

ОСОБЛИВОСТІ ІНДУКОВАНОГО МОРФОГЕНЕЗУ КАРТОПЛІ *SOLANUM TUBEROSUM L.*

О. Л. КЛЯЧЕНКО, доктор сільськогосподарських наук, професор кафедри екобіотехнології та біорізноманіття

Ю. О. ПРОДАЩУК, магістр*

О. О. ОЛІЙНИК, провідний фахівець

Національний університет біоресурсів та природокористування України

E-mail: prodaschuk266@ukr.net

Анотація. Сучасне картоплярство передбачає отримання вихідної насінневої картоплі на основі застосування біотехнологічних методів оздоровлення, мікроклонального розмноження і наступних методів прискореного розмноження оздоровлених рослин. Біотехнологічний метод дозволяє підвищити морфогенетичний потенціал рослинного організму в інтересах господарської діяльності людини, а також вирішити практичні проблеми, такі як отримання сортових ліній, одержання оздоровленого від вірусної інфекції посадкового матеріалу. У статті наведено результати досліджень з трьома сортами картоплі: ранньостиглим Коломбо та середньостиглим Реванш і Діва. Найбільшу інтенсивність росту пагонів спостерігали у ранньостиглого сорту Коломбо, менш інтенсивно росли пагони середньостиглого сорту Діва і Реванш. Встановлено, що найбільш ефективно вводити рослини картоплі в культуру *in vitro* насінням. Продуктивність бульб формується стало та істотно залежить від фону живлення. Досліджено способи отримання асептичного матеріалу насіння та проростків рослин картоплі та її мікроклональне розмноження. Виявлено, що активне пагоноутворення і ризогенез спостерігається при культивуванні рослин на середовищі Мурасіге-Скуга, доповненому кінетином у концентрації 0,5 мг/л. Виконано підбір оптимальних варіантів стерилізації рослинного матеріалу та модифікацій живильних середовищ для розмноження і отримання рослин-регенерантів.

Ключові слова: морфогенез, мікробульби, живильне середовище, *Solanum tuberosum L.*, генотип, *in vitro*.

Актуальність. Картопля (*Solanum tuberosum L.*) – цінна продовольча культура, незамінний продукт харчування людини. Генетичний потенціал продуктивності картоплі далеко не вичерпаний, його підвищення може бути досягнуте завдяки вивченню морфологічних і фізіологічних ознак, що зумовлюють підвищення врожайності [6]. Успішне вирощування рослин *in vitro* забезпечується, перш за все, правильним підбором живильного середовища, що відповідає фізіологічним особливостям культивованих рослин [4]. Біотехнологічний метод дозволяє підвищити морфогенетичний потенціал рослинного організму в інтересах господарської діяльності

* Науковий керівник - О. Л. Кляченко

людини, а також вирішити практичні проблеми, такі як отримання сортових ліній, одержання оздоровленого від вірусної інфекції посадкового матеріалу та інше.

Вплив різних факторів на морфогенез *in vitro* у багатьох сортів картоплі вивчено цілим рядом авторів [3, 6, 9]. Наукові роботи здебільшого присвячені вирішенню і вивченню окремих методичних питань. Однак, практично для кожного сорту необхідно підбирати індивідуальні умови для морфогенезу *in vitro*. Тому, вивчення і оптимізація умов індукції морфогенезу картоплі з культивованих клітин є актуальною і важливою складовою частиною роботи.

Метою дослідження є вивчення морфогенетичних процесів за культивуванні *in vitro* сорту *Solanum tuberosum L.*, отримання оздоровленого матеріалу.

Матеріали і методика досліджень. Як об'єкт використовували насіння картоплі середньостиглого сорту Реванш і Діва вітчизняної селекції та проростки раннього сорту Коломбо – зарубіжної селекції. Для оптимізації умов одержання асептичної культури картоплі вивчали різні стерилізуючі речовини та тривалість експозиції.

Експлантати виокремлювали від проростків і культивували на модифікованому живильному середовищі Мурасіге-Скуга(МС) [8], доповненому кінетином (0,5мг/л). Культивували експлантати в культуральній кімнаті за температури 25-26°C і відносній вологості повітря 60-70 % [1]. Для отримання маточних рослин використовували проміжні живці пагонів пророщених бульб довжиною 1–2см з однією парою листків. Статистичну обробку даних проводили відповідно до загальноприйнятих методів із використанням Microsoft Office Excel.

Результати досліджень та їх обговорення. Для введення в культуру *in vitro* насіння картоплі сорту Діва та Реванш було підібрано схему стерилізації, яка полягала в послідовній обробці матеріалу 70 % C_2H_5OH (1 хв), з подальшим перенесенням у 0,1 % $HgCl_2$ (10 хв) та 3-разовим промиванням стерильною дистильованою H_2O (10 хв). При цьому ефективність стерилізації становила 100 %. Рослини мали мінімальний рівень контамінації мікроорганізмами. За введення в культуру *in vitro* проростків сорту Коломбо, їх відмивали у мильному розчині із додаванням 1-2 крапель Твін-20. Стерилізували за тією ж схемою, що й насіння. Ефективність стерилізації сягала 30 %. Причиною цього є недостатність проникнення стерилізуючої речовини у тканини і високий рівень контамінації мікроорганізмами. Проростки та насіння переносили на безгормональне живильне середовище (рис. 1).

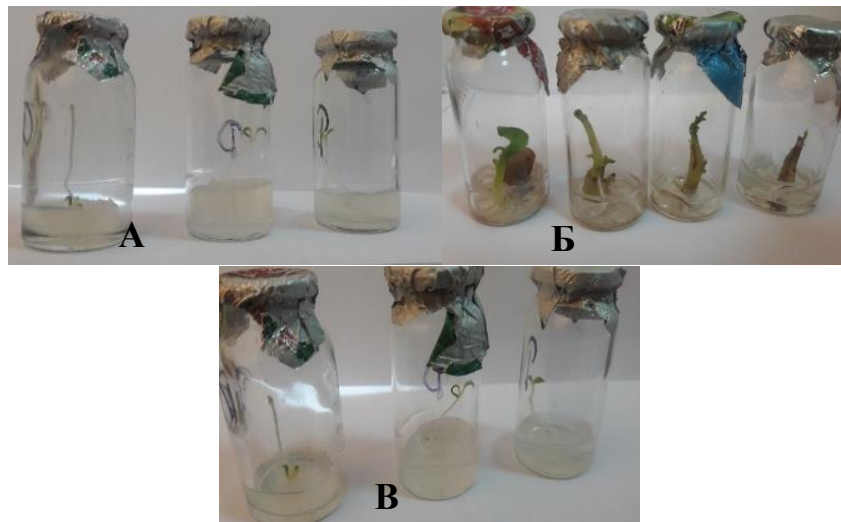


Рис. 1. Особливості введення *Solanum tuberosum* L. в культуру *in vitro*, формування вегетативних пагонів: а) сорт 'Діва'; б) сорт 'Коломбо'; в) сорт 'Реванш'

Експлантати субкультивували на модифікованому живильному середовищі МС, доповненому кінетином (0,5 мг/л) та аскорбіною кислотою (0,6 мг) (рис. 2).

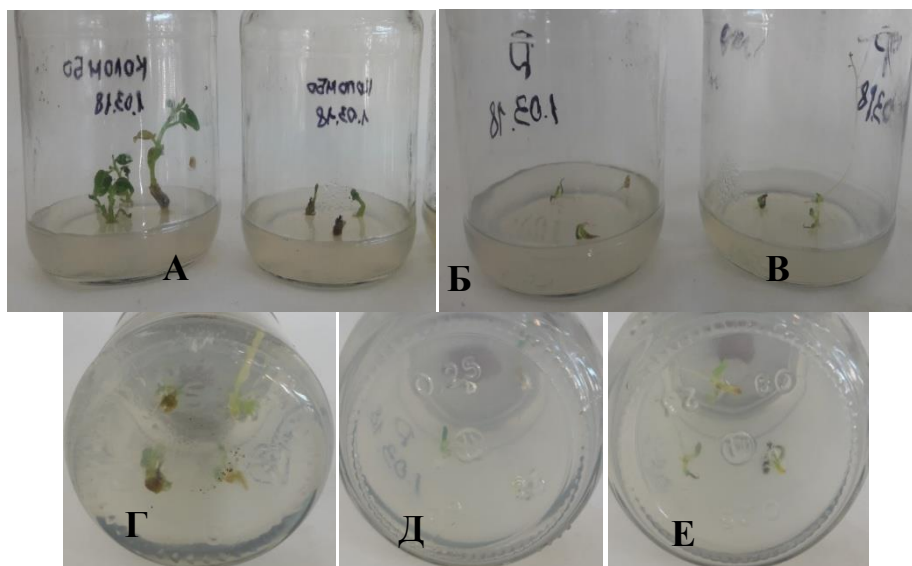


Рис. 2. Вивчення морфогенетичного потенціалу різних генотипів *Solanum tuberosum* L.: формування вегетативних пагонів: а) сорт Коломбо; б) сорт Діва; в) сорт Реванш; ризогенез пагонів: г) сорт Коломбо; д) сорт Діва; е) сорт Реванш

Вивчення морфогенетичного потенціалу різних генотипів картоплі показало, що на рослинах середньостиглих сортів Реванш та Діва спостерігалось слабе пагоноутворення, невелику довжину рослин (2-3см) і повільний ріст коренів. За деякими іншими характеристиками відрізняється середньостиглий сорт Коломбо. Спостерігали формування бокових пагонів та їх інтенсивний ріст, високий коефіцієнт розмноження, інтенсивний ріст пагонів (до 15 см у висоту) з рівномірно розміщеними листками, великою кількістю міжвузлів і добре розвиненою кореневою системою. Облистяність рослин

служить показником їх потенційної енергії зростання тому, що листя – місце детермінації фізіологічних процесів, що відбуваються в рослинах [7]. На рослинах було сформовано від 5 до 15 шт листових пластинок.

Основним процесом репродуктивного розвитку рослин картоплі є бульбоутворення (рис. 3).

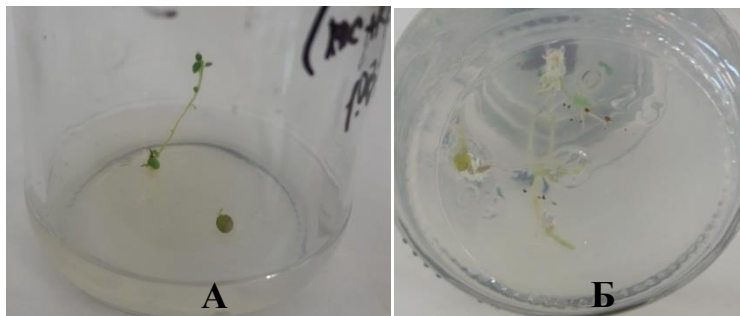


Рис. 3. Особливості процесів бульбоутворення *Solanum tuberosum* L. в культурі *in vitro* сорту Реванш: а) формування вегетативних пагонів; б) ризогенез пагонів

У процесі утворення мікробульб однією з основних умов є вуглеводневий і гормональний фактори, які впливають на фотоперіодичні реакції бульбоутворення і ростові реакції, а також на комплекс біохімічних процесів [2]. Мікробульби сорту Реванш висаджували на живильне середовище МС з кінетином (0,5 мг/л) та витримували в культуральній кімнаті 8-10 діб за температури 14-15 °С. У результаті досліджень було встановлено певну залежність між інтенсивністю росту пагонів і бульбоутворенням. Активне бульбоутворення починалося тоді, коли ріст пагонів сповільнювався або зовсім зупинявся.

Найбільш оптимальним для культивування виявилось живильне середовище МС з додаванням 0,5 мг/л – кінетину, 20 г – сахарози та 1 мг – аскорбінової кислоти, що істотно стимулювало бульбоутворення. Мікробульби мали овальну або видовжену форму, темно-зелене забарвлення та розмір – 5мм.

Таким чином, в результаті проведених досліджень нами вивчено особливості морфогенезу рослин *in vitro*. Підбір оптимальних умов, розширення генетичного спектру вихідного матеріалу надають змогу для прискореного і якісного розмноження рослин.

Висновки і перспективи:

В результаті дослідження було оптимізовано умови отримання асептичного матеріалу насіння та проростків рослин картоплі, їх мікроклональне розмноження. Виявлено, що активне пагоноутворення і ризогенез спостерігається за культивування рослин на середовищі за прописом Мурасіге і Скуга, доповненому кінетином у концентрації 0,5 мг/л.

Найбільш доцільно рослини картоплі вводити в культуру *in vitro* насінням. Високу інтенсивність росту пагонів спостерігали у ранньостиглого сорту Коломбо, менш інтенсивно росли пагони середньостиглого сорту Діва і Реванш. Сприятливий вплив на утворення мікробульб мало живильне середовище МС з додаванням кінетину – 0,5 мг/л, сахарози – 20 г, аскорбінової кислоти – 1 мг.

References

1. Borodai, V. V., Kliachenko O.L.(2014). Osoblyvosti indukovanoho morfohenezu ta reneratsii henotypiv Solanum tuberosum L.ukrainskoi seleksii. Naukovi pratsi Instytutu bioenerhetychnykh kultur i tsukrovykh buriakiv. 21, 205-211.
2. Vlasenko M., Veliaminova- Zernova L. D., Matskevych V. V.(2006). Fiziolohiia roslyn z osnovamy biotekhnolohii. Bila Tserkva : Bilotserkiv. derzh. ahrar. un-t, 504.
3. Matskevych V.V., Liashchenko S.A. (2008). Osoblyvosti reneratsii roslyn kartopli z zhyvtsiv zalezho vid osviltennia ta substratu. Kartopliarstvo: mizhvidom. temat. nauk. zb.–K.:Ahrarna nauka. 37, 98-110.
4. Oliinyk T.M. Slobodian K.A., Shevchenko O.O. ta in(2012). Ozdorovlennia sortiv kartopli metodom kultury apikalnykh merystem: metodychni rekomendatsii. In-t kartopliarstva NAAN (Nemishaieve): TOV "KVITs",28 s.
5. Artyuhova S.I., Kirgizova I.V.(2014). Modifikatsii pitatelnoy sredy s ispolzovaniem biotekhnologicheskikh metodov mikroklonalnogo rozmnozheniya kartofelya dlya kultivirovaniya v Omskoy oblasti. Omskiy nauchnyy vestnik. №2, 187–191.
6. Konovalova G.I.(2006). Ispolzovanie biotekhnologicheskikh metodov i priemov v sovremennom semenovodstve kartofelya. Aktualnyie problemy nauki i tehnik: Voprosy kartofelevodstva: nauch. tr. 332-336.
7. Uskov A.I.(2009). Vosproizvodstvo ozdorovlennogo ishodnogo materiala dlya semenovodstva kartofelya: rozmnozhenie ishodnyih rasteniy. Dostizheniya nauki i tehniky APK. №12, 17–20.
8. Murashige, T. A., Skoog, F. K. (1962). Revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco cultures. *Physiol Plant.* 15, 473-497.
9. Sarkar D.(2008). The signal transduction pathways controlling in planta tuberization in potato: an emerging synthesis .*Plant Cell Reports.* №27, 1-8.

ОСОБЕННОСТИ ИНДУЦИРОВАННОГО МОРФОГЕНЕЗА КАРТОФЕЛЯ *SOLANUM TUBEROZUM L.*

О. Л. Кляченко, Ю. А. Продащук, О. А. Олейник

Аннотация. Современное картофелеводство предусматривает получение исходного семенного картофеля на основе применения биотехнологических методов оздоровления, микроклонального размножения и последующих методов ускоренного размножения оздоровленных растений. Биотехнологический метод позволяет резко повысить морфогенетический потенциал растительного организма в интересах хозяйственной деятельности человека, а также решить практические проблемы, такие как получение сортовых линий, оздоровленного от вирусной инфекции посадочного материала. В статье приведены результаты исследований с тремя сортами картофеля: раннеспелым Коломбо и среднеспелые Реваниш и Дева. Наибольшую интенсивность роста побегов наблюдали у раннеспелого сорта Коломбо, менее интенсивно росли побеги среднеспелого сорта Дева и

Реванш. Установлено, что наиболее эффективно вводить растения картофеля в культуру *in vitro* семенами. Производительность клубней формируется постоянно и существенно зависит от фона питания. Исследованы способы получения асептического материала семян и проростков растений картофеля и ее микроклональное размножения. Определено, что активное побегообразование и ризогенез наблюдается при культивировании растений на среде Мурасиге-Скуга, дополненной кинетином в концентрации 0,5 мг / л. Выполнен подбор оптимальных вариантов стерилизации растительного материала и модификаций питательных сред для размножения и получения растений-регенерантов.

Ключевые слова: морфогенез, микроклубни, питательная среда, *Solanum tuberosum* L., генотип, *in vitro*

THE FEATURES OF INDUCED MORPHOGENESIS OF POTATO SOLANUM TUBEROZUM L.

O. Klyachenko, Y. Prodashchuk, O. Oliinyk

Abstract. A sterilization scheme was selected for *in vitro* seeding of the 'Virgo' and 'Revenge' potatoes, which consisted of sequential processing of 70 % C₂H₅OH (1 min) material, followed by transfer in 0.1 % HgCl₂ (10 min) and 3 times washing sterile distilled H₂O (10 min). The efficiency of sterilization was 100%. Plants had a minimum level of contamination by microorganisms. When introduced into the culture of *in vitro* seedlings of the 'Colombo' variety, they were washed in a soap solution with the addition of 1-2 drops of Twin-20. Sterilized according to the same pattern as the seeds. The effectiveness of sterilization was 30%. The reason for this is the lack of penetrating sterilizing material in the tissue and the high level of contamination by microorganisms. Seeds and seeds were transferred to a non-hormonal nutrient medium. The implants were subcultured on a modified nutrient medium MS supplemented with kinetin (0.5 mg / l) and ascorbic acid (0.6 mg). The study of the morphogenetic potential of different genotypes of potatoes showed that plants of the middle-aged varieties 'Revench' and 'Virgo' showed weak sprout formation, a small length of plants (2-3 cm) and slow growth of roots. For somewhat different characteristics, the average varieties of Colombo are different. There was observed the formation of lateral shoots and their intense growth, high reproduction rate, intensive growth of shoots (up to 15 cm in height) with evenly spaced leaves, a large number of internodes and a well-developed root system. The thickness of plants is an indicator of their potential energy growth, because the leaves - the place of determination of physiological processes occurring in plants. On plants there were formed from 5 to 15 pieces of leaf blades. The main process of reproductive development of potato plants is bulbous formation. In the process of microbubbling, one of the main conditions is the hydrocarbon and hormonal factors that affect the photoperiodic reactions of bulb formation and growth reactions, as well as the complex of biochemical processes. Microbubbles of the 'Revenge' variety were planted on the MS medium with kinetine (0.5 mg / l) and cultured in a culture room for 8-10 days at a temperature of 14-15 ° C. As a result of the research, a certain correlation was established between the growth intensity of the shoots and bulbous formation. Active bulb formation began when growth of shoots slowed down or

stopped at all. The most beneficial for cultivation was the nutrient medium of the MS with the addition of 0.5 mg / l - kinetine, 20 g sucrose and 1 mg ascorbic acid, which significantly stimulated bullous formation. Microbubbles had an oval or elongated shape, a dark green color and a size of 5 mm.

Thus, as a result of the research was the study of the peculiarities of plant morphogenesis in vitro, which are important for the ontogenesis of plants, the selection of optimal conditions, the expansion of the genetic spectrum of the source material will enable for accelerated and qualitative reproduction.

Keywords: morphogenesis, microtubers, culture media, Solanum tuberosumL., genotype, in vitro