додавання до живильного середовища повної норми азоту сприяло збільшенню формування кількості міжвузлів рослинами *in vitro* в перші 20 днів росту та розвитку на 5,8 %, а в 40-й і 60-й дні – на 18,3 та 12,1 %, відповідно. Висота рослин при цьому була на 11,3-17,4 % більшою протягом усього строку культивування, ніж за відсутності азоту у складі живильного середовища. Проте інтенсивність бульбоутворення під час додавання ½ норми азоту була найбільшою і становила 99,4 %. Аналіз даних свідчить, що за шістнадцятигодинного освітлення порівняно з десятигодинним у середньому збільшувалася маса мікробульби на 21,1 %, а маса бульб з однієї рослини – на 26,0 %. Кількість утворених мікробульб на одну рослину у розрізі досліду коливалась у межах від 0,9 до 1,2 шт. із найбільшим значенням, зафіксованим під час культивування на живильному середовищі з додаванням ½ норми азоту при 16-ти годинному фотоперіоді. **Висновки.** Максимальну продуктивність під час визначення оптимальних елементів технології вирощування мікробульб

середньораннього сорту картоплі Невська в культурі *in vitro* отримано за тривалості освітлення в 16 годин за культивування на середовищі із половинною нормою азоту. Кількість мікробульб на одну рослину при цьому становила 1,2 шт., маса середньої мікробульби – 247,6 мг, маса мікробульб на одну рослину – 283,2 мг.

Ключові слова: насіннєвий матеріал, мікробульба, продуктивність, режим культивування, живильне середовище.

Balashova G.S., Kotova E.I., Kotov B.S., Yuzyuk S.M., Yuzyuk O.O., Netis V.I. The intensity of potato tuberization *in vitro* depending on the duration of the photoperiod and level of nitrogen nutrition

Purpose. To determine the most optimal regime of the middle-ripening potato variety Nevska tuberization *in vitro* depending on the duration of the photoperiod and level of nitrogen nutrition to increase the yield of healthy seed material. **Methods:** comprehensive use of laboratory, mathematical-statistical, computational-comparative methods and system analysis. **Results.** The experimental data are presented the effect of the duration of the photoperiod and level of nitrogen nutrition on the growth, development and productivity of potatoes *in vitro* of the mid early-season variety Nevska. Observation of plant growth and tuberization rate showed that the number of plants with micro-tubers on the twentieth day of observations against the background of a ten-hour photoperiod was 2.9 %, and for a sixteen-hour period – 0.4 %. But already on

the 40th day, this figure was 34.8 and 12.5 %, respectively, and on the 60th – 73.3 and 54.0 %. It was established that the addition of a full norm of nitrogen to the nutrient medium contributed to an increase in the formation of the number of internodes by plants *in vitro* in the first 20 days of growth and development by 5.8 %, and in the 40th and 60th days – by 18.3 and 12.1 %, respectively. The plant height was 11.3–17.4 % greater during the entire cultivation period than in the absence of nitrogen in the nutrient medium. However, the intensity of tuberization with the addition of ½ norm of nitrogen was the highest and amounted to 99.4 %. An analysis of the data shows that under sixteen-hour illumination, on average, the weight of micro-tubers increased by 21.1 % compared to ten hours, and the weight of tubers from one plant increased by 26.0 %. The number of formed micro-tubers per plant in the context of the experiment ranged from 0.9 to 1.2 pcs. with the highest value recorded during cultivation on a nutrient medium with the addition of ½ norm of nitrogen at a 16-hour photoperiod. **Conclusions.** The maximum productivity of the investments at the determination of the optimum elements of growing technology of microtubers of the middle-ripening potato variety Nevska *in vitro* culture was obtained at the illumination of 16 hours, on the medium with a half of the norm of nitrogen. The number of microtubers per plant – 1.2 pc., the mass of an average microtuber – 247.6 mg, the mass of the microtubers per plant – 283.2 mg.

Key words: seed material, micro-tubers, productivity, cultivation mode, nutrient medium.