

БІОЛОГІЧНІ НАУКИ

УДК 635.21657.085.23

DOI: 10.15587/2313-8416.2015.49342

ОПТИМІЗАЦІЯ ПРОЦЕСУ МІКРОКЛОНАЛЬНОГО РОЗМНОЖЕННЯ КАРТОПЛІ

© Т. П. Бортнік, М. Й. Шевчук, І. В. Сеньків

Приведено метод оптимізації процесу відтворення вихідного матеріалу картоплі шляхом додавання до поживного середовища МС фізіологічно активних форм гумусових кислот. Встановлено, що доцільним є використання фульватів, які не втрачають фізіологічної активності після термообробки, забезпечують скорочення термінів культивування в умовах in vitro та прискорюють регенерацію мікророслин

Ключові слова: гумусові кислоти, живець, картопля, культивування, регенерація, розмноження, паросток, поживне середовище, фітогормони

It is described an optimization method of potato planting material reproduction process by adding physiologically active forms of humus acids to the MS nutrient medium. It is determined that it is appropriate to use fulvates that do not lose their physiological activity after heat treatment for reduction of cultivation terms in vitro and accelerate the regeneration of microplants

Keywords: humic acids, stalk, potatoes, cultivation, regeneration, reproduction, sprout, culture medium, plant hormones

1. Вступ

Однією із важливих промислових, технічних та кормових культур є картопля. У світовому виробництві рослинних продуктів харчування картопля займає четверте місце після пшениці, кукурудзі та рису. Україна входить до четвірки найбільших країн – виробників картоплі у світі, поступаючись лише таким потужним державам, як Китай, Росія та Індія, і випереджаючи США, Німеччину, Польщу. З 2005 р. на частку України припадало 6,0 % світового виробництва картоплі (19,1–19,7 млн. т). Середня урожайність картоплі у світі, починаючи з 2005 р., становить 165–180 ц/га, тоді як в Україні вона не перевищує 140 ц/га. Країни-лідери (Нідерланди, США, Швейцарія) збирають понад 400 ц/га картоплі [1, 2]. Причиною цього є те, що її вирощують після поганих попередників, на неодобрених полях, недотримуючись оптимальних строків посадок та допускаючи значні втрати під час зберігання. Проте, існує ще досить вагома причина недобору врожаю картоплі, яка викликана використанням некондиційного посадкового матеріалу. В першу чергу це стосується сортового асортименту, який через порушення сортозаміни та сортооновлення не проводиться згідно з науково обґрунтованими термінами [3].

Крім того, картопля належить до тих культур, які значною мірою уражуються хворобами та пошкоджуються шкідниками. При вирощуванні цієї культури особливо великої шкоди завдають фітофтороз, колорадський жук та вірусні захворювання. Якщо у боротьбі проти перших двох груп існує цілий комплекс заходів (агротехнічні, профілактичні, організаційно-господарські та хімічні), то відносно останніх –

селекція та використання у виробництві сортів, стійких проти вірусів, оздоровлення вихідного матеріалу та захист від вірусної інфекції [4].

Вирішенням цих питань є біотехнологія картоплі in vitro, яка знайшла широке застосування у первинному насінництві даної культури – в технологіях оздоровлення, депонування сортових колекцій, в отриманні мікробульбочкового насінневого матеріалу. Із прискорених біотехнологічних методів розмноження найбільш доцільним щодо одержання вихідного матеріалу в елітному насінництві вважається мікророзмноження, яке має значний коефіцієнт розмноження; при цьому, за використання даного методу знижується вірогідність повторного ураження матеріалу вірусами, оскільки основна частина операцій здійснюється в лабораторних умовах. Біотехнологічний метод дозволяє різко 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 та інше.

Незалежний від поля та кліматичних умов лабораторний процес розмноження високопродуктивних, перспективних сортів в культурі in vitro, а також скорочена трирічна схема одержання елітного матеріалу дає змогу постійно постачати у виробництво високі репродукції насіння і таким чином стабільно одержувати високі врожаї картоплі.

2. Постановка проблеми

Один з лімітуючих факторів, що стримують прискорене розмноження, – термін регенерації мік-

ророслин з експлантів і живців. В цілях його скорочення перспективним є використання біологічно активних речовин, що прискорюють процеси морфогенезу. До групи цих сполук належать гумусові речовини, висока фізіологічна активність яких доведена цілим рядом досліджень.

3. Літературний огляд

Загальновідомо, що гумусові кислоти можуть засвоюватися рослиною. Щодо проникнення гумінових кислот безпосередньо в клітину, то тривалий час існувала гіпотеза, яка була запропонована Л. А. Христевою та підтримана більшістю вчених [5–7], що гумінова кислота в іоннодисперсному стані надходить в рослину та приймає участь в обміні речовин. Однак, це положення не знайшло свого експериментального підтвердження.

При молекулярній будові гумінових кислот іонізація функціональних груп практично не змінює їх дисперсність. Через це «полімерний іон» має стільки ж шансів проникнути через напівпронику оболонку клітини, як і нейтральна макромолекула.

Пратом С., Поспішеним Ф. експериментально встановлено та прокоментовано Коновою М. М., що низькомолекулярні фракції гумінової кислоти проникають в рослину по капілярним пучкам із швидкістю 2–10 мм/добу [6].

Логіновим Л. Ф. та Комісаровим І. Д., пізніше, при використанні методу електро-парамагнітного резонансу, було показано, що макромолекули гумінових кислот, або їх фрагменти, які зберігають парамагнітні властивості, можуть проникати в рослину. Можливість засвоєння рослиною деякої частини гумінових сполук в незміненому вигляді та трансформації гумінових молекул в середині рослини була доведена К. Ш. Ібрагімовим [5, 6].

Колективом авторів під керівництвом А. Д. Фокіна та Л. А. Христевої встановлено безпосередній вплив гумінових кислот на життєдіяльність рослин: гумінова кислота надходить в рослину не лише в окремі органи вищих рослин, але і в клітини, досягаючи їх важливих органел – ядра, мітохондрії, хлоропластів і на відповідних етапах розвитку виконує функцію оксигеназ; включає в обмін речовин додаткову кількість кисню, і таким чином посилює оксидативний обмін, що в свою чергу підвищує енергетичний потенціал і всю життєдіяльність організму [8]. В ряді робіт [9] також підтверджено вплив гумінових кислот на посилення поглинання кисню, активізацію ферментативних систем (каталази, пероксидази, амілази, інвертази та ін) і вуглецевого обміну, посилення утворення хлорофілу, збільшення вмісту цукрів і білків.

Встановлено, що під впливом гумінових кислот в рослин активізується коренеутворення, за рахунок селективності протоплазматичних мембран посилюється надходження води і елементів живлення [10]. Дослідженнями А. І. Горової виявлено, що гумінові кислоти позитивно впливають на всі фази мітотичного циклу клітин і сприяють збільшенню мітотичного індексу в 1,5 рази [6, 11].

Послідуючими дослідженнями відмічено, що гумінові кислоти можуть здійснювати пряму і побіч-

ну дію на фотосинтетичні процеси в рослин. Пряма – обумовлена активізацією протонної помпи хлоропластів, побічна – проявляється в зростанні розміру фотосинтетичних одиниць фотосистеми і кількості її реакційних центрів на одиницю площі листка, що пов'язано з впливом гумінових кислот на білоксинтезуючу систему. Обидва шляхи ведуть до збільшення асиміляції вуглекислого газу, фотосинтетичної продуктивності, в кінцевому результаті, врожаю. На основі цього авторами зроблений висновок, що гумінові кислоти можуть бути ефективними екзогенними регуляторами фотосинтетичних процесів [5, 6].

Значно менша увага приділялась у вивченні властивостей та функцій фульвокислот. Про їх існування відомо ще з часів Я. Берцеліуса, Р. Германа, С. Ордена, Г. Мульдера, але в більшості випадків при дослідженні властивостей та функцій гумусових кислот їх не брали до уваги [12]. Тому інформації про них в літературних джерелах є значно менше, ніж про гумінові кислоти.

Слід відмітити, що всі ці роботи в яких висвітлена та встановлена ефективність застосування гумусових сполук передбачали їх використання при розмноженні та вирощуванні рослин традиційними методами. Відносно мікроклонального розмноження, то доцільність використання цих сполук всесторонньо не доведена.

4. Цілі та задачі досліджень

Мета досліджень – оптимізація процесу відтворення вихідного матеріалу, спрямована на скорочення терміну культивування в умовах *in vitro* з використанням гумінових речовин, що прискорюють регенерацію мікророслин.

Дослідження по вивченню впливу речовин гумусової природи на ріст і розвиток ростових живців в умовах *in vitro* проводили протягом 2014–2015 рр. у біотехнологічній лабораторії СНУ імені Лесі Українки на сортах з різною тривалістю вегетаційного періоду: Тирас – 60–70 днів (ранній) і Случ – 80–85 днів (середньоспільний).

Для прискорення процесів морфогенезу використовували природні гумусові речовини – калієві солі гумінових та фульвокислот, отримані екстрактно-диспегаційним методом із органічного сапропелю.

Для закладання дослідів використовували паросткові живці. Схема дослідів включала застосування солей гумусових кислот – гумінові та фульвокислоти (препарат «Сапрогум») та солей фульвокислот у концентрації 0,001 % по вмісту вуглецю. Повторність дослідів – 40 живців на варіант. На контролі рослини вирощували на звичайному середовищі. Гумусові сполуки додавали у поживне середовище Мурасіге-Скуга (МС) перед автоклавуванням.

5. Ефективність використання гумусових сполук сапропелю в процесі відтворення вихідного матеріалу картоплі

На перших етапах дослідження ефективності використання гумусових речовин при культивуванні рослин картоплі в умовах *in vitro* до поживного середовища МС було додано гуміновий препарат «Сапро-

гум», до складу якого входять фізіологічно активні форми гумінових та фульвокислот. Спостереження за розвитком паросткових живців свідчили про позитивний ефект від використання цих сполук (табл. 1).

Таблиця 1
Довжина паростка рослин картоплі сорту «Случ» за використання гумінового препарату, см (середнє значення)

Дата обліку	МС (контроль)	МС + препарат «Сапрогум»	Приріст до контролю, %
1.12.2014 р.	1,19	1,6	34,5
8.12.2014 р.	3,90	4,55	16,7
15.12.2014 р.	6,0	6,8	13,3
22.12.2014 р.	8,6	9,1	5,8
29.12.2014 р.	9,9	10,6	7,1
05.01.2015 р.	10,9	12,6	15,6

Результати досліджень свідчать, що додавання до поживного середовища гумусових сполук (препарат «Сапрогум») сприяє швидшому відновленню росту і розвитку живців. Так, через тиждень після посадки живців на середовище довжина їх на варіанті з використанням солей гумінових та фульвокислот становила 1,6 см, що на 34,5 % перевищувало контрольні рослини (1,19 см). В подальшому відмічено зниження приросту довжини паростків: від 16,7 до 7,1 %. Через півтора місяця культивування зафіксовано знову зростання приросту, які становив 15,6 відсотка.

Під час проведення даного дослідження було відмічено, що в результаті автоклавування поживного середовища із препаратом «Сапрогум» спостерігається поява осаду. Тобто в результаті стерилізації відбулась дезактивація солей гумінових кислот, а саме втрата їх фізіологічної активності. Однак, позитивний результат від використання препарату дозволив зробити припущення, що на розвиток живців мали вплив сполуки фульвокислот.

У зв'язку з цим на наступному етапі проведення досліджень до складу поживного середовища були додані солі фульвокислот. Отримані результати підтвердили дане припущення, щодо впливу цих сполук на ріст паростків картоплі (табл. 2–3).

Дані табл. 2 свідчать, що за додавання солей фульвокислот простежувалась тенденція подібна як і за використання препарату «Сапрогум». Через тиждень після висадки живців сорту «Случ» на середовище відмічений значний приріст показника його довжини (на 20,8 %) за використання солей фульвокислот, в порівнянні з контролем (0,53 см). В подальшому відбувалось різке зниження їх ефективності і протягом наступних двох тижнів позитивного результату не спостерігалось. На четвертому тижні зафіксовано знову підвищення приросту довжини паростка за використання фульватів від 5,2 до 15,7 %, в порівнянні з контролем.

Практично аналогічні результати були відмічені за використання солей фульвокислот при культивуванні паростків живців картоплі сорту «Тирас» (табл. 3). Так, на протязі перших трьох тижнів відмічено зростання довжини паростків, в порівняно з ко-

нтролем на 4,3–30,8 %, відповідно з максимальним показником у перший тиждень культивування. На четвертий тиждень приросту не спостерігалось, довжина паростків на обох варіантах становила 2,7 см. В подальшому зафіксовано позитивний результат за використання солей фульвокислот, тобто приріст склав 9,7 % на п'ятому та 24,2 % – на шостому тижнях культивування.

Таблиця 2
Довжина паростка рослин картоплі сорту «Случ» за використання солей фульвокислот, см (середнє значення)

Дата обліку	МС (контроль)	МС + солі фульвокислот	Приріст до контролю, %
15.12.2014 р.	0,53	0,64	20,8
22.12.2014 р.	2,2	1,9	–
29.12.2014 р.	3,7	3,7	–
06.01.2015 р.	5,8	6,1	5,2
13.01.2015 р.	6,8	7,5	10,3
20.01.2015 р.	8,5	9,6	12,9
27.01.2015 р.	9,8	10,8	10,2
03.02.2015 р.	10,2	11,3	10,8
10.02.2015 р.	10,8	12,5	15,7
27.02.2015 р.	11,9	13,1	10,1

Таблиця 3
Довжина паростка рослин картоплі сорту «Тирас» за використання солей фульвокислот, см (середнє значення)

Дата обліку	МС (контроль)	МС + солі фульвокислот	Приріст до контролю, %
15.12.2014 р.	0,52	0,68	30,8
22.12.2014 р.	1,3	1,4	7,7
29.12.2014 р.	2,3	2,4	4,3
06.01.2015 р.	2,7	2,7	–
13.01.2015 р.	3,1	3,4	9,7
20.01.2015 р.*	3,3	4,1	24,2

Примечание: * – в подальшому культивування було припинено через невідповідність температурних умов

6. Результати дослідження

Такий неоднозначний результат щодо впливу солей фульвокислот на ріст паростків картоплі може бути пояснений тим, що ці сполуки, у перші дні після висадження живців на середовище, пришвидшують процеси акліматизації та регенерації живців. У подальшому відбувається накопичення достатньої кількості ендогенних та екзогенних фітогормонів (що виробляють рослиною та входять до складу стандартного середовища МС), тому ефективність препарату відносно контролю знижується. Через певний період (1–1,5 місяця) відбувається поступове зниження рівнів цих фітогормонів, тоді як на варіантах з використанням солей фульвокислот їх кількість залишається оптимальною для активного росту паростків.

7. Висновки

Підсумовуючі вище наведені результати досліджень можна стверджувати, що додавання фізіоло-

гічно активних солей фульвокислот до складу поживного середовища Мурасіге-Скуга є ефективним заходом, який сприяє скороченню терміну культивування рослин картоплі в умовах *in vitro*.

Література

1. Гусева, К. Ю. Укоренение *in vitro* сортов картофеля (*Solanum tuberosum* L.) [Текст] / К. Ю. Гусева, А. П. Мьякишева, О. К. Тавартикиладзе // Известия Алтайского государственного университета. – 2013. – Т. 1, № 3 (79). – С. 56–60.
2. Крупа, О. М. Стан та перспективи розвитку картоплярства у Львівській області [Текст] / О. М. Крупа, Р. І. Тринько, О. А. Біттер. – Львів, 2010. – С. 4–15.
3. Маційчук, В. М. Особливості проведення експертизи сортів картоплі (*Solanum tuberosum* L.) на відмінність, однорідність та стабільність [Текст] / В. М. Маційчук, О. А. Саюк, Р. Б. Кропивницький, А. Ф. Шегеда // Вісник ЖНАЕУ. – 2014. – № 2 (42). – С. 136–144.
4. Теслюк, П. С. Захист картоплі від шкідників та хвороб [Текст] / П. С. Теслюк, М. Я. Молоцький, М. Ю. Власенко // Насінництво картоплі. – Біла Церква. – 2000. – С. 137–138.
5. Дідковська, Т. П. Технологічні основи виготовлення та застосування гуматів під овочеві культури [Текст]: дис. ... канд. с.-х. наук / Т. П. Дідковська. – Харків, 2009. – С. 10–22.
6. Горовая, А. И. Гуминовые вещества [Текст] / А. И. Горовая, Д. С. Орлов, О. В. Щербенко. – К.: Наукова думка, 1995. – С. 15–83.
7. Драгунов, С. С. Химическая характеристика гуминовых кислот и их физиологическая активность [Текст] / С. С. Драгунов. – Гуминовые удобрения. Теория и практика их применения. – 1980. – Т. VII. – С. 5–21.
8. Христева, Л. А. К природе действия физиологически активных гумусовых веществ на растения в экспериментальных условиях [Текст] / Л. А. Христева. – Гуминовые удобрения. Теория и практика их применения. – 1977. – Ч. 7. – С. 3–15.
9. Ронсаль, Г. А. Физиологическая активность гуминовых веществ перегноя [Текст] / Г. А. Ронсаль, В. А. Жминько. – Гуминовые удобрения. Теория и практика их применения. – 1968. – Ч. III. – С. 80–87.
10. Баталкин, Г. А. Проницаемость мембран для некоторых веществ гумусовой природы и их вклад в физиологическую активность препарата гуматов натрия [Текст] / Г. А. Баталкин, М. М. Коганов, Л. Ю. Махно. – Гуминовые удобрения. Теория и практика их применения. – 1983. – Т. IX. – С. 117–121.

11. Горовая, А. И. Влияние физиологически активных веществ на митотическую активность меристематических клеток, состояние нуклеиновых кислот и ростовые процессы у растений [Текст]: автореф. дис. канд. биол. наук / А. И. Горовая. – НАН Украины. Днепропетровск, 1968. – 23 с.

12. Околелова, А. А. Природа и свойства фульвокислот [Текст] / А. А. Околелова // Почвоведение. – 1992. – № 1. – С. 65.

References

1. Guseva, K. J., Myakisheva, A. P., Tavartkiladze, A. K. (2013). *In vitro* Rooting of potato varieties (*Solanum tuberosum* L.). News Altaiskogo state University, 1 (3 (79)), 56–60.
2. Krupa, O. M., Trinko, G. I., Bitter, O. A. (2010). Status and prospects of development of potato cultivation in the Lviv region. Lviv, 4–15.
3. Matichuk, V. M., Sauck, O. A., Kropiwnicki, P. B., Segeda, A. F. (2014). Peculiarities of examination of varieties of potatoes (*Solanum tuberosum* L.) for distinctness, uniformity and stability. Bulletin of INEU, 2 (42), 136–144.
4. Tesluk, P. S., Maliki, N. I., Vlasenko, M. Y. (2000). Protection of potato against pests and diseases. Seed potatoes. White Church, 137–138.
5. Didkovsky, T. P. (2009). The technological basis of production and application of humates for vegetable crops. Kharkiv, 10–22.
6. Gorovaya, A. S., Orlov, D. S., Shcherbenko, A. V. (1995). Humic substances. Kyiv: Naukova Dumka, 15–83.
7. Dragunov, S. S. (1980). Chemical characterization of humic acids and their physiological activity. Humic fertilizers. Theory and practice of their application, VII, 5–21.
8. Hristova, L. A. (1977). To the nature of the action of physiologically active humic substances on plants in experimental conditions. Humic fertilizers. Theory and practice of their application, 7, 3–15.
9. Roncal, G. A., Zhminko, V. A. (1968). Physiological activity of humic substances humus. Humic fertilizers. Theory and practice of their application, III, 80–87.
10. Batalin, G. A., Cogan, M. M., Makhno, L. Y. (1983). Membrane permeability to certain substances of humic nature and their contribution to physiological activity of a preparation of sodium humates. Humic fertilizers. Theory and practice of their application, IX, 117–121.
11. Gorovaya, A. S. (1968). The influence of physiologically active substances on the mitotic activity of meristematic cells, the condition of nucleic acids and growth processes in plants. Kyiv, 23.
12. Okolelova, A. A. (1992). The nature and properties of fulvic acids. Soil science, 1, 65.

Дата надходження рукопису 18.08.2015

Бортнік Тетяна Павлівна, старший викладач, кандидат сільськогосподарських наук, кафедра лісове та садово-паркове господарство, Східноєвропейський національний університет ім. Лесі Українки, пр. Волі, 13, м. Луцьк, Україна, 43025

Шевчук Михайло Йосипович, завідувач кафедри, професор, доктор сільськогосподарських наук, кафедра лісове та садово-паркове господарство, Східноєвропейський національний університет ім. Лесі Українки, пр. Волі, 13, м. Луцьк, Україна, 43025

Сеньків Ірина Вікторівна, біологічний факультет, Східноєвропейський національний університет ім. Лесі Українки, пр. Волі, 13, м. Луцьк, Україна, 43025