

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
СУМСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
Факультет агротехнологій та природокористування
Кафедра біотехнології та хімії

«До захисту допущено»
Завідувач кафедри

_____ ПІБ
підпис
« ____ » _____ 2025 р.

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА
за першим (бакалаврським) рівнем вищої освіти

на тему: «Вплив концентрації цукрів в поживному середовищі на
формування мікробульб картоплі»

Виконав

Карина ГРИШАК

Ім'я ПРИЗВИЩЕ

Група:

БІО 2101-1

Науковий керівник

Владислав КОВАЛЕНКО

Ім'я ПРИЗВИЩЕ

Рецензент

Володимир ВЛАСЕНКО

Ім'я ПРИЗВИЩЕ

АНОТАЦІЯ

Гришак К.О. "Вплив концентрації цукрів в поживному середовищі на формування мікробульб картоплі"

Кваліфікаційна робота на здобуття освітнього ступеня бакалавр за спеціальністю (162 – Біотехнології та біоінженерія). – Сумський національний аграрний університет Міністерства освіти і науки України, Суми, 2025.

У дипломній роботі досліджено вплив концентрації цукрів у поживному середовищі на процеси формування мікробульб картоплі (*Solanum tuberosum L.*) у умовах *in vitro*. Актуальність теми обумовлена необхідністю оптимізації біотехнологічних методів розмноження елітного насінневого матеріалу, що є важливою складовою сучасного картоплярства.

У даному дослідженні вивчали вплив бензиламінопурину (BAP) та кінетину (Kin) у концентраціях від 0 до 5 мг/л та концентраціях сахарози від 20 до 120 г/л на бульбоутворення *in vitro*, зосереджуючись на розмірі, вазі та швидкості бульбоутворення мікробульб. В якості експлантатів використовували вузлові сегменти з безвірусних рослин картоплі сорту «*Red Scarlet*», вирощених *in vitro*. Ці експлантати культивували на середовищі Мурасіге та Скуга (MS), загущеному 0,5% агаром. У дослідженні також порівнювали ефективність виробництва мінібульб у ґрунтових теплицях та аеропонних умовах. Найвищий рівень бульбоутворення картоплі *in vitro* (90%) був досягнутий з 80 г/л сахарози та 3,0 мг/л BAP. Після індукції, безвірусні мікробульби були перенесені як у тепличні умови, так і в аеропонні системи для подальшої оцінки виробництва мінібульб та біохімічного складу.

Ключові слова: мікробульби, вирощування в умовах *in vitro*, концентрація живильних компонентів та цукру, поживне середовище.

ABSTRACT

Grishak K.O. "The influence of sugar concentration in the nutrient medium on the formation of potato microtubers"

Qualification work for obtaining a bachelor's degree in the specialty (162 - Biotechnology and Bioengineering). - Sumy National Agrarian University of the Ministry of Education and Science of Ukraine, Sumy, 2025.

The thesis investigated the influence of sugar concentration in the nutrient medium on the processes of potato microtuber formation (*Solanum tuberosum* L.) in vitro. The relevance of the topic is due to the need to optimize biotechnological methods for the propagation of elite seed material, which is an important component of modern potato growing.

This study investigated the effects of benzylaminopurine (BAP) and kinetin (Kin) at concentrations ranging from 0 to 5 mg/L and sucrose concentrations ranging from 20 to 120 g/L on in vitro tuber formation, focusing on the size, weight, and tuber formation rate of microtubers. Nodal segments from virus-free potato plants of the variety "Red Scarlet" grown in vitro were used as explants. These explants were cultured on Murashige and Skoog (MS) medium thickened with 0.5% agar. The study also compared the efficiency of minituber production in soil greenhouses and aeroponic conditions. The highest level of in vitro potato tuber formation (90%) was achieved with 80 g/L sucrose and 3.0 mg/L BAP. After induction, virus-free microtubers were transferred to both greenhouse conditions and aeroponic systems for further evaluation of minituber production and biochemical composition.

Keywords: microtubers, in vitro cultivation, concentration of nutritional components and sugar, nutrient medium.

ЗМІСТ

<u>ВСТУП</u>	7
<u>РОЗДІЛ 1</u>	9
<u>АНАЛІЗ ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ ЩОДО</u> <u>МІКРОБУЛЬБОУТВОРЕННЯ У КУЛЬТУРІ IN VITRO</u>	9
<u>1.1. Біотехнологічне розмноження картоплі: основні підходи та</u> <u>перспективи</u>	9
<u>1.2. Вплив факторів поживного середовища на морфогенез картоплі in</u> <u>vitro</u>	15
<u>1.3. Практичне застосування мікробульб у насінництві картоплі</u>	18
<u>1.4. Значення цукрів у середовищі для ініціації та розвитку мікробульб</u> .	19
<u>РОЗДІЛ 2</u>	22
<u>МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ</u>	22
<u>2.1. Мета та опис оглядового дослідження</u>	22
<u>2.2. Місце проведення дослідження</u>	23
<u>2.3. Рослинний матеріал та умови культивування</u>	23
<u>2.4. Індукція мікробульб</u>	24
<u>2.5. Загальний склад поживного середовища</u>	24
<u>2.6. Оцінка виробництва мікробульб</u>	26
<u>РОЗДІЛ 3</u>	28
<u>Результати обраного дослідження</u>	28
<u>3.1. Вплив концентрації сахарози на індукцію та характеристики</u> <u>мікробульб</u>	28
<u>3.2. Вплив цитокінінів на формування бульб</u>	31
<u>ВИСНОВКИ</u>	36
<u>СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ</u>	38

ВСТУП

Картопля (*Solanum tuberosum* L.) є однією з найважливіших продовольчих культур у світі, що посідає провідне місце в харчуванні населення, тваринництві та переробній промисловості. У зв'язку зі зростанням попиту на якісний та здоровий насіннєвий матеріал, усе більше уваги приділяється впровадженню біотехнологічних методів розмноження, зокрема вирощуванню мікробульб у культурі *in vitro*. Одним із критично важливих факторів для успішного формування мікробульб є вуглеводне живлення, зокрема вміст цукрів у поживному середовищі.

Актуальність теми: оптимізація концентрації цукрів у середовищі культивування дозволяє значно підвищити ефективність мікроклонального розмноження картоплі та забезпечити одержання здорового, високоякісного, генетично однорідного матеріалу. Це особливо важливо в умовах обмежених площ для розсадництва, а також в умовах контролю за вірусною інфекцією в насіннєвому матеріалі. Застосування *in vitro* технологій з урахуванням впливу вуглеводного режиму дає змогу скоротити терміни виробництва, підвищити урожайність та забезпечити стійкість культур до біотичних і абіотичних стресів.

Мета роботи: встановити вплив різної концентрації цукрів (переважно сахарози) у поживному середовищі на інтенсивність утворення мікробульб картоплі *in vitro* та визначити оптимальні параметри середовища для максимального їх формування.

Завдання роботи: проаналізувати літературні джерела щодо впливу вуглеводного живлення на мікробульбоутворення у культурі картоплі *in vitro*; Вивчити морфогенетичні реакції рослин на різні концентрації цукрів у середовищі; Провести експериментальне дослідження з використанням різних концентрацій сахарози; Оцінити кількісні та якісні показники утворення мікробульб (їх кількість, масу, розмір); Визначити оптимальні умови для формування життєздатних мікробульб.

Об'єкт дослідження: картопля (*Solanum tuberosum L.*), вирощена in vitro.

Предмет дослідження: вплив концентрації цукрів у поживному середовищі на процес формування мікробульб картоплі у культурі in vitro.

Структура та обсяг роботи: Загальна кількість сторінок комп'ютерного набору становить 41 сторінок: таблиць – 3. Кількість використаних джерел – 37.

РОЗДІЛ 1

АНАЛІЗ ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ ЩОДО МІКРОБУЛЬБОУТВОРЕННЯ У КУЛЬТУРІ IN VITRO

1.1. Біотехнологічне розмноження картоплі: основні підходи та перспективи

Рослинний матеріал для виробництва бульб картоплі може бути з різних джерел. Комерційно та традиційно найбільш актуальним є розмноження шляхом проростання насінневих бульб нормального розміру (близько 50 г). Як альтернатива, рослини можуть розвиватися з міні-бульб (близько 15 г), отриманих з мікророслин шляхом розмноження пазушних бруньок *in vitro*, або з ботанічного насіння, отриманого або шляхом нормального статевого розмноження, або, в майбутньому, шляхом апоміксису. Таким чином, посадковий матеріал походить або від мікророслини, або від ботанічного насіння. Чим ближче посадковий матеріал у клональних поколіннях до мікророслини або ботанічного насіння, тим більша ймовірність того, що він не буде хворим. Який посадковий матеріал найкращий для фермерів, залишається відкритим питанням. Однак, хоча чіткої відповіді на це питання немає, і переваги можуть проявлятися залежно від місцевих умов, економіки фермерів та технологічних можливостей, розмножувачі повинні зосередитися на забезпеченні та постачанні фермерам економічно ефективного, чистого («вільного від хвороб») посадкового матеріалу. Для розмноження з насінневих бульб цього найкраще досягти за допомогою обов'язкових схем сертифікації насіння, що діють у районах, де картопля вирощується лише на насіння. Однак вирощування картоплі в країнах з низьким рівнем доходу характеризується неформальними системами насінництва з незначним використанням сертифікованого насіння, і за цих обставин розмноження з ботанічного насіння (TPS) є привабливою пропозицією [3].

Недоліки розмноження з насінневих бульб пов'язані з вищими витратами на обробку великої кількості посадкового матеріалу (за вагою та розміром), включаючи мікророслини (вироблені в лабораторії) та міні-бульби (розсадники), а також, у випадку нових сортів, з часом, необхідним для отримання достатньої кількості пропагул для посадки. Крім того, бульби частіше заражаються та переносять хвороби, що передаються бульбами; а їхній фізіологічний вік та стан визначають час посадки. Такі проблеми можна легко подолати за допомогою розмноження методом насінневого спалювання (TPS). Картопля розвиває стійке до висушування ботанічне насіння, яке легко транспортується та зберігається. Насіння диких видів картоплі є довговічним, зі схожістю >96% після 26 років зберігання в холоді, тоді як насіння культурних видів, за прогнозами, матиме середньостроковий період зберігання з схожістю 50% після 22 років та вищим рівнем спокою. За деякими винятками, TPS не містить вірусних, грибкових або бактеріальних патогенів, а час посадки є гнучким. На практиці, ТПС (системи планування життєдіяльності) є усталеними та особливо корисними для дрібних фермерів у багатьох тропічних та субтропічних низинних регіонах світу [22].

Недоліками розмноження TPS для тетраплоїдної картоплі та причиною, чому воно не застосовується великими фермерами, агробізнесом та промисловістю, є відсутність генетичної однорідності в часі дозрівання та ознаках бульб, що впливають на врожайність та якість, а в деяких випадках недостатня кількість добре розвиненого насіння. Це пояснюється тим, що сорти TPS походять від схрещування гетерозиготних батьківських рослин, де сегрегація та рекомбінація генів створюють варіації. Коли TPS отримують через диплоїдні батьківські рослини, включаючи індукцію тетраплоїдних гібридів F1, можна очікувати нижчої врожайності порівняно з тетраплоїдною картоплею, яка традиційно відбиралася за врожайністю бульб. Альтернативою на майбутнє є використання обґрунтованих стратегій схрещування, що

впроваджують дані про SNP та структурні варіанти всього геному для цілеспрямованої розробки комплементарних гетеротичних пулів. Концепцію «гетеротичних гаплотипів» вперше описали Сноудон та ін., а її потенціал для швидкого створення ефективних, генетично відмінних гетеротичних пулів з недиференційованих генофондів був продемонстрований на озимому ріпаку Кренцером та ін. У поєднанні з ранньою геномною селекцією такі методи можуть допомогти створити ефективні гетерозисні пули, підтримувати та навіть покращувати використання гетерозису, а також розробляти високопродуктивні гібриди тетраплоїдної картоплі [2].

Виведення диплоїдних інбредних ліній шляхом кількох поколінь самозапилення, які мають достатній рівень гомозиготності, енергії росту та фертильності для селекції гібридів F₁, може вирішити проблему генетично однорідних сортів з TPS. Однак самозапилення часто перешкоджається самонесумісністю диплоїдних видів. Крім того, переваги будуть обмежені першим поколінням TPS. Це підвищує інтерес селекціонерів картоплі, які можуть отримати більший прибуток, але фермерам доведеться купувати нове насіння щосезону, як і у випадку з кукурудзою та іншими гібридними культурами.

Уникнення генетичних наслідків статевого розмноження під час утворення насіння шляхом індукції синтетичного апоміктичного розмноження у квітках картоплі дозволило б подолати сучасні проблеми: (1) використання TPS для розмноження високогетерозиготних тетраплоїдних сортів та (2) гібридної селекції, такої як інбридинг, самонесумісність, а також розвиток і підтримка інбредних батьківських ліній. Більше того, синтетичні апоміктичні рослини картоплі, що продукують справжнє клональне насіння, можуть скоротити час комерціалізації нових сортів до 1-2 років, якщо для відбору генотипів з фіксованими корисними алелями (або без шкідливих алелів з великим ефектом) використовувати молекулярні маркери, порівняно з більш ніж десятиліттям

класичної селекції картоплі або очікуваними 3-6 роками при використанні технології диплоїдної гібридної картоплі. Дотепер спроби індукувати апоміктичний розмноження в інших культурах, таких як рис, показали стабільний прогрес, і апоміктичні генотипи рослин з достатньо високою пенетрантністю ознак для комерціалізації вже доступні. Однак у картоплі експериментальні дослідження синтезу апоміксису ще не розпочалися. Індукцію апоміксису серйозно розглядав давно Гермсен, який визначив «елементи апоміксису», що часто присутні в картоплі, та ті, що відсутні. Однак тоді було дуже мало відомо про молекулярний контроль цієї ознаки, а технологічні інструменти для аналізу ДНК тільки починали розроблятися. Інші дослідники експериментували з такими апоміктичними елементами (тобто 2n яєць або партеногенез) та обговорювали їх значення в селекції та для індукції апоміксису [4].

З генетичної та екологічної точки зору, картопля демонструє широку пластичність, каталогізовано понад 4000 сортів. Вона росте в широкому діапазоні кліматичних та географічних регіонів і може бути швидко відібрана для адаптації до нових місцевих умов навколишнього середовища. Однак у минулому розробка адаптованих сортів не була швидкою. Зараз існує потреба в нових сортах, стійких до шкідників та хвороб, які переносять несприятливий вплив температур та посухи на бульбоутворення, а також ефективніше використовують воду та мінерали, щоб забезпечити екологічні переваги, а також задовольнити потреби споживачів. Виробництво таких сортів може бути складним через репродуктивні бар'єри та неможливість поєднання доступних варіантів у відповідний геномний фон. Отже, існує потреба в репродуктивно більш гнучкій культурі картоплі, вільної від бар'єрів несумісності пилку та маточки та обмежень для розвитку ендосперму [23].

Перспектива маніпулювання репродуктивними генами для підвищення толерантності до інбридингу або сприяння цілеспрямованій інтрогресії виглядає

багатообіцяючою. Перетворення картоплі на репродуктивно більш гнучку культуру може бути альтернативним способом посилення генетичних переваг від існуючої природної мінливості. Різні дослідження показали наявність варіацій у репродуктивних етапах формування гамет та насіння серед видів картоплі, і така природна варіація вже успішно використовується в програмах селекції. Це свідчить про те, що ці репродуктивні альтернативи придатні для прямої генетичної маніпуляції, якщо цільові гени можна ідентифікувати або підтвердити, щоб забезпечити стабільний, індукований фенотип. Використання редагування генів на основі CRISPR-Cas9 для подолання самонесумісності або збільшення частоти нередукованих гамет, серед інших репродуктивних ознак, може підтримувати попереднє схрещування та інтрогресію сприятливих алелів в елітні одомашнені лінії картоплі. Попереднє схрещування таких культур, як пшениця, з відносно меншою кількістю диких родичів, є успішним прикладом прискорення генетичного здобутку шляхом польового відбору, генотипування та селекції за допомогою маркерів. Редагування генів, спрямоване на репродуктивні функції диких видів картоплі (наприклад, самосумісність та ген *Sli*), може розкрити приховані генетичні резервуари для попередньої селекції та передачі ознак проміжним рослинним матеріалам, які селекціонери можуть використовувати в селекції для створення нових сортів та досягнення швидшого генетичного приросту [1].

Випуск першої послідовності геному картоплі ознаменував появу потужніших аналізів геному. Інноваційне мислення вчених у поєднанні з використанням унікального генетичного запасу дозволило отримати гаплотипно-розділені збірки диплоїдних та тетраплоїдних сортів картоплі, що мають розмір моноплоїдного геному 0,775 Гб та 38 214 генів. Фазові хромосомні збірки тетраплоїдних сортів розкривають складність геному картоплі, демонструючи значне алельне різноманіття, переважну експресію алелів та структурні варіації з доказами інтрогресій предків та збереженням

дисфункціональних та шкідливих алелів. На цій основі були ідентифіковані відповідні аспекти демографічної та адаптивної історії сучасної картоплі, а також агрономічно важливі гени та сімейства генів, а також створені сайт-спрямовані мутанти для призначення функцій передбачуваним генам.

Тим часом, секвенування геному та генотипування сотень диких та культивованих зразків стають стандартними стратегіями для аналізу генетичної різноманітності в масштабах усього геному, наприклад, генів стійкості до хвороб; для ідентифікації генів, що перебувають у процесі селекції, особливо під час одомашнення картоплі (наприклад, тих, що беруть участь у бульбоутворенні або втраті гіркоти в бульбах); для спільних геномних регіонів та втрати синтенії, що стосуються гібридної селекції; та для створення надійних філогенетичних дерев для розуміння еволюції та поширення картоплі. Ці дослідження дозволили розділити весь набір генів у межах виду (тобто так званий пангеном) та гени, спільні для всіх особин (тобто гени основного геному). Пангеноми є найбільш релевантними для охоплення повного генетичного різноманіття (та зменшення генетичної упередженості в аналізі одного геному), а також для виявлення зв'язків зчеплення та функціональних ефектів варіантів. У картоплі аналіз пангеномів допомагає у виявленні багатьох незамінних генів, пов'язаних зі стійкістю до стресу або патогенів, та важливих біомолекул для боротьби з хворобами, а також у розумінні спалахів хвороб картоплі [5].

Таким чином, як і очікувалося, доступ до інформації про геномну мінливість картоплі сприяв функціональному генетичному аналізу, а нововиявлені ознаки включаються до селекційних програм. Крім того, редагування геному за допомогою технології CRISPR-Cas вже використовується в картоплі для покращення харчової культури, одночасно забезпечуючи фундаментальні дослідження та промислове застосування. Ці нові технологічні досягнення з'являються у критичний час, коли селекціонери та технологи

картоплі повинні створити низку екологічно стійких сортів, адаптованих до величезних агроекологічних зон та регіонів, де вирощується картопля для прогодування зростаючої популяції. У цьому контексті модифікація генів, що беруть участь у репродуктивному розвитку, є актуальною для подолання біологічних бар'єрів та посилення й прискорення прогресу селекції [24].

1.2. Вплив факторів поживного середовища на морфогенез картоплі *in vitro*

Цитокініни — це фітогормони, які відіграють ключову роль у процесах росту та розвитку рослин, зокрема під час *in vitro* розмноження культур, таких як *Solanum tuberosum*. Їх широко застосовують у мікророзмноженні, де рослинні тканини культивують у контрольованому середовищі.

Ці гормони стимулюють клітинний поділ і розширення тканин, що сприяє активному розмноженню клітин *in vitro*. Вони здатні індукувати утворення пагонів, які за сприятливих умов можуть розвиватися у повноцінні рослини. Основна їх функція полягає в активації меристем — зон інтенсивного росту, що сприяє формуванню нових бруньок і пагонів.

Окрім впливу на вегетативний розвиток, цитокініни також уповільнюють процеси старіння клітин і сприяють збереженню життєздатності рослинної тканини при тривалому культивуванні *in vitro*. Так, дослідження із застосуванням 6-бензиламінопурину (6-BAР) у концентрації від 0,5 до 1 мг/л не виявило значного впливу на кількість вузлів чи висоту пагонів у сорті *S. tuberosum* Phureja [6].

Інші дослідження показали, що експлантати сортів Almera та Diamante розміром 1–2 см з двома вузлами, культивовані на середовищі MS із додаванням TDZ та ауксину, демонстрували покращене утворення пагонів при використанні 3,0 мг/л TDZ у поєднанні з 0,1 мг/л NAA. Водночас застосування високих доз зеатину на сорті Cecilia не дало позитивного ефекту, що свідчить про сортоспецифічну реакцію на дію фітогормонів.

У межах іншого експерименту було встановлено, що середовище з 0,1 мг/л зеатину та 0,5 мг/л 2,3,5-трийодбензойної кислоти (ТІВА) сприяло збільшенню кількості пагонів *S. tuberosum* in vitro. Однак подальше підвищення концентрації зеатину пригнічувало цей процес, що узгоджується з попередніми науковими висновками [25].

Ауксини — це клас фітогормонів, відомих передусім своєю ключовою роллю у формуванні кореневої системи рослин. Під час культивування *Solanum tuberosum* in vitro введення ауксинів у живильне середовище сприяє активному утворенню коренів в експлантатах. Ефективність цього процесу значною мірою залежить від типу ауксину та його концентрації, які визначають рівень стимуляції коренеутворення.

Одним із найчастіше використовуваних ауксинів у мікророзмноженні є нафталоцтова кислота (NAA), яка довела свою здатність індукувати розвиток коренів у багатьох рослин, зокрема й у картоплі.

Ауксини також впливають на ріст клітин, модулюючи експресію генів, що беруть участь у клітинному поділі та подовженні. Встановлено, що вони активують гени, відповідальні за синтез структурних білків та ферментів, які регулюють ріст і розширення клітин, що є критичним для нормального розвитку тканин у процесі in vitro культивування.

Крім того, ауксини взаємодіють з іншими фітогормонами — такими як цитокініни та гібереліни — координуючи ріст тканин і загальний розвиток рослин у культурі. Гармонійний баланс між цими гормонами у живильному середовищі є важливим чинником, що впливає на успішність мікророзмноження *S. tuberosum*.

У деяких дослідженнях зазначено, що використані концентрації NAA та індол-3-оцтової кислоти (IAA) могли бути недостатніми або надмірними для стимуляції приросту листя, вузлів, пагонів та загального росту рослин. Якщо ці

показники не відповідали оптимальним значенням, ефект на розмноження міг бути відсутнім.

Так, у певних випадках застосування NAA не впливало на показники розмноження *S. tuberosum*, зокрема на висоту пагонів чи темп проліферації. Натомість низькі концентрації індол-3-масляної кислоти (ІВА) виявили позитивний вплив на процес *in vitro* розмноження [7].

Гіберелова кислота (GA_3) є фітогормоном, що здатен стимулювати як поділ, так і подовження клітин, що в свою чергу сприяє посиленому росту рослинних тканин при культивуванні *in vitro*. Це має важливе значення для мікророзмноження, оскільки активне клітинне зростання забезпечує утворення більшої кількості пагонів, що підвищує загальний коефіцієнт розмноження.

Застосування GA_3 у мікроклональному розмноженні *Solanum tuberosum* активує експресію генів, пов'язаних із формуванням і розвитком пагонів, що веде до інтенсивнішого їх утворення у культурі *in vitro*.

Крім того, GA_3 чинить вплив на морфогенез, сприяючи розвитку основних органів рослини, таких як корені, стебла, вузли та листки. Це критично важливо для формування здорових, життєздатних саджанців, які мають кращу стійкість до стресу при подальшій акліматизації.

Також гіберелова кислота впливає на низку фізіологічних процесів, зокрема стимулює синтез білків, фотосинтетичну активність та поглинання поживних речовин, що безпосередньо сприяє підвищенню ефективності розмноження *in vitro* за рахунок створення оптимальних умов для росту та розвитку клітин [26].

Результати досліджень із використанням рідких культуральних середовищ із варіативним вмістом фітогормонів свідчать, що середовище MS, збагачене 0,25 мг/л GA_3 , 5 мг/л пантотенової кислоти, 1 мг/л тіаміну та 20 г/л сахарози, за умов постійного перемішування, показало кращі результати на стадії розмноження. Також було встановлено, що застосування GA_3 у концентрації 0,1

мг/л сприяє збільшенню висоти рослин, а також кількості вузлів і листків. Водночас надмірні концентрації цього гормону можуть мати зворотний ефект, знижуючи кількість листя та вузлів на експлантатах. Отримані дані узгоджуються з результатами, наведеними в межах цього дослідження [8].

1.3. Практичне застосування мікробульб у насінництві картоплі

Картопля здатна зберігати сортові ознаки завдяки вегетативному способу розмноження, який забезпечує генетичну стабільність у наступних поколіннях. Проте саме цей спосіб розмноження робить культуру вразливою до широкого спектра хвороб, що передаються через насіннєвий матеріал. Унаслідок накопичення патогенів якість насіннєвих бульб поступово знижується, що призводить до деградації насіннєвого фонду з року в рік [30].

Якісне насіння є критично важливим для стабільного виробництва картоплі та забезпечення продовольчої безпеки. Проте актуальною залишається проблема дефіциту здорового насіннєвого матеріалу. Одним з найбільш простих та економічно ефективних способів подолання цієї проблеми стало вирощування насіннєвих бульб *in vitro* з використанням укорінених стеблових живців. Цей метод широко впроваджено у глобальне виробництво насіннєвої картоплі.

Отримані *in vitro* розсада та мікробульби слугують джерелом швидкого розмноження оздоровленого посадкового матеріалу для виробництва елітного насіння. Таку розсаду вирощують у тепличних умовах або під сітками, де формуються мінібульби, які потім висаджуються у відкритий ґрунт. Мінібульби можуть походити як із первинної *in vitro* розсади, так і безпосередньо з мікробульб [9].

Мікробульби — це мініатюрні бульби розміром 4–12 мм, які формуються в лабораторних умовах з пророщених *in vitro* пагонів. У подальшому їх вирощують у теплицях на безґрунтових субстратах, у грядках, контейнерах або в умовах гідропоніки. Вирощені мінібульби висаджують на ділянках для

насінного виробництва, де їхнє потомство розмножується в полі ще 2–5 сезонів перед тим, як передати його фермерським господарствам.

Основне завдання початкового етапу насінництва картоплі — отримання здорових мінібульб середнього розміру. За даними Радуні та співавт. і Озкайнака та співавт., розмір мінібульб зазвичай варіюється від 5 до 25 мм. Однак на цей показник істотно впливають кількість бульб на рослину, щільність посадки, умови вирощування, а також доступність поживних речовин [10].

Незважаючи на загальні рекомендації щодо удобрення, на сьогодні бракує точної інформації про склад поживних середовищ, що необхідні для оптимального розвитку мінібульб. Відсутність деталізованих даних створює труднощі для виробників насінневої картоплі на початкових етапах.

Поживні потреби картоплі на всіх фазах її розвитку, зокрема у період бульбоутворення, залежать від складу субстрату, ґрунту чи живильного розчину в системах гідропонного типу. Найважливішими елементами живлення вважаються азот (N), фосфор (P) та калій (K), які мають визначальний вплив на процес формування бульб. Окрім того, такі елементи, як кальцій (Ca) та магній (Mg), також сприяють покращенню якості та кількості врожаю.

У зв'язку з цим проводяться численні дослідження, спрямовані на вдосконалення складу поживних середовищ для *in vitro* культур картоплі, що дозволяє покращити ріст рослин та забезпечити вищу продуктивність як мікробульб, так і мінібульб [27].

1.4. Значення цукрів у середовищі для ініціації та розвитку мікробульб

Вплив вуглеводного компонента культурального середовища — його типу, форми та концентрації — на індукцію та розвиток мікробульб картоплі *in vitro* досліджується протягом багатьох десятиліть. Упродовж цього часу науковці зосередили увагу не лише на швидкості та тривалості формування мікробульб, а й на оптимізації складу вуглеводів (сахароза, глюкоза, фруктоза

тощо) у концентраціях від 2 до 10%, що забезпечують посилене бульбоутворення в культурі *in vitro* для різних генотипів картоплі.

Серед усіх вуглеводів найбільше уваги приділяється саме сахарозі. На відміну від моносахаридів, таких як глюкоза та фруктоза, сахароза має нижчий осмотичний тиск при рівній концентрації вуглецю. Під час автоклавовання середовища сахароза частково гідролізується до глюкози й фруктози, що підвищує осмотичний потенціал, а отже — впливає на бульбоутворення. Для підвищення ефективності цього процесу В.Н. Овчинніков пропонує регулювати склад вуглеводів шляхом комбінування сахарози з моносахаридами [28].

Інші дослідники припускають, що середовище з 4% глюкози та 4% фруктози створює високий осмотичний тиск, який призводить до формування дрібніших мікробульб у порівнянні з середовищем, що містить 8% сахарози. Загальноновизнано, що оптимальна концентрація сахарози для індукції бульбоутворення та подальшого росту мікробульб *in vitro* становить 6–8%. Відхилення від цього діапазону — як у бік зменшення, так і збільшення — уповільнює процес та зменшує кількість і розмір мікробульб [11].

У культурах *in vitro* сахароза виконує не лише функцію джерела енергії, але й слугує тригером бульбоутворення та ключовим осмотичним агентом середовища.

Бульбоутворення *in vivo* в картоплі є ієрархічним процесом, що визначається як генетичними особливостями рослини, так і факторами навколишнього середовища. Встановлено, що кількість мікробульб, утворених *in vitro*, корелює з числом стolonів, утім частка стolonів, що переходять у бульби, значною мірою залежить від генотипу [28].

Попередні дослідження продемонстрували, що в сортів картоплі «Жуковський ранній» та «Луговська» формування мікробульб на стolонах починається вже протягом перших трьох тижнів після індукції. Цей процес має періодичний характер, а динаміка добового приросту мікробульб у досліджених

сортів нагадує згасаючу синусоїдальну криву з двома вираженими піками. Це підтверджує, що бульбоутворення *in vitro* є дискретним процесом, ефективність якого значно зростає за умови адекватного забезпечення поживними речовинами, особливо сахарозою [12].

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Мета та опис оглядового дослідження

Одним із важливих досягнень у технологіях розмноження картоплі стало впровадження *in vitro* виробництва мікробульб — дрібних за розміром утворень (іноді лише кілька сотень мікронів), здатних розвиватися у повноцінні бульби з повним збереженням генетичних характеристик вихідного сорту. Такий метод має низку суттєвих переваг: він забезпечує цілорічне культивування, дозволяє транспортувати легкий, незаражений від патогенів насінневий матеріал, а також використовується для створення та підтримки генетичних банків комерційних сортів і диких видів картоплі. Це має важливе значення для селекційної роботи та молекулярно-генетичних досліджень [31].

Водночас масштабування виробництва мікробульб досі супроводжується певними труднощами. Одними з головних чинників, що впливають на ефективність процесу, залишаються концентрація сахарози, тип використовуваного цитокініну та режим освітлення (фотоперіод).

До того ж ключову роль у процесах бульбоутворення відіграють фізіолого-біохімічні чинники, зокрема цукровий обмін, гормональна регуляція та доступність поживних речовин. Встановлено, що цей процес контролюється складними гормональними сигналами та дією специфічних генів, зокрема *StSP6A*, *StCDF1* та *StBEL5*, які тісно пов'язані з цукровим метаболізмом і фітогормональним статусом рослини [13].

Для цього дослідження було обрано сорт картоплі «*Red Scarlet*» завдяки його високому ринковому попиту, чудовим кулінарним якостям та адаптивності до різних умов вирощування. Його чутливість до методів культивування тканин робить його ідеальним кандидатом для оцінки інноваційних методів розмноження. Регулятори росту рослин (PPP) VAP та Kin, разом із різними концентраціями сахарози, були обрані на основі їх доведеної ефективності у

сприянні бульбоутворенню та збільшенню розміру та ваги мікробульб у попередніх дослідженнях. Як ВАР, так і Кін є відомими цитокинінами, що сприяють поділу та диференціації клітин, що є важливим для успішного формування мікробульб. Сахароза, як основне джерело вуглецю, забезпечує необхідну енергію для розвитку бульб [14].

2.2. Місце проведення дослідження

Це дослідження було проведено в Науковому центрі агробіотехнології Вірменського національного аграрного університету протягом 2021–2023 років. Безвірусні саджанці картоплі сорту «*Red Scarlet*», виведені голландською компанією з селекції картоплі HZPC

2.3. Рослинний матеріал та умови культивування

У цьому дослідженні було використано сорт картоплі ‘Red Scarlet’, обраний завдяки високій споживчій популярності, чудовим кулінарним властивостям і здатності добре адаптуватися до різних умов вирощування. В якості експлантатів застосовували вузлові сегменти безвірусних рослин цього сорту, отриманих шляхом *in vitro* культивування. Експлантати вирощували на середовищі MS, яке було загущене 0,5% агаром та доповнене різними концентраціями сахарози (20, 40, 60, 80, 100 і 120 г/л). До середовища також додавали фітогормони — ВАР (6-бензиламінопурин) та кінетин (Kin) — у концентраційному діапазоні від 0,0 до 5,0 мг/л, як окремо, так і в комбінаціях. Контрольним варіантом слугувало середовище без регуляторів росту [32].

Концентрації сахарози були підібрані на основі попередніх наукових даних, які свідчать про ключову роль джерела вуглецю у процесах мікробульбоутворення. Метою такого підбору було визначення оптимальних умов для стимуляції утворення мікробульб та досягнення їх максимально можливого розміру саме для сорту ‘Red Scarlet’, який широко застосовується як у наукових дослідженнях, так і в промисловому насінництві.

Фітогормональні режими були обрані з огляду на їхню відому здатність стимулювати клітинний поділ і диференціацію — ключові процеси, необхідні для формування мікробульб. ВАР та Кін, які активно використовуються в картопляній культурі тканин, перевіряли у різних концентраціях з метою оцінки їхнього впливу на бульбоутворення *in vitro*. Перед автоклавуванням поживного середовища (121 °С, 20 хвилин) його рН коригували до значення 5,8 [15].

2.4. Індукція мікробульб

Фаза індукції мікробульб розпочиналася після етапу розмноження *in vitro*. Культури утримували при температурі 22 ± 1 °С з фотоперіодом 8 годин освітлення і 16 годин темряви протягом 10 днів. Після цього рослини переносили в умови з розсіяним освітленням на два тижні для стимуляції формування бульб. Для посилення цього процесу культивування завершували при температурі 10 °С. Кожен експериментальний варіант включав 20 окремо культивованих експлантатів у скляних пробірках, а сам дослід проводили в трикратній повторності [16].

2.5. Загальний склад поживного середовища

Метод вирощування рослин *in vitro* набуває дедалі більшого значення в сучасних біотехнологічних та селекційних дослідженнях. Ключовим чинником успішного культивування є правильний добір поживного середовища, яке повинно задовольняти специфічні фізіолого-біохімічні потреби досліджуваного виду.

Базовим компонентом таких середовищ є мінеральні солі, які постачають рослинам необхідні макро- та мікроелементи. Найбільш широко вживаним середовищем є середовище Мурасіге і Скуга (MS), яке відзначається збалансованим складом мінеральних речовин. Детальна характеристика його мінеральної основи наведена нижче [17].

Приготування поживного середовища для культури рослин на основі MS (Murashige & Skoog, 1962):

Для успішного культивування рослин *in vitro* необхідно ретельно приготувати поживні розчини відповідно до стандартного рецепту MS-середовища. Це середовище включає комплекс макро- та мікроелементів, джерело заліза, органічні компоненти, вуглеводи та загусник [33].

Макроелементи (г/л)

Для створення маточних розчинів макроелементів компоненти розчиняють послідовно у бідистильованій воді в концентраціях, які у 10 разів перевищують робочі. Особливу увагу слід приділити кальцієвим солям ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) — їх готують окремо для запобігання осадженню:

- NH_4NO_3 – 16,5
- KNO_3 – 19,0
- $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 3,7
- KH_2PO_4 – 1,7
- $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ – 4,4

Мікроелементи (мг/л)

Мікроелементи готують у вигляді концентрованих розчинів (у 100 разів вищих за робочі). Сполуки, позначені зірочкою (*), розчиняють окремо:

- KI^* – 83
- H_3BO_3 – 620
- $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ – 2230
- $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 860
- $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}^*$ – 25
- $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ – 2,5
- $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ – 2,5

Джерело заліза (мг/100 мл)

Залізо вводиться у вигляді хелату. Для цього готують окремі розчини сульфату заліза та Na_2 -ЕДТА, які потім змішують у суворій послідовності (спочатку FeSO_4 , потім трилон Б):

- $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 557
- $\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ – 745

Органічні речовини (мг/мл)

Органічні добавки готують у вигляді окремих маточних розчинів із концентраціями, зручними для подальшого дозування. Ауксини розчиняють із використанням NaOH , цитокініни – у розведеному спирті або слабкому розчині лугу:

- Мезоінозит – 100
- Гідролізат казеїну – 1000
- Тіамін HCl (B_1), Піридоксин HCl (B_6), Нікотинова кислота, Фолієва кислота, Аденін сульфат, Гліцин – у співвідношенні 1:1 або зазначеному (від 1:1 до 1:10)
- Біотин – 1:4
- БАП – 1:5
- Кінетин – 1:5
- ІОК – 1:4
- НОК – 1:2

Додаткові компоненти

- Сахароза – 10 г/л
- Агар – 6 г/л

2.6. Оцінка виробництва мікробульб

Продукцію мікробульб оцінювали через 70 днів за різних концентрацій сахарози та обробок цитокінінами (BAP та Kin). Ключові вимірювані параметри включали кількість мікробульб на рослину, діаметр мікробульб (мм) та масу мікробульб (мг). Відсоток бульбоутворення розраховували за допомогою наступного рівняння:

$$\text{Бульбоутворення (\%)} = \left(\frac{\text{Кількість експлантів з бульбами}}{\text{Загальна кількість експлантів}} \right) \times 100$$

Отримані мікробульби були використані як посадковий матеріал як для тепличних, так і для аеропонних систем. Метою було оцінити потенціал використання мікробульб картоплі як методу збереження генетичного матеріалу та як альтернативи вирощуванню розсади *in vitro* [18].

РОЗДІЛ 3

Результати обраного дослідження

3.1. Вплив концентрації сахарози на індукцію та характеристики мікробульб

В даній роботі було досліджено вплив різних концентрацій сахарози на індукцію та характеристики мікробульб *in vitro*. Результати представлені в таблиці 3.1, тоді як на рисунках 3.1, 3.2 та 3.3 показано вплив сахарози на такі ключові параметри: кількість мікробульб на рослину (рисунок 3.1), масу мікробульб (рисунок 3.2) та діаметр мікробульб (рисунок 3.3) [34].

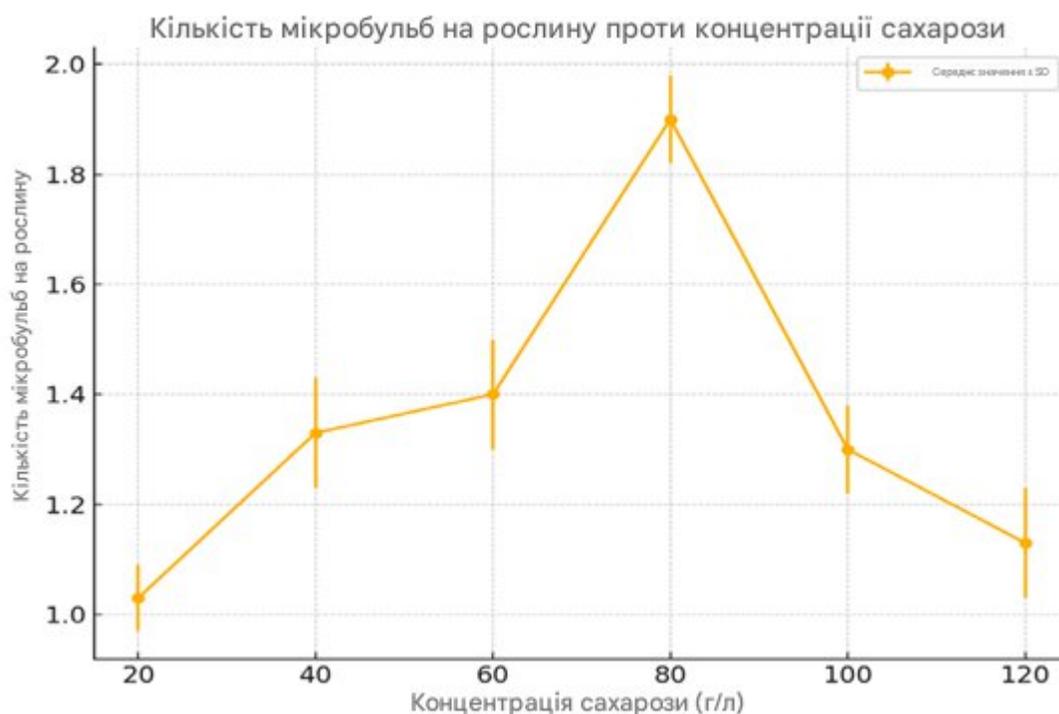


Рисунок 3.1. Середня кількість мікробульб на рослину за різних концентрацій сахарози.

Кількість мікробульб на рослину збільшувалася зі збільшенням концентрації сахарози, причому найбільша кількість (1,9 мікробульб на рослину) спостерігалася при 80 г/л. Помітне зменшення кількості мікробульб спостерігалася як при нижчих (20 г/л, 1,03 мікробульб), так і при вищих концентраціях (120 г/л, 1,13 мікробульб). Це свідчить про те, що проміжні

концентрації сахарози (близько 80 г/л) були найбільш сприятливими для формування мікробульб, сприяючи зародженню бульб. Натомість, як недостатня (20 г/л), так і надмірна (120 г/л) концентрації сахарози, ймовірно, пригнічували формування мікробульб, що вказує на важливість оптимальної доступності вуглеводів для ефективного розвитку бульб [35].

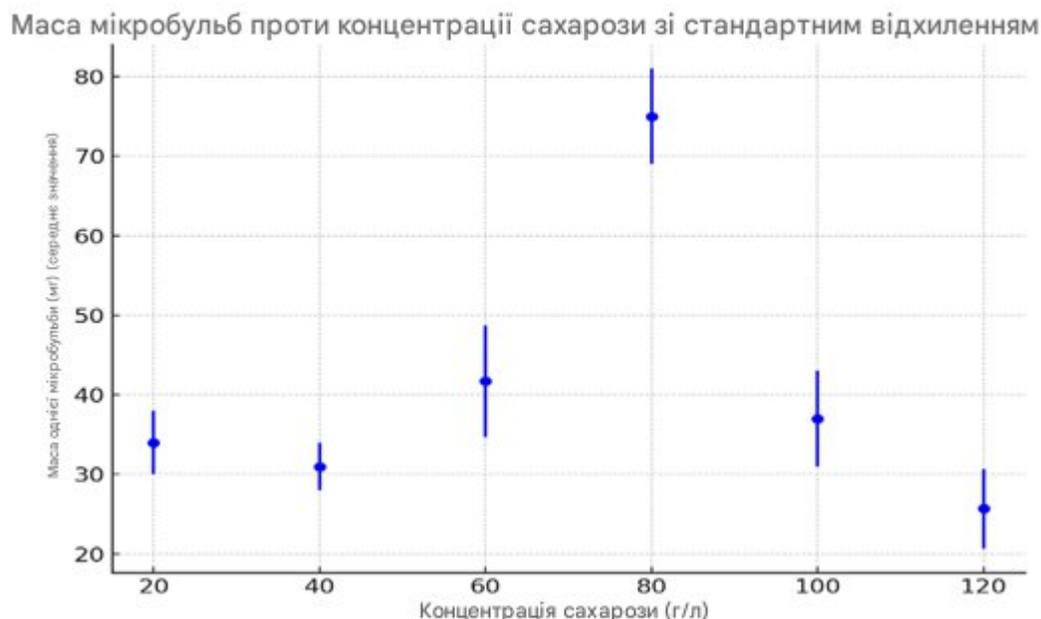


Рисунок 3.2. Маса однієї мікробульби за різних концентрацій сахарози

Маса окремих мікробульб була найбільшою при 80 г/л (75 мг), при цьому значно менші бульби спостерігалися при інших концентраціях, зокрема при 120 г/л, коли маса становила лише 25,7 мг. Нижчі концентрації сахарози (20 г/л та 40 г/л) також призводили до утворення відносно дрібних мікробульб.

Маса окремих мікробульб чітко корелювала з концентрацією сахарози, причому пікова маса при 80 г/л відповідала найвищому відсотку індукції та найбільшій кількості мікробульб на рослину. Зниження маси при обох екстремальних концентраціях сахарози (як занадто низькій, так і занадто високій) ймовірно було пов'язане з недостатнім надходженням вуглеводів або осмотичним стресом, що перешкоджало належному росту бульб [36].

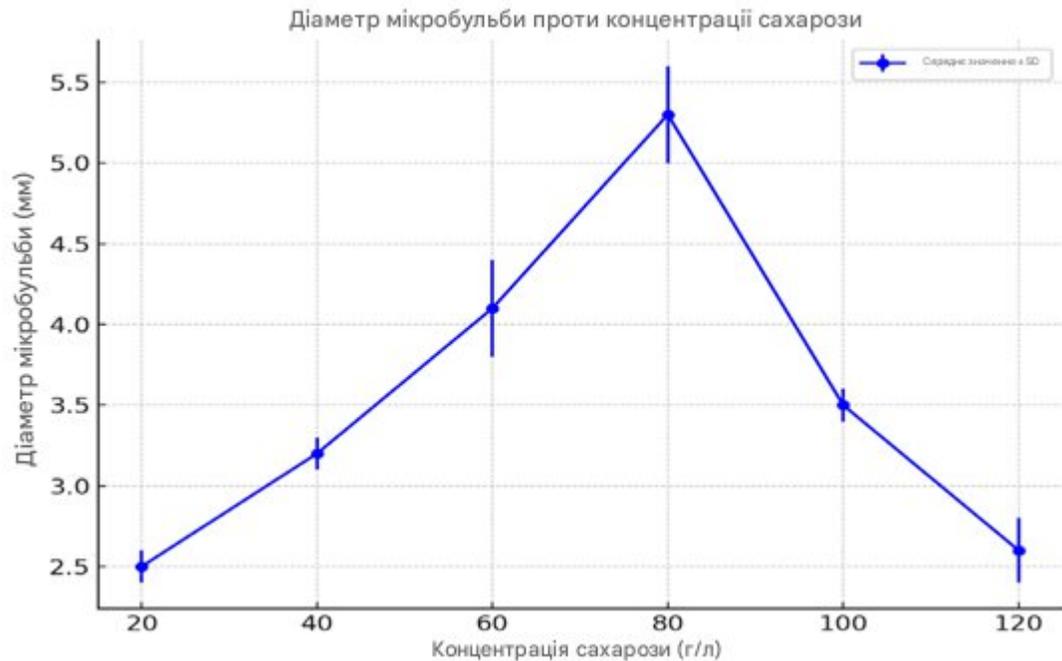


Рисунок 3.3. Діаметр мікробульб за різних концентрацій сахарози

Діаметр мікробульб спостерігав тенденцію, подібну до тенденції маси, причому найбільші діаметри спостерігалися на рівні 80 г/л (5,3 мм).

Менші діаметри спостерігалися як при нижчих, так і при вищих концентраціях сахарози: 2,5 мм при 20 г/л та 2,6 мм при 120 г/л. Діаметр мікробульб відображав загальний ріст, причому 80 г/л забезпечували оптимальні умови для формування та розширення бульб. Нижчі концентрації сахарози, ймовірно, обмежували розширення бульб через недостатнє надходження вуглеводів, тоді як вищі концентрації могли викликати осмотичний стрес, обмежуючи ріст.

Нижче наведена таблиця 3.1. в якій ілюструється вплив різних концентрацій сахарози на процес утворення мікробульб у рослин. Представлені показники включають відсоток рослин, що формують мікробульби, середню кількість мікробульб на рослину, а також масу і діаметр окремої мікробульби при різних рівнях сахарози (г/л). Це дозволяє оцінити оптимальні умови для стимуляції росту мікробульб [19].

Вплив концентрації сахарози на індукцію мікробульб у картоплі

Концентрація сахарози (г/л)	Відсоток рослин, у яких утворюються мікробульби (%)	Кількість мікробульб на рослину (шт)	Маса однієї мікробульби (мг)	Діаметр однієї мікробульби (мм)
20	10,0 ± 2,1	1,03 ± 0,06	34,0 ± 4,0	2,5 ± 0,1
40	38,0 ± 3,5	1,33 ± 0,10	31,0 ± 3,0	3,2 ± 0,1
60	46,5 ± 3,0	1,40 ± 0,10	41,7 ± 7,0	4,1 ± 0,3
80	63,3 ± 4,2	1,90 ± 0,08	75,0 ± 6,0	5,3 ± 0,3
100	50,4 ± 2,8	1,30 ± 0,08	37,0 ± 6,0	3,5 ± 0,1
120	46,6 ± 3,1	1,13 ± 0,10	25,7 ± 5,0	2,6 ± 0,2

З таблиці 3.1. видно, що відсоток рослин, які утворили мікробульби, збільшувався зі збільшенням концентрації сахарози, досягнувши піку на рівні 80 г/л, при якому 63,3% рослин утворили мікробульби. Після цього піку відсоток дещо знизився на рівні 100 г/л (50,4%) і ще більше знизився на рівні 120 г/л (46,6%). Ця тенденція вказує на те, що концентрація сахарози суттєво вплинула на індукцію мікробульб, причому оптимальною концентрацією була 80 г/л. Вищі концентрації, зокрема 100 г/л та 120 г/л, призвели до зниження ефективності індукції, ймовірно, через осмотичний стрес або інгібуючий вплив підвищеного рівня цукру на бульбоутворення [37].

3.2. Вплив цитокінінів на формування бульб

Після визначення оптимальної концентрації сахарози 80 г/л для мікротуберизації, цитокініни, зокрема ВАР та Кін, були протестовані для оцінки їхнього впливу на формування бульб. Як показано в таблиці 3.2., обробка цитокінінами підвищила рівень бульбоутворення порівняно з контролем (55,5%), причому найвищі показники бульбоутворення спостерігалися при 3 мг/л ВАР (90%) та 4 мг/л Кін (80,5%).

Таблиця 3.2.

Вплив ВАР та Кін на швидкість бульбоутворення сорту картоплі « *Red Scarlet* » за умови вмісту сахарози 80 г/л

Обробка	Концентрація цитокініну (мг/л)	Рівень бульбоутворення (%)
Контроль	0	55, 5
ВАР	0,25	56, 7
	0,5	60, 0
	1,0	66, 6
	2,0	70,0
	2,5	75, 0
	3,0	90, 0
	4,0	55, 0
	5,0	36, 5
Кін	0,25	56, 6
	0,5	60, 0
	1,0	66, 7
	2,0	70, 0
	2,5	71, 7
	3,0	76, 5

Роблячи висновок з таблиці 3.2., при обробці ВАР бульбоутворення постійно зростало з концентрацією, досягнувши піку на рівні 3,00 мг/л, при якому спостерігався найвищий рівень бульбоутворення – 90,0%. Однак, концентрації вище 3,00 мг/л (4,00 та 5,00 мг/л) призвели до значного зниження рівня бульбоутворення (до 55,0% та 36,5% відповідно). Це свідчить про те, що вищі концентрації ВАР, що перевищують оптимальний рівень, пригнічують утворення бульб.

Аналогічно, обробка препаратом Кін призвела до збільшення відсотка бульбоутворення зі зростанням концентрації, з максимальним показником 80,5% при 4,00 мг/л. При найвищій концентрації (5,00 мг/л) рівень бульбоутворення знизився до 46,6%, що відображає інгібуючий ефект, що спостерігався при вищих концентраціях ВАР.

Обидва цитокініни продемонстрували чіткі оптимальні концентрації для бульбоутворення, причому 3,00 мг/л ВАР та 4,00 мг/л Кін забезпечили найвищі показники бульбоутворення. За межами цих концентрацій бульбоутворення знижувалося, що вказує на те, що надмірний рівень будь-якого з цитокінінів може мати гальмівний вплив на формування бульб.

Вплив цих фітогормональних обробок на характеристики росту мікробульб додатково проілюстровано в таблиці 3.3, де наведено вичерпний огляд даних [20].

Таблиця 3.3.

Аналіз впливу фітогормональних обробок на характеристики росту мікробульб

Обробка	Концентрація фітогормонів (мг/л)	Кількість мікробульб на рослину	Вага однієї мікробульби (мг)	Діаметр однієї мікробульби (мм)

		(шт)		
Контроль	0,00	$1,60 \pm 0,10$	$60,0 \pm 0,10$	$5,30 \pm 0,10$
ВАР	0,25	$1,95 \pm 0,08$	$90,0 \pm 10,0$	$6,25 \pm 0,05$
	0,50	$2,30 \pm 0,08$	$130,0 \pm 10,0$	$6,67 \pm 0,15$
	1.0	$2,95 \pm 0,10$	$150,0 \pm 20,0$	$6,80 \pm 0,10$
	2.0	$3,48 \pm 0,15$	$260,0 \pm 20,0$	$7,17 \pm 0,15$
	2.5	$4,10 \pm 0,15$	$350,0 \pm 20,0$	$7,45 \pm 0,05$
	3.0	$4,60 \pm 0,10$	$410,0 \pm 20,0$	$8,43 \pm 0,20$
	4.0	$3,70 \pm 0,14$ °C	$370,0 \pm 10,0$	$6,50 \pm 0,38$

Продовження таблиці 3.3.

ВАР	5.0	1,40 ± 0,15	50,0 ± 20,0	4,50 ± 0,20
Кін	0,25	2,50 ± 0,14	70,0 ± 10,0	4,15 ± 0,10
	0,50	2,75 ± 0,16	80,0 ± 20,0	4,25 ± 0,12
	1.0	3,40 ± 0,15	90,0 ± 10,0	4,43 ± 0,15
	2.0	3,85 ± 0,10	100,0 ± 20,0	4,10 ± 0,26
	2.5	3,65 ± 0,16	120,0 ± 20,0	4,20 ± 0,26
	3.0	4,00 ± 0,10	110,0 ± 20,0	4,50 ± 0,20
	4.0	3,40 ± 0,08	140,0 ± 10,0	4,00 ± 0,10
	5.0	2,10 ± 0,16	90,0 ± 10,0	3,13 ± 0,20

Дані таблиці 3.3. свідчать що:

БАП: Спостерігалось стабільне збільшення кількості мікробульб на пагін зі збільшенням концентрації БАП. Починаючи з контролю (1,60 мікробульб на пагін), кількість майже потроїлася при піковій концентрації 3,0 мг/л, досягнувши 4,60 мікробульб на пагін. Після цього піку спостерігалось зниження продуктивності при вищих концентраціях.

Щодо ваги мікробульб, ВАР значно збільшив їхню вагу, при цьому контрольний узор продукував $60,0 \pm 10,0$ мг, а 3,0 мг/л ВАР дав вражаючі $410,0 \pm 40,0$ мг. Це майже семикратне збільшення порівняно з контролем. Однак концентрації вищі за 3,0 мг/л призвели до зниження ваги.

Діаметр мікробульб мав аналогічну тенденцію до зростання, причому найбільший діаметр ($8,43 \pm 0,20$ мм) був зафіксований при концентрації 3,0 мг/л БАП порівняно з $5,30 \pm 0,10$ мм у контролі. Концентрації вище 3,0 мг/л призводили до зменшення розміру бульб.

Кін: Хоча Кін також сприяв утворенню мікробульб, збільшення було помірнішим порівняно з БАП. При концентрації Кін 3,0 мг/л кількість

мікробульб досягла піку в $4,00 \pm 0,10$ на пагін. З подальшим збільшенням концентрації спостерігалася помітне зниження кількості мікробульб. Вага мікробульб при обробці Кін не досягла тих самих рівнів, що й при БАП. Найбільша вага ($140,0 \pm 10,0$ мг) спостерігалася при концентрації Кін $4,0$ мг/л. Однак, як і у випадку з БАП, вищі концентрації призвели до зменшення ваги.

Що стосується діаметра мікробульб, Кін мав слабший ефект, при цьому найбільший діаметр спостерігався на рівні $3,0$ мг/л ($4,50 \pm 0,20$ мм), що було меншим порівняно з результатами, отриманими з ВАР.

Позитивна кореляція спостерігалася між кількістю мікробульб на пагін, їхньою вагою та діаметром для обох фітогормонів (ВАР та Кін). Зі збільшенням кількості мікробульб їхня вага та діаметр також збільшувалися, особливо при обробці ВАР. Це свідчить про те, що вищі концентрації ВАР та Кін загалом сприяли посиленому росту. Однак надмірні концентрації, особливо вище $3,0$ мг/л для ВАР та $5,0$ мг/л для Кін, призводили до зменшення як кількості, так і розміру мікробульб, що свідчить про зменшення віддачі.

Цитокініни стимулювали процес мікробульбоутворення, перетворюючи вертикальні пагони на горизонтальні stolони, які потім росли вниз, утворюючи бульби (рисунок 3.4) [21].



Рисунок 3.4. Розвиток мікробульб *in vitro* сорту картоплі « *Red Scarlet* » під дією ВАР ($3,0$ мг/л) та сахарози (80 г/л).

ВИСНОВКИ

У межах даного дослідження було всебічно проаналізовано вплив різних рівнів сахарози, фітогормонів на процеси ініціації й розвитку мікробульб картоплі. Отримані дані засвідчили ключове значення сахарози для стимулювання мікробульбоутворення: підвищення її концентрації покращувало індукцію, проте лише до певного рівня. Надлишок цукру в середовищі, навпаки, призводив до осмотичного стресу, що пригнічував клітинний поділ і розширення.

Найсприятливішими для формування мікробульб виявилися умови з вмістом сахарози 80 г/л — саме при цій концентрації досягнуто найвищого рівня індукції (63,3%), середній діаметр бульб становив 5,3 мм, а маса — 0,065 г. Подібні результати раніше фіксували також інші дослідники (Wazir et al., 2015; Fufa & Diro, 2014), що підтверджує релевантність вибраних параметрів. Біологічна основа таких результатів, найімовірніше, полягає у гармонійному співвідношенні між доступною енергією з сахарози та осмотичним тиском середовища, як стверджують Cui et al. (2010) та Asghari (2023).

Водночас деякі автори (наприклад, Mohamed & Girgis, 2023) повідомляють про вищі оптимальні концентрації (до 90 г/л), що свідчить про можливу сортову специфіку або вплив зовнішніх чинників, зокрема температури чи світлового режиму. При підвищенні концентрації сахарози до 100–120 г/л відмічено зниження індукції та зменшення розміру бульб, що підтверджує негативний вплив осмотичного дисбалансу. Це узгоджується з попередніми висновками щодо пригнічення морфогенезу надлишком цукру.

Концентрації сахарози в межах 40–60 г/л забезпечували помірні показники — утворювалися бульби середнього розміру з помірною індукцією, що відповідає результатам Hossain et al. (2017), які вказували на ефективність таких умов для накопичення енергії. Натомість при 20 г/л значно знижувалася

частота бульбоутворення (до 10%) і зменшувався розмір бульб, що демонструє недостатнє вуглеводне забезпечення.

Цікаво, що за нижчих концентрацій формувалися менше, але більші за масою бульби, що можна пояснити меншою конкуренцією за обмежені ресурси. Однак саме 80 г/л виявилися найкращими умовами для досягнення балансу між доступністю вуглеводів та осмотичною стабільністю, що сприяло активному клітинному поділу та росту. У той же час, перевищення цього порогу негативно впливало на індукцію, що, імовірно, пов'язано зі зниженням тургору.

Щодо регуляторів росту, найвищу ефективність показав ВАР у концентрації 3,0 мг/л — саме за таких умов відмічено максимальні показники кількості, маси та розміру мікробульб. Ці результати підтверджують спостереження Sosnowsky et al. (2023) та Mohamed et al. (2023), хоча в деяких роботах оптимальні концентрації ВАР були вищими (до 5,0 мг/л). Така різниця, ймовірно, пояснюється сортовими особливостями або специфікою умов проведення експериментів. Хоча кінетин також мав позитивний вплив, його ефективність поступалася ВАР, особливо щодо морфометричних характеристик бульб, що узгоджується з уявленням про вищу активність ВАР як цитокініну для стимулювання мікробульбоутворення.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Алімова, О. М. Біотехнологія рослин: навч. посіб. / О. М. Алімова. – Київ: Центр учбової літератури, 2017. – 248 с.
2. Безус, Н. О. Мікроклональне розмноження картоплі: особливості процесу та його оптимізація / Н. О. Безус // Вісник аграрної науки. – 2020. – № 2. – С. 45–50.
3. Білик, В. М. Вплив цукрів на морфогенез картоплі *in vitro* / В. М. Білик // Біотехнологія. – 2019. – Т. 12, № 3. – С. 72–78.
4. Войтенко, Л. В. Основи біотехнології рослин / Л. В. Войтенко. – Київ: Либідь, 2016. – 312 с.
5. Гевко, Р. Б. Вирощування мікробульб картоплі в умовах *in vitro* / Р. Б. Гевко // Сільське господарство та лісівництво. – 2021. – № 5. – С. 89–93.
6. Григоренко, О. О. Сахароза як джерело вуглецю в культурі *in vitro* картоплі / О. О. Григоренко, І. М. Карпенко // Біологічні системи. – 2020. – Т. 12, № 1. – С. 59–65.
7. Дьяків, Ю. С. Сучасні підходи до культивування картоплі в лабораторних умовах / Ю. С. Дьяків // Біотехнологія XXI століття. – 2018. – № 4. – С. 33–39.
8. Жук, М. В. Фітогормони і мікробульбоутворення у картоплі / М. В. Жук // Агробіологія. – 2022. – № 3. – С. 101–106.
9. Коваль, С. В. Роль поживного середовища у процесах мікроклонального розмноження / С. В. Коваль // Вісник Черкаського національного університету. Серія: Біологічні науки. – 2021. – № 1. – С. 54–58.
10. Коваленко, І. Г. Методи мікророзмноження сільськогосподарських культур / І. Г. Коваленко. – Харків: Основа, 2015. – 220 с.
11. Кушнарєнко, Ю. М. Основи біотехнології: лабораторний практикум / Ю. М. Кушнарєнко, О. І. Таран. – Дніпро: ДНУ, 2018. – 140 с.

12. Лисенко, Н. І. Оптимізація складу поживного середовища для індукції мікробульб / Н. І. Лисенко // Вісник Харківського нац. аграрного ун-ту. – 2019. – № 2(43). – С. 60–64.
13. Мельничук, М. Д. Агробіотехнологія картоплі / М. Д. Мельничук. – Київ: Аграрна наука, 2018. – 280 с.
14. Остапенко, С. І. Модифікація середовищ *in vitro* для стимуляції мікробульб / С. І. Остапенко // Наукові праці НУБіП. – 2020. – Вип. 273. – С. 112–117.
15. Тарасюк, Л. М. Технологічні аспекти вирощування мікробульб картоплі в лабораторних умовах / Л. М. Тарасюк, І. О. Федоренко // Науковий вісник УжНУ. Серія: Біологія. – 2022. – Вип. 55. – С. 134–139.
16. Sawicka, B.; Umachandran, K.; Pszczółkowski, P. Innovative Potato Production Technology and Its Influence on Quality of Tubers. In Proceedings of the International Conference on Emerging Technology and Interdisciplinary Sciences, Online, 4 December 2021; P. 174–195.
17. Gong, H.; Igiraneza, C.; Dusengemungu, L. Major In Vitro Techniques for Potato Virus Elimination and Post Eradication Detection Methods. A Review. *Am. J. Potato Res.* 2019, P. 96.
18. Anikina, I.; Kamarova, A.; Issayeva, K.; Issakhanova, S.; Mustafayeva, N.; Insebayeva, M.; Mukhamedzhanova, A.; Khan, S.M.; Ahmad, Z.; Lho, L.H.; et al. Plant Protection from Virus: A Review of Different Approaches. *Front. Plant Sci.* 2023, P. 14.
19. Diener, T.O. Potato Spindle Tuber “Virus”: IV. A Replicating, Low Molecular Weight RNA. *Virology* 1971, P. 45.
20. Navarro, B.; Turina, M. Viroid and Viroid-Like Elements in Plants and Plant-Associated Microbiota: A New Layer of Biodiversity for Plant Holobionts. *New Phytol.* 2024, P. 244.

21. Herrera-Isidron, L.; Valencia-Lozano, E.; Uribe-Lopez, B.; Délano-Frier, J.P.; Barraza, A.; Cabrera-Ponce, J.L. Molecular Insights into the Role of Sterols in Microtuber Development of Potato *Solanum tuberosum* L. *Plants* 2024, P. 13.
22. Rahman, M.H.; Islam, M.J.; Mumu, U.H.; Ryu, B.-R.; Lim, J.-D.; Azad, M.O.K.; Cheong, E.J.; Lim, Y.-S. Effect of Light Quality on Seed Potato (*Solanum tuberosum* L.) Tuberization When Aeroponically Grown in a Controlled Greenhouse. *Plants* 2024, P. 737.
23. Rahman, M.H.; Islam, M.J.; Mumu, U.H.; Ryu, B.-R.; Lim, J.-D.; Azad, M.O.K.; Cheong, E.J.; Lim, Y.-S. The Growth and Tuber Yield of Potatoes (*Solanum tuberosum* L.) under Varying LED Light Spectrums in Controlled Greenhouse Conditions. *Horticulturae* 2024, P. 254.
24. Buckseth, T.; Singh, R.K.; Tiwari, J.K.; Sharma, A.K.; Singh, S.; Chakrabarti, S.K. A novel sustainable aeroponic system for healthy seed potato production in India – An update. *Indian J. Agric. Sci.* 2020, P. 243–248.
25. Bročić, Z.; Oljača, J.; Pantelić, D.; Rudić, J.; Momčilović, I. Potato Aeroponics: Effects of Cultivar and Plant Origin on Minituber Production. *Horticulturae* 2022, P. 8.
26. Barbaś, P.; Sawicka, B.; Pszczółkowski, P.; Hameed, T.S.; Farhan, A.K. Optimization of Potato Cultivation Through the Use of Biostimulator Supporter. *Agronomy* 2024, P. 146.
27. Martirosyan, Y.T.; Kharchenko, P.N. Plant Tray and Aerohydroponic Plant with Its Use. Patent RF No RU88246U1; Bulletin No 31, P. 10.
28. Martirosyan, Y.T.; Kosobryukhov, A.A.; Martirosyan, V.V. Aeroponic Technologies in Virus-Free Seed Production: Advantages and Perspectives. *Dostizheniya Nauk. I Tekhniki APK* 2016, P. 47–51.
29. Tunio, M.H.; Qureshi, S.A.; Naeem, F.; Lakhari, I.A.; Memon, N.A.; Chandio, F.A.; Bhatti, A.A. Potato Production in Aeroponics: An Emerging Food

Growing System in Sustainable Agriculture for Food Security. *Chil. J. Agric. Res.* 2020, P. 118–132.

30. Wheeler, R.; Herridge, L. NASA Plant Researchers Explore Question of Deep-Space Food Crops. NASA. 2016. P. 231.

31. Kargapolova, K.Y.; Burygin, G.L.; Tkachenko, O.V.; Evseeva, N.V.; Pukhalskiy, Y.V.; Belimov, A.A. Effectiveness of Inoculation of In Vitro-Grown Potato Microplants with Rhizosphere Bacteria of the Genus *Azospirillum*. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 2020, P. 351–359.

32. Mamiya, K.; Tanabe, K.; Onishi, N. Production of Potato (*Solanum tuberosum* L.) Microtubers Using Plastic Culture Bags. *Plant Biotechnol.* 2020, P. 233–238.

33. Boubaker, H.; Saadaoui, W.; Dasgan, H.Y.; Tarchoun, N.; Gruda, N.S. Enhancing Seed Potato Production from In Vitro Plantlets and Microtubers Through Biofertilizer Application: Investigating Effects on Plant Growth, Tuber Yield, Size, and Quality. *Agronomy* 2023, P. 13.

34. Sadawarti, M.; Pandey, K.K.; Singh, B.P.; Samadiya, R.K. A Review on Potato Microtuber Storability and Dormancy. *J. Appl. Nat. Sci.* 2016, P. 231.

35. Yagiz, A.K.; Yavuz, C.; Tarim, C.; Demirel, U.; Caliskan, M.E. Effects of Growth Regulators, Media, and Explant Types on Microtuberization of Potato. *Am. J. Potato Res.* 2020, P. 523–530.

36. Daurov, D.; Daurova, A.; Sapakhova, Z.; Kanat, R.; Akhmetzhanova, D.; Abilda, Z.; Toishimanov, M.; Raissova, N.; Otyshiyev, M.; Zhambakin, K.; et al. The Impact of Growth Regulators and Cultivation Conditions of Temporary Immersion Systems (TISs) on the Morphological Characteristics of Potato Explants and Microtubers. *Agronomy* 2024, P. 178.

37. Reisi, A.; Askari, N.; Sadat Hosseini, M.; Motlagh, B.P.; Ghahremani, R. Far-Red Spectrum Leads to Enhanced In Vitro Microtuberization in Potato (*Solanum tuberosum* cv. Sante). *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 2024, P. 45.