

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

Допущено до захисту

Завідувач кафедри Коваленко В.М.

«»2025 р.

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА
ОСВІТНЬОГО СТУПЕНЯ «МАГІСТР»

Вплив концентрації цукрів в поживному середовищі на
формування мікробульб в картоплі
за спеціальністю G21 «Біотехнологія та біоінженерії»

Виконав

.Балін М.В.

Прізвище, ініціали

Група

БІО 2401-1м

Назва групи

Науковий керівник

Коваленко В.М.

Прізвище, ініціали

Суми – 2025

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

Кафедра біотехнології та хімії
Освітній ступінь - "Магістр"
Спеціальність –G21 «Біотехнологія та біоінженерії»

“ЗАТВЕРДЖУЮ”:
Завідувач кафедри
_____ В.М. Коваленко
" ____ " _____ 2025 р.

ЗАВДАННЯ
на кваліфікаційну роботу
Балін Микола Володимирович
ПІБ студента

1. Тема роботи " Вплив концентрації цукрів в поживному середовищі на формування мікробульб в картоплі"

Затверджено наказом по університету від “ ____ ” _____ 202__ р. № _____

2. Термін здачі студентом закінченої роботи на кафедру _____.

3. Вихідні дані до роботи:

- місце проведення досліджень: ННВК СНАУ _____

- методичне забезпечення: _____

- схема дослідю: _____

4. Перелік завдань, які будуть виконуватися в роботі: _____

Керівник кваліфікаційної роботи к.с.-г.н., доцент Коваленко В.М.

Завдання прийняв до виконання _____

Дата отримання завдання « ____ » _____ 2025 р.

АНОТАЦІЯ

Балін М.В. «Вплив концентрації цукрів у поживному середовищі на формування мікробульб картоплі *in vitro*».

Кваліфікаційна робота на здобуття освітнього ступеня магістр за спеціальністю G21 – Біотехнологія та біоінженерії. – Сумський національний аграрний університет Міністерства освіти і науки України, Суми, 2025.

У роботі наведено результати досліджень щодо впливу різних концентрацій сахарози на ріст, розвиток і формування мікробульб картоплі сортів Корінна та Княгиня в умовах культури *in vitro*. Дослідження проводилися з використанням живильного середовища Murashige & Skoog з варіюванням рівня сахарози від 0 до 11 %.

Отримані результати показали, що рівень сахарози суттєво впливає на морфогенетичні процеси картоплі. Для сорту Корінна оптимальною виявилася концентрація 3 %, за якої спостерігалися найвищі показники росту пагонів і коренів. Для сорту Княгиня найкращі результати зафіксовано при 8–11 % сахарози, що свідчить про більшу стійкість цього сорту до підвищеного осмотичного тиску середовища.

Під час дослідження процесу мікробульбоутворення встановлено, що для сорту Корінна найбільша кількість і маса мікробульб формувалася при концентрації сахарози 8 %, тоді як для сорту Княгиня — при 11 %. Це підтверджує сортоспецифічну реакцію картоплі на концентрацію вуглеводів та її важливість для оптимізації умов культивування.

Практичне значення отриманих результатів полягає у визначенні оптимальних параметрів поживного середовища для мікроклонального розмноження картоплі різних сортів. Використання запропонованих концентрацій сахарози дозволить підвищити ефективність виробництва безвірусного садивного матеріалу, скоротити тривалість культивування та забезпечити високу якість отриманих мікробульб.

Ключові слова: картопля, *in vitro*, мікробульбоутворення, сахароза, Murashige & Skoog, сорти Корінна та Княгиня.

ANNOTATION

Balin M.V. “The Influence of Sugar Concentration in the Nutrient Medium on the Formation of Potato Microtubers in vitro.”

Master’s qualification thesis for obtaining the educational degree Master in the specialty G21 – Biotechnology and Bioengineering. – Sumy National Agrarian University of the Ministry of Education and Science of Ukraine, Sumy, 2025.

The thesis presents the results of research on the influence of different sucrose concentrations on the growth, development, and formation of potato microtubers of the Korinna and Knyahynya varieties under in vitro culture conditions. The study was conducted using the Murashige & Skoog nutrient medium with sucrose levels ranging from 0 to 11%.

The results showed that sucrose concentration significantly affects the morphogenetic processes of potato plants. For the Korinna variety, the optimal concentration was 3%, which ensured the highest rates of shoot and root growth. For the Knyahynya variety, the best results were observed at 8–11% sucrose, indicating a higher tolerance of this variety to increased osmotic pressure of the medium.

During the study of the microtuber formation process, it was established that for Korinna, the largest number and mass of microtubers were formed at 8% sucrose concentration, while for Knyahynya – at 11%. This confirms the variety-specific response of potatoes to carbohydrate concentration and its importance for optimizing cultivation conditions.

The practical significance of the obtained results lies in determining the optimal parameters of the nutrient medium for microclonal propagation of different potato varieties. The use of the proposed sucrose concentrations will increase the efficiency of virus-free planting material production, shorten the cultivation period, and ensure high quality of the obtained microtubers.

Keywords: potato, in vitro, microtuber formation, sucrose, Murashige & Skoog, Korinna and Knyahynya varieties.

ЗМІСТ

ВСТУП	6
РОЗДІЛ 1	8
АНАЛІЗ ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ ЩОДО МІКРОБУЛЬБОУТВОРЕННЯ У КУЛЬТУРІ IN VITRO	8
1.1. Особливості культури картоплі	8
1.2 Розвиток біотехнологій у вирощуванні картоплі.	9
1.3 Вплив факторів поживного середовища на морфогенез картоплі in vitro	15
1.4. Застосування мікробульб у насінництві картоплі	23
1.5. Значення цукрів у середовищі для ініціації та розвитку мікробульб	26
1.6. Вплив температури на мікробульбоутворення	28
РОЗДІЛ 2	30
УМОВИ ТА МЕТОДИКА ПРОВЕДЕННЯ ДОСЛІДЖЕННЯ	30
2.1. Місце проведення дослідження	30
2.2 Схема досліду	30
РОЗДІЛ 3	33
РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ	33
3.1. Залежність ростових параметрів сортів Кіранда та Княгиня від рівня сахарози в середовищі	33
3.2. Вплив концентрації сахарози на мікробульбоутворення сортів картоплі Кіранда та Княгиня in vitro	36
ВИСНОВКИ	42
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	45

ВСТУП

Картопля є однією з найважливіших продовольчих культур у світі та має вагоме значення для агропромислового комплексу України. Вона посідає провідне місце серед коренеплодів за площею вирощування та врожайністю, забезпечуючи населення цінним харчовим продуктом, а тваринництво – поживними кормами. Основним чинником стабільного виробництва високоякісної продукції картоплі є використання здорового, генетично чистого та сортового садивного матеріалу.

У традиційному насінництві картоплі основною проблемою є швидке накопичення вірусних і бактеріальних інфекцій, що призводить до деградації сортів та зниження врожайності. Саме тому сучасні технології біотехнологічного розмноження, зокрема методи культури тканин *in vitro*, набувають дедалі більшого значення у виробництві безвірусного садивного матеріалу. Одним із ключових етапів цього процесу є формування мікробульб, що дозволяє отримати посадковий матеріал у стерильних умовах із високим коефіцієнтом розмноження та збереженням сортової чистоти.

Важливим фактором, який визначає успішність мікробульбоутворення, є склад поживного середовища, зокрема концентрація вуглеводів. Цукри, зокрема сахароза, виступають основним джерелом енергії для клітинних процесів, а також впливають на осмотичний тиск середовища, регулюючи баланс між ростом, диференціацією і накопиченням запасних речовин. Надлишок або нестача цукрів може суттєво змінювати морфогенетичну реакцію рослин, тому визначення оптимальної концентрації сахарози для різних сортів картоплі є важливим завданням для вдосконалення технології мікроклонального розмноження.

Актуальність теми зумовлена необхідністю підвищення ефективності лабораторного розмноження елітних сортів картоплі з використанням оптимізованих середовищ *in vitro*. Дослідження реакції різних сортів на рівень сахарози дозволить покращити якість і кількість отриманих

мікробульб, скоротити тривалість культивування та підвищити продуктивність біотехнологічних процесів.

Мета дослідженн – визначити вплив різних концентрацій сахарози на ріст, розвиток і мікробульбоутворення картоплі сортів Корінна та Княгиня в умовах *in vitro*.

Завдання дослідження:

1. Дослідити вплив концентрації сахарози на швидкість проростання пагонів і коренів картоплі.
2. Визначити основні морфологічні параметри росту рослин при різних концентраціях цукрів.
3. Оцінити вплив рівня сахарози на формування мікробульб і кількість вічок у різних сортів картоплі.
4. Встановити оптимальні умови для стимулювання росту та мікробульбоутворення кожного з досліджуваних сортів.

Об'єкт дослідження – сорти картоплі Корінна та Княгиня.

Предмет дослідження – вплив концентрації сахарози в поживному середовищі Murashige & Skoog на ріст і формування мікробульб картоплі *in vitro*.

Практичне значення роботи полягає у розробці рекомендацій щодо підбору оптимальної концентрації сахарози для кожного сорту, що може бути використано в лабораторіях мікроклонального розмноження картоплі. Отримані результати сприятимуть підвищенню ефективності виробництва безвірусного садивного матеріалу та вдосконаленню технологій біотехнологічного насінництва.

Структура та обсяг роботи: Дипломна робота викладена на 48 сторінках комп'ютерного набору та складається зі вступу, трьох розділів, висновків, списку використаних джерел і додатків. Робота містить 5 таблиць, 3 рисунки та 37 використане джерело літератури.

РОЗДІЛ 1

АНАЛІЗ ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ ЩОДО МІКРОБУЛЬБОУТВОРЕННЯ У КУЛЬТУРІ IN VITRO

1.1. Особливості культури картоплі

Паслін бульбоподібний (*Solanum tuberosum*) – трав'яниста рослина, що виростає до 0,4–1,4 м заввишки та може бути від прямостоячого до повністю розпростертого.[1] Стебла варіюються від майже безволосих до густо опушених, можуть бути зеленими, фіолетовими або плямистими зелено-фіолетовими. Листя перисте, з одним кінцевим листком і трьома або чотирма парами великих яйцеподібних листочків з меншими між ними. Розмір листя коливається від 8 до 22 x 5–13 см, а черешки – від 2 до 6 см. Вони середньо-зелені до темно-зеленого кольору, і, як і стебла, можуть бути опушеними від майже безволосих до густо опушених з обох боків.[2]

Рослини *S. tuberosum* утворюють кореневища (часто їх називають столонами) з рудиментарним листям, зазвичай гачкоподібними на кінчику. Вони походять з базальних вузлів стебла, зазвичай під землею, з можливістю до трьох кореневищ на вузол. Бульби, кулястої або яйцеподібної форми, є здуттями кореневища. М'якоть бульб варіюється за кольором від білого до жовтого та синього, а шкірка варіюється від білого через жовтий до коричневого та від червоного до синього. Колір м'якоті може відповідати або не відповідати кольору шкірки. Текстура поверхні може варіюватися від гладкої до сітчастої або іржавої (Spooner and Salas 2006). На поверхні бульби розташовані пазушні бруньки з рубцями лусочок, які називаються очками (Struik 2007). Коли бульби садять, очки розвиваються в стебла, утворюючи наступне вегетативне покоління.[3]

Кінцеві суцвіття – це завитки довжиною 5-11 см, які зазвичай розташовані в дистальній половині рослини. Суцвіття зазвичай гіллясті та можуть містити до 25 квіток. Квітконіжка має довжину 0-22 см, а квітконіжки

– 10-35 мм у квітці та плоді, розташовані на відстані 1-10 мм одна від одної. П'ятичленні квітки діаметром 3-4 см мають ідеальну форму та однакову довжину. Віночок може бути різних кольорів, включаючи білий, рожевий, бузковий, синій, фіолетовий та червоно-фіолетовий. Колір може бути однорідним, або загострені кінчики пелюсток можуть бути білими, або може бути другий колір, або крапчастий, у вигляді смуг або зірки, і це може відбуватися по обидва боки віночка. Пелюстки зростаються, утворюючи трубчасту квітку. Тичинки мають нитки довжиною 1-2 мм та пильовики довжиною 3-8 мм. Пильовики утворюють конусоподібну структуру завдяки бічним з'єднанням, що слугує для приховування зав'язі. Вони зазвичай яскраво-жовті або помаранчеві, за винятком рослин із чоловічою стерильністю, у яких пильовики світло-жовті або жовто-зелені. Розмір цвіту становить 9-13 мм на приблизно 1 мм .

Плоди – кулясті або яйцеподібні ягоди, діаметром близько 1-4 см . У дозріванні вони зелені або зеленуваті з білими або фіолетовими плямами або смугами. Ягоди можуть не мати насіння або містити до кількох сотень. Насіння яйцеподібне, приблизно 2 мм завдовжки. У свіжому вигляді воно білувате або зеленувате, а в сухому – коричневе. Бічні стінки насінневої оболонки товсті та «волоскоподібні», що робить насіння слизистим у вологому стані. Деякі сорти можуть демонструвати передчасне опадання квіткових бруньок, чоловічу стерильність та/або нездатність зав'язувати плоди. Ягоди токсичні через наявність глікоалкалоїдів.[4]

1.2 Розвиток біотехнологій у вирощуванні картоплі.

Картопля є ідеальною культурою для впровадження ознак за допомогою біотехнології. Фактично, після вірусостійкого тютюну (Китай у 1992 році) та томату FlavrSavr (США у 1994 році), картопля була однією з перших культур, які були генетично модифіковані; її почали вирощувати в комерційних цілях під назвою NewLeaf компанією Monsanto у 1995 році (Dennis et al, 2016).[5] Традиційна селекція картоплі, як вона практикується в усьому світі, є неефективним, повільним процесом, який мало змінився за

останнє століття. Картопля потребує значних витрат поживних речовин, пестицидів та води для підтримки врожайності, якості та захисту від хвороб і комах. Зусилля з селекції картоплі історично зосереджувалися на врожайності, якості свіжої продукції для продажу та переробки, а також на лежкості та стійкості до хвороб. Генетична варіабельність цих ознак у комерційних сортах низька, але споріднені деякі види містять багато ознак, яких немає у сортів, і є особливо багатим джерелом генів стійкості до хвороб та якості бульб. Були докладені зусилля для інтродукції поживних якостей та стійкості до шкідників та абіотичних стресів з диких видів у культивовану картоплю, але популярні сорти мають мало ознак, отриманих з дикої зародкової плазми, через їхню генетичну складність, непередбачувану експресію в адаптованих середовищах та бажання промисловості обмежити мінливість якості переробки. У США наявність ефективних пестицидів, фунгіцидів, фумігантів, синтетичних добрив та зрошувальних систем призвела до того, що ринково-орієнтованим ознакам, таким як врожайність, часто надається вищий пріоритет, ніж стійкості до біотичних та абіотичних стресів. Поєднання ознак якості бульб, бажаних споживачами та переробниками, з агрономічними показниками та стійкістю до хвороб, які віддають перевагу фермери, залишається найважливішою проблемою в селекції картоплі. На щастя, величезна генетична різноманітність у диких та культивованих родичах картоплі дозволяє відносно легко ідентифікувати, ізолювати та вводити нові гени для певної ознаки за допомогою біотехнології. Наприклад, гени диких родичів картоплі можуть сприяти стійкості і до фітофторозу.[6]

Окрім великої кількості ознак, доступних для поліпшення картоплі, картоплю можна легко розмножувати в тканинній культурі, що спрощує інтеграцію конкретних генів і відновлення рослин з трансформованої тканини. Деякі сорти більш сприйнятливі до тканинної культури, ніж інші, але при відповідних модифікаціях протоколу більшість з них здатні пройти трансформацію за допомогою *Agrobacterium tumefaciens* і регенерацію

рослинної тканини. Використання *Agrobacterium* для введення генів, що представляють інтерес, є найпоширенішим методом стабільної трансформації картоплі, хоча інші методи, такі як бомбардування частинками, трансформація протопластів і мікроін'єкція, також виявилися успішними. Незалежно від методу, ці підходи вимагають регуляторного дозволу на випуск і виробництво отриманого сорту картоплі перед його широкомасштабним випуском і виробництвом. Регуляторне дозвіл у США може залучати до трьох федеральних агентств: Агентство з охорони навколишнього середовища (EPA), Управління з контролю за продуктами харчування та ліками (FDA) та Міністерство сільського господарства США (USDA). Відносно нові методи специфічної редакції регіонів геномів рослин також розробляються і можуть стати методом генетичного поліпшення, що виходить за межі традиційного регуляторного процесу.[7]

Біотехнологічна картопля, що була введена на ринок у середині 1990-х років (Toevs et al. 2011b), стала технологічним успіхом і принесла користь виробникам, споживачам та навколишньому середовищу, але тиск противників ГМО щодо безпеки біотехнологічних продовольчих культур призвів до їх виведення з ринку в 2002 році, і їх статус залишався незмінним протягом більше десяти років. З поширенням схвалення та впровадження інших біотехнологічних культур відновився інтерес до розробки біотехнологічної картоплі, що призвело до повернення біотехнологічної картоплі на ринок у 2015 році.[8]

У 1995 році компанія Monsanto випустила першу біотехнологічну картоплю, яка використовувалася в сільськогосподарському виробництві, сорт Russet Burbank, що містив ген CryIIA для забезпечення стійкості до колорадського жука.[9] Названий NewLeafTM, це ознаменувало впровадження першої біотехнологічної культури будь-якого типу. Nature Mark, дочірня компанія Monsanto, зрештою випустила на ринок три сорти картоплі, стійкої до колорадського жука, — Atlantic, Russet Burbank і Superior, і зареєструвала їх під торговою маркою New LeafTM. У регіонах, де колорадський жук був

проблемою, картопля NewLeaf™ швидко стала популярною серед виробників. Продукт був дуже ефективним у запобіганні пошкодженням СРВ, і посіви картоплі Nature Mark у США швидко розширилися з 1800 акрів у 1995 році до 55 000 акрів у 1998 році. Через три роки після випуску біотехнологічної картоплі сорти Nature Mark становили чотири відсотки врожаю США. До 1991 року компанія Monsanto розробила картоплю, стійку як до СРВ, так і до вірусу скручування листя картоплі (PLRV). У 1998 році Nature Mark представила NewLeaf Plus™, сорт Russet Burbank, стійкий як до СРВ, так і до PLRV.[10]

Інші продукти Nature Mark, що розроблялися на той час, включали стійкість до фітофторозу та бульби з підвищеною питомою вагою (Kaniewski і Thomas 2004). Не дивно, що Monsanto була не єдиною організацією, яка інвестувала в біотехнологічні картоплі. Вчені з інших компаній та університетів по всьому світу проводили дослідження та польові випробування біотехнологічної картоплі. Більша частина зусиль була спрямована на стійкість до шкідників, особливо до фітофторозу, але також були досліджувані характеристики переробки.

Анти-ГМО активізм, що підживлював суспільну дискусію щодо безпеки біотехнологічних культур, зрештою призвів до проблем з маркетингом картоплі NewLeaf™, що використовувалася для переробки. Харчова промисловість, групи споживачів та активісти, які виступають проти біотехнологій, які спочатку залишалися осторонь, почали висловлювати свою опозицію до продуктів, отриманих з біотехнологічної картоплі. Ресторани швидкого обслуговування відреагували відмовою від замороженої картоплі фрі, виготовленої з біотехнологічної картоплі.[11] Підживлюючи дискусію навколо біотехнологічних картопляних продуктів, один виробник замороженої картоплі спробував виділити свою картоплю фрі, гарантуючи, що вона не містить ГМО.[12] Північноамериканський ринок свіжої продукції продовжував приймати біотехнологічну картоплю, але з закриттям ринків переробленої картоплі виробники стали неохоче ризикувати, висаджуючи

біотехнологічну картоплю. Змирившись із зменшенням ринкової привабливості своєї продукції, компанія Monsanto закрила свій бізнес NatureMark з виробництва картоплі навесні 2001 року.

Були також проблеми з іншими ринками переробленої картоплі. Сировина для переробки зневодненої картоплі в основному походить від виробників свіжої картоплі, які відбирають картоплю, що не відповідає стандартам якості свіжої продукції. На початковому етапі комерціалізації біотехнологічних культур не було необхідності в збереженні ідентичності (IP) або цільовій маркетинговій програмі для картоплі NewLeaf™.[13] У ланцюжку постачання зневодненої картоплі біотехнологічна та звичайна картопля загалом змішувалися. Хоча компанія Monsanto отримала схвалення японського уряду для більшості сортів картоплі NewLeaf™, коли картопля NewLeaf™ була вилучена з ринку, вона також була вилучена з внутрішніх та міжнародних регуляторних процесів. Після вилучення у зневодненій картоплі було виявлено не схвалений випадок, а рівень толерантності імпорту картоплі для цього випадку становив 0 %. Наслідками цієї дії стали відхилення партій та дороге тестування продукції для північноамериканської картопляної промисловості. [14]

Приблизно в той час, коли Monsanto вийшла з бізнесу з біотехнологічним картоплею, компанія J.R. Simplot почала роботу над розробкою продукту, тестуванням та подачею документів до регуляторних органів. Вчившись на маркетингових труднощах, з якими зіткнулася Monsanto, Simplot зосередилася на споживчих характеристиках, а не на характеристиках виробника для своїх перших біотехнологічних картопляних продуктів. Simplot також використовувала тільки картопляні гени для введення характеристик, щоб вирішити проблеми громадськості щодо безпеки біотехнологічних продуктів харчування. Однією з перших споживчих характеристик, на яку зосередилася Simplot, була картопля з меншою схильністю до утворення акриламідів, речовини, пов'язаної з вродженими вадами та раком у мишей і щурів, яка часто зустрічається в

продуктах, приготованих при високих температурах.[15] Передбачаючи потребу в сировині з низьким вмістом акриламідів для свого бізнесу з переробки картоплі, вчені Simplot успішно розробили картоплю з меншою схильністю до утворення акриламідів. Другою споживчою характеристикою, яка цікавила Simplot, була стійкість до чорних плям, що могло зменшити втрати продуктів під час переробки та відкрити нові можливості для маркетингу свіжорізаної картоплі.

У 2013 році Simplot подала петицію до Міністерства сільськогосподарства США, Служби інспекції здоров'я тварин і рослин з проханням надати статус нерегульованого продукту для картоплі Innate™ 1.0 з низьким потенціалом утворення акриламідів та стійкістю до чорних плям.[16] У 2014 році Simplot отримала дозвіл на дерегулювання від USDA. Після цього у 2015 році було завершено консультації з питань безпеки харчових продуктів та кормів з Управлінням з контролю за продуктами харчування та ліками (FDA), що відкрило Simplot можливість комерціалізувати Innate™ 1.0 у картоплі сортів Atlantic, Ranger Russet та Russet Burbank.

У травні 2015 року картопля Innate™ 1.0 вийшла на ринок свіжих продуктів та чіпсів у вигляді обмеженого комерційного запуску. Компанія Simplot впровадила програму цільового маркетингового управління, щоб утримати біотехнологічну картоплю поза ринковими каналами зневоднення та заморожування.[17] Компанія також подала петицію до USDA APHIS щодо картоплі Innate™ 2.0, яка має ті ж характеристики, що і 1.0, але додатково стійка до фітофторозу та придатна для зберігання в холодильних камерах.

Робота над розробкою та комерціалізацією біотехнологічної картоплі триває по всьому світу, але за межами Північної Америки станом на травень 2015 року урядове схвалення отримали лише три сорти. Один з них — Amflora, картопля з високим вмістом крохмалю, розроблена BASF і затверджена в Європі, але більше не продається. Інші два, Elizaveta Plus і Lugovskoi Plus, є сортами, стійкими до комах. Були розроблені й інші біотехнологічні сорти картоплі, але вони не пройшли регуляторні процедури.

Крім Amflora, BASF також розробила сорти Modena, Amadea (обидва з підвищеним вмістом амілопектину) та Fortuna (з стійкістю до фітофторозу). Однак у 2013 році BASF припинила процедуру отримання регуляторного схвалення всіх біотехнологічних сортів картоплі, «оскільки подальші інвестиції не можуть бути виправдані через невизначеність у регуляторному середовищі та загрозу знищення полів». [18]

Наполегливість у розробці та маркетингу біотехнологічної картоплі повинна слугувати чітким свідченням бажання виробників поліпшити сорти картоплі. Споживачі все більше приймають біотехнології, а поєднання нових технологій із все більшою науковою освіченістю громадськості та зосередженням уваги на споживацьких характеристиках має сприяти широкому визнанню біотехнологічної картоплі на ринку. [19]

1.3 Вплив факторів поживного середовища на морфогенез картоплі *in vitro*

Надзвичайне різноманіття, яке характеризує живий світ з точки зору форм і структур, є результатом природного відбору, що дозволяє організму перебувати в ідеальній гармонії зі своєю екологічною нішею. Після набуття певної форми багато різних факторів діють разом, щоб гарантувати фенотипову міцність і стабільність розвитку організму. Серед цих факторів гормони відіграють ключову роль у регуляції та координації росту — вони контролюють активність окремої клітини, прогресування до організації тканин, розвиток конкретних органів, закінчуючи розвитком всього організму. У рослин гормони набувають ще однієї важливої ролі — рослини, завдяки своїй нерухомій природі, а також прагненню до міцного розвитку, покладаються на пластичний розвиток, щоб адаптувати ріст до мінливого середовища. Рослинні гормони відіграють вирішальну роль у сприйнятті та реагуванні на різні стимули навколишнього середовища, перетворюючи ці сигнали на конкретні зміни у розвитку, які адаптують організм рослини до навколишнього середовища.[20] Тут ми зосередимося на цитокінінах — унікальному класі рослинних гормонів — надаючи підказки щодо їх

метаболізму, того, як вони сприймаються клітинами і як клітини змінюють свою активність у відповідь на це. Більшість представлених даних отримано в результаті досліджень, проведених на *Arabidopsis thaliana*, рослині, яка використовується як модельна система в ботаніці.[21]

Рослинні гормони, як і тваринні гормони, можна описати як групу органічних речовин, що впливають на розвиток та фізіологію рослин при дуже низькій концентрації; вони синтезуються в дуже специфічних місцях рослинного тіла, і тут вони можуть діяти *in situ* або транспортуватися на великі відстані. У кожному випадку клітина повинна бути готова до отримання повідомлення гормону шляхом експресії специфічних рецепторів. Тільки клітини, які експресують ці рецептори, можуть реагувати на гормон. Після того, як гормон зв'язується з рецептором, запускається сигнальний каскад, який інструктує клітину про те, як змінити свою активність.

Серед рослинних гормонів цитокиніни широко вивчалися протягом минулого століття через їхню важливу роль у розвитку рослин, фізіології та реакції на навколишнє середовище.[21]

Цитокиніни — 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.

Історія дослідження цитокинінів починається з пошуків існування факторів, здатних стимулювати поділ клітин у тканинах рослин.[22] У 1955 році Скуг, Міллер та їх колеги виділили з ДНК сперми оселедця першу сполуку, здатну діяти як цитокинін, і назвали її кінетином. Перший цитокинін, що зустрічається в природі в рослинах, був виділений через кілька років з рослини *Zea mays* і тому названий зеатином. З моменту їх відкриття цитокиніни пов'язують з багатьма аспектами розвитку рослин.[23]

Тут, щоб надати підказки щодо того, як працюють цитокиніни, ми зосередимося на двох парадигматичних прикладах активності цитокинінів — їх ролі в розвитку органів пагона та кореня. Як пагін, так і корінь

розвиваються зі специфічних структур, які називаються меристемами. Меристеми пагона та кореня характеризуються наявністю стовбурових клітин — вони відповідають за підтримку меристеми та виробництво органів рослини, таких як листя, стебла та квіти, з меристеми пагона та всієї кореневої системи з меристеми кореня.[24]

Піонерська робота Скуга та Міллера вже вказувала на ключову роль цитокінінів у розвитку меристеми пагона. Додавання високих рівнів цитокінінів до недиференційованих рослинних клітин (калусу) призводить до регенерації пагона. З часом було показано, що багато мутантів, задіяних у біосинтезі або передачі сигналів цитокінінів, характеризуються порушенням розвитку пагона.[25] Меристему пагона можна розділити на два окремі функціональні домени: периферичну зону та центральну зон. У центральній зоні можна розрізнити організуючий центр та стовбурові клітини. Поділ клітин та активність стовбурових клітин у меристемі пагона головним чином залежать від активності двох ключових генів — *SHOOT MERISTEMLESS* (*STM*) та *WUSCHEL* (*WUS*).[26] Рослини, мутовані за цими генами, не здатні розвивати функціональну меристему пагона. Обидва вони підтримують функцію меристеми, підтримуючи активність цитокінінів. *STM* активує біосинтез цитокінінів через ген *IPT7*, таким чином сприяючи поділу клітин та запобігаючи диференціації меристематичних клітин. Водночас, *WUS* сприяє активності стовбурових клітин, пригнічуючи *ARR* типу А, підтримуючи таким чином сигналізацію цитокінінів. У свою чергу, цитокініни важливі для активації обох генів. Таким чином, у пагоні цитокініни важливі для підтримки поділу клітин та активності стовбурових клітин.[27]

Цитокініни також були задіяні в різних аспектах розвитку кореня. Цікаво, що на відміну від ролі, яку цитокініни відіграють під час розвитку пагона, у корені цитокініни головним чином пов'язані зі сприянням диференціації меристематичних клітин. Кореневу меристему можна зобразити як серію концентричних циліндрів, у яких кожен циліндр

представляє окрему тканину. Усі тканини утворюються групою стовбурових клітин, розташованих на верхівці кореня в ніші стовбурових клітин. Ствобурові клітини діляться асиметрично, утворюючи дочірні клітини, які після фіксованої кількості антиклінальних поділів припиняють ділитися та диференціюються. Межа між клітиною, що ділиться (зона поділу), та клітиною, що диференціюється (зона диференціації), відома як перехідна зона.

Було показано, що цитокініни діють у зоні поділу (TZ), контролюючи перехід від клітин, що діляться, до клітин, що диференціюються, визначаючи таким чином розмір кореневої меристеми та загальну швидкість росту кореня. У корені цитокініни синтезуються в судинній тканині. Звідси вони досягають клітин TZ, де їх сприймає рецептор гістидинкінази АНК3. Зв'язування з цим рецептором активує каскад фосфорилування, який завершується активацією регуляторів відповіді типу В ARR1 та ARR12. Характеристика прямих генів-мішеней цих ARR типу В показала, що цитокініни відповідають за пригнічення поділу клітин та індукцію диференціації клітин корневих меристематичних клітин. Цитокініни пригнічують поділ клітин, протидіючи активності рослинного гормону ауксину та генів *PLETHORA* (*PLT*), які беруть участь у стимулюванні поділу клітин та контролі активності стовбурових клітин. Пригнічення активності ауксину відбувається шляхом активації гена *SHORT HYPOCOTYL2* (*SHY2 / IAA3*), що пригнічує транспорт ауксину, та гена *GRETCHEN HAGEN3.17* (*GH3.17*), який бере участь у деградації ауксину. Активність *PLT* пригнічується прямим пригніченням їх транскрипції, що призводить до зниження рівня *PLT* у TZ.[28] Одночасна активація генів *SHY2* та *GH3.17* призводить до утворення мінімуму ауксину в останній меристематичній клітині кореня, що разом зі зниженням рівня білка *PLT* діє як позиційний сигнал для пригнічення поділу клітин, одночасно індукуючи диференціацію клітин. Водночас цитокініни сприяють змінам розміру клітин, що є вирішальною передумовою для диференціації клітин.

Прямими мішенями ARR1 є гени *EXPANSIN1* (*EXPA1*) та *ARABIDOPSIS H⁺-ATPase1* та 2 (*AHA1-2*). EXPA1 є членом родини генів α -експансину, тоді як АНА1 та АНА2 є протонними насосами, які, створюючи умови низького рН, активують білок EXPA1, що, своєю чергою, викликає розпушення клітинної стінки рослин і, таким чином, подовження та диференціацію клітин.[29]

Таким чином, зміни рівня ендогенних цитокінінів призводять до змін у положенні тієї ж зони — підвищення рівня цитокінінів призводить до збільшення диференціації клітин *порівняно* зі швидкістю поділу клітин, що зменшує розмір меристеми та пригнічує ріст коренів. І навпаки, зниження рівня цитокінінів призводить до збільшення швидкості поділу клітин *порівняно* зі швидкістю диференціації, що збільшує розмір меристеми та посилює ріст коренів. Хоча чітких доказів цього немає, є спокуса припустити, що описані генні мережі використовуються для адаптації росту коренів до змін у навколишньому середовищі. У цьому сценарії стимули навколишнього середовища, такі як абіотичні стреси, трансформуються рослиною у зміни ендогенних рівнів цитокінінів, які, у свою чергу, активуючи описані шляхи, адаптують розмір та ріст коренів до нових умов навколишнього середовища.

Хоча незрозуміло, як цитокініни індукують адаптацію росту рослин до змін середовища, безсумнівно, що вони відіграють центральну роль. Транскрипція багатьох генів біосинтезу та сигналізації цитокінінів чутлива до змін кількох абіотичних стресів, таких як світло, посуха, дефіцит поживних речовин або сольовий стрес. Серед них сольовий стрес є парадигматичним прикладом і одним із найбільш розсіяних екологічних стресів, що обмежують ріст рослин. Рослини, що зазнали сольового стресу, спочатку демонструють пригнічення росту коренів, а подальше накопичення кількох різних речовин призводить до пригнічення росту пагонів і, зрештою, до загибелі рослин. Цікаво, що рослини *Arabidopsis* з дефіцитом активності IPT або мутацією в регуляторах відповіді ARR типу В демонструють

підвищену стійкість до цього стресу, що свідчить про негативну роль цитокінінів під час сольової адаптації рослин. Тим не менш, як уже згадувалося, дуже мало відомо про молекулярні механізми, що активуються цитокінінами у відповідь на цей абіотичний стрес.

Ауксини є дуже важливим елементом для рослин. Це тип рослинного гормону, який сприяє росту і розвитку рослин. Серед його переваг ми також знаходимо його внесок у регулювання тропізмів або відпадання органів, що призводить до пізнішого опадання квітів, листя і молодих плодів.

Світ фітогормонів рослин є величезним і складається з великої кількості різноманітних компонентів. Серед них ауксини є однією з найважливіших груп. Подовження клітин і регулювання проникності клітинних мембран є одними з їх основних функцій, крім вищезгаданого росту врожаю.

Рослина може отримувати ауксини двома способами. З одного боку, природним шляхом. Однак іноді кількість, що виробляється цим методом, є недостатньою. Тому існують продукти, що містять ауксини, які допомагають рослині досягти необхідного рівня цього фітогормону.[30]

Як вони діють на рослину і для чого використовуються:

Ауксини синтезуються в тих частинах рослини, де утворюються листя і стебла, тобто в меристемах на верхівці стебел, які ми можемо розрізнити як невелике випинання. Звідти вони починають рухатися до інших частин рослини, де вони можуть бути потрібні, хоча було доведено, що вони набагато більш рухливі в напрямку до основи, ніж вгору, тому в коренях зазвичай вища концентрація ауксинів, ніж, наприклад, у квітах. Однак їхня головна користь завжди однакова: сприяння росту і розвитку рослин.

Одним з найвідоміших ауксинів є індолецтова кислота. Цей фітогормон належить до родини ауксинів природного походження і міститься в морських водоростях, мікроводоростях, грибах або бактеріях. Однак існують також ауксини, синтезовані в лабораторії, які допомагають стимулювати ріст

рослин, які цього найбільше потребують. Коротко кажучи, ауксини можна класифікувати наступним чином.

1. Синтетичні речовини

- 2,4-дихлорфеноксибутилова кислота (2,4-DB)
- 2,4,5-трихлорфеноксоцтова кислота (2,4,5,-Т)
- Індолмасляна кислота (AIB)
- 2,4-дихлорфеноксоцтова кислота (2,4-D)
- Нафтоксиоцтова кислота (NOA)
- Нафталенова кислота (ANA)

2. Натуральні

Одними з попередників натуральних ауксинів є цинк і амінокислота триптофан, тому більшість натуральних ауксинів походять від цих елементів.

Серед основних типів можна виділити:

- Індолмасляна кислота (IBA). Цей ауксин міститься як у синтетичних, так і в натуральних організмах у невеликих кількостях.
- Індолпропіонова кислота (IPA)
- Фенілоцтова кислота
- Індолоцтова кислота (IAA)
- 4-хлороіндолоцтова кислота

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*. [31]

У деяких дослідженнях зазначено, що використані концентрації НАА та індол-3-оцтової кислоти (ІАА) 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 НАА 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.

Гіберелинова кислота (ГА) є одним із важливих фітогормонів, що належить до групи тетрациклічних дитерпеноїдних, які вперше були ідентифіковані у *Gibberella fujikuroi* (хвороба, що викликає нерозумну розсаду) як гіберелін .

Велика кількість ГА, що виробляється в рослинах, призводить до того, що рослина стає довгою та стрункою (часто пошкоджується через нездатність підтримувати власну вагу), а також робить рослину хлоротичною та частково безплідною. У рослин, бактерій та грибів розпізнається близько 130 ГА, але лише чотири з них (ГА1, ГА3, ГА4 та ГА7) мають біоактивні властивості , тому їх називають біоактивними гормонами. Крім того, відомо, що деякі ГА також розпізнають гіберелін-нечутливий карликовий 1 (GID1), розчинний рецептор, а також білок DELLA, негативний рецептор. ГА в основному виробляється в місці дії (Hedden and Sponsel, 2015), і кілька досліджень показали, що цей фітогормон викликає транспортування на великі відстані. ГА12 є основною мобільною формою всіх ГА. ГА як гормон, як відомо, виконує багато функцій у кількох процесах рослин. Деякі з них - проростання насіння, видовження органів, а також розширення та ріст клітин, розвиток квітів, плодів та насіння. Ці гормони необхідні для різних функцій

стимуляції росту. Крім того, вони посилюють перехід між різними фазами розвитку. Також цей гормон відіграє важливу роль в адаптивній реакції рослин в умовах абіотичного стресу.

Гіберелові кислоти – це дитерпенові рослинні гормони, що біосинтезуються з геранілгеранілдіфосфату, поширеного C₂₀-попередника дитерпеноїдів, які контролюють різні аспекти росту та розвитку, включаючи проростання насіння, видовження стебла, цвітіння, розвиток плодів та регуляцію експресії генів в алейроновому шарі злаків. Ці гіберелові кислоти виробляються не лише вищими рослинами, а й грибами та бактеріями. Вважається, що гіберелові кислоти в грибах та бактеріях є вторинними метаболітами, які діють як сигнальні фактори для встановлення взаємодії з рослинами-господарями. Гени, що кодують ферменти біосинтезу гіберелової кислоти, були ідентифіковані за допомогою звичайного очищення ферментів з багатих джерел ферментів гіберелової кислоти, функціонального скринінгу бібліотеки експресії кДНК або молекулярно-генетичних підходів з використанням карликових мутантів з дефектами біосинтезу гіберелової кислоти.

Серед понад 100 гіберелових кислот основні біоактивні гіберелові кислоти, включаючи GA₁, GA₃, GA₄ та GA₇, зазвичай мають гідроксильну групу на C-3β, карбоксильну групу на C-6 та лактон між C-4 та C-10. GA₁ часто виявляють у різних видах рослин, що свідчить про її поширення як біоактивну речовину гормон. Однак, GA₄ також існує у більшості видів і вважається основною біоактивною гібереловою кислотою у *A. thaliana* та деяких представників родини Cucurbitaceae. Дослідження виявили наявність раніше невідомих механізмів деактивації. Зараз зрозуміло, що як біосинтез, так і шляхи деактивації гіберелової кислоти жорстко регулюються сигналами розвитку, гормональними та екологічними сигналами, що узгоджується з роллю гіберелових кислот як ключових регуляторів росту. [32]

1.4. Застосування мікробульб у насінництві картоплі

Рослини *in vitro* та мікробульби використовуються для швидкого розмноження вільного від хвороб матеріалу у виробництві елітного насінневого картоплі. Ці рослини культивуються в теплицях або парниках для отримання мінібульб, які згодом використовуються для польової посадки. Мінібульби збирають з першого покоління рослин *in vitro* або отримують з мікробульб. Мікробульби, отримані з розмножувальних органів, вирощених *in vitro*, — це мініатюрні бульби картоплі розміром 4–12 мм, вирощені в контрольованих лабораторних умовах. Мінібульби зазвичай вирощують у теплицях з використанням безгрунтових субстратних сумішей, грядок, контейнерів або гідропонних систем. Мінібульби висаджують на полях насінневої картоплі, а нащадки цих рослин розмножують у полі, як правило, протягом додаткових 2–5 років, перш ніж розподіляти їх серед фермерів, які вирощують картоплю.[33]

Основною метою початкового виробництва насінневої картоплі є отримання мінібульб середнього розміру з хорошим станом здоров'я. Радуні та ін. та Озкаянак та ін. вказали, що розмір мінібульб може коливатися від 5 до 25 мм. Проте на розмір впливають кількість мінібульб, щільність посадки, середовище вирощування і, особливо, поглинання поживних речовин. Однак інформація щодо конкретного складу поживних речовин для збагачення середовища вирощування є обмеженою, а відсутність чіткої інформації залишається проблемою для стартапів, що займаються насінництвом картоплі. Хоча загальні описи удобрення субстрату для вирощування є стандартними, детальна інформація відсутня.

Потреби картоплі в підживленні на всіх етапах її життєвого циклу, особливо під час фази бульбоутворення, значною мірою залежать від вмісту поживних речовин у ґрунті, субстраті або поживному розчині гідропонної системи, що використовується. NPK визнано основною групою поживних елементів, що впливають на бульбоутворення картоплі. Крім того, було доведено, що інші поживні речовини, такі як кальцій (Ca) і магній (Mg), покращують врожайність і якість бульб картоплі. У численних дослідженнях

було зроблено спробу оптимізувати поживний склад середовища для культивування картоплі *in vitro* з метою покращення росту саджанців і досягнення вищої врожайності мікро- або мінібульб.[34]

Широке використання хімічних добрив безпосередньо впливає на навколишнє середовище і, як наслідок, опосередковано впливає на здоров'я людини. Останнім часом з'явилися нові підходи в сільському господарстві, такі як біодобрива, що дозволяють пом'якшити ці негативні наслідки, демонструючи екологічну стійкість та зберігаючи родючість субстрату або ґрунту. Біодобрива, що складаються з життєздатних або сплячих клітин ефективних штамів мікроорганізмів, є екологічно чистим та економічно ефективним підходом до поліпшення поглинання поживних речовин рослинами. Вони можуть сприяти росту рослин, збільшувати врожайність та покращувати якість, підвищуючи стійкість до біотичних та абіотичних стресогенних факторів.

Наразі існує недостатньо даних щодо ефективності певних біодобрив для виробництва насіння картоплі *in vitro*, особливо в безґрунтових культурах. Дослідження впливу біодобрив в контрольованих умовах середовища *in vitro* було б цікавою темою для подальших досліджень.[35]

Біодобрива містять різні природні речовини, такі як мікориза, корисні бактерії, водорості та біогумус. Арбускулярні мікоризні (АМ) гриби присутні в різних типах ґрунтів і часто вступають у симбіотичні відносини з корінням багатьох видів рослин. Ці гриби сприяють росту та розмноженню рослин, полегшуючи поглинання поживних речовин картоплею. Крім того, вони стимулюють вироблення речовин, що регулюють ріст, посилюють фотосинтез, підвищують стійкість до стресу та збільшують опірність шкідникам.

Chlorella vulgaris, вид зелених мікродоростей, відомий своїм багатим вмістом білків, ліпідів, вуглеводів, пігментів та метаболітів з антиоксидантними властивостями. Хоча її використання в традиційному

сільському господарстві є добре відомим, її застосування у вигляді живих клітин водоростей у гідропонних системах залишається відносно обмеженим.

Ризобактерії, що сприяють росту рослин (PGPR), в першу чергу штами *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Azotobacter*, *Phosphobacteria* та *Rhizobium*, мають здатність посилювати ріст рослин та загальний урожай картоплі. Крім того, деякі штами PGPR можуть викликати системну стійкість до грибків, бактерій, вірусів, а іноді й нематод.[36]

Вермикомпост — це багате на поживні речовини органічне добриво, яке містить велику кількість гумусу, NPK, мікроелементів та корисних ґрунтових мікроорганізмів, зокрема азотфіксуючих і фосфаторозчинних бактерій та актиноміцетів. Він також містить гормони росту, такі як ауксини, гібереліни та цитокініни. Як вермикомпост, так і його рідкий побічний продукт (вермивош) продемонстрували свою ефективність як стимулятори росту картоплі.

Насінневі бульби становлять значні витрати при розмноженні картоплі, складаючи приблизно 40% виробничих витрат. Фермери часто використовують невеликі цілі бульби або розрізають великі на шматки для посадки, щоб зменшити витрати на насіння. Окрім екологічних переваг, використання біодобрив може потенційно зменшити витрати, пов'язані з виробництвом насінневої картоплі.

У цьому дослідженні вивчалися потенційні переваги використання біодобрив у виробництві насінневої картоплі *in vitro*. Запропонована гіпотеза передбачала, що біодобрива мають здатність зменшувати залежність від хімічних добрив і сприяти механізмам мікробного удобрення, що в кінцевому підсумку призводить до поліпшення бульбоутворення та підвищення якості мінібульб картоплі. Дослідження має на меті сприяти впровадженню стійких і найсучасніших методів виробництва насінневої картоплі *in vitro*.

1.5. 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.

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.

У культурах *in vitro* сахароза виконує не лише функцію джерела енергії, але й слугує тригером бульбоутворення та ключовим осмотичним агентом середовища.[37]

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.

1.6. Вплив температури на мікробульбоутворення

Температура *in vitro* може впливати на утворення мікробульб. Хоча ріст мікророзмножених рослин є оптимальним за температури 20–25 °С, утворення мікробульб часто відбувається найкраще за (дещо) нижчих температур. Nussey & Stacey виявили оптимальний температурний діапазон 20–25 °С для бульбоутворення *in vitro*, при цьому бульбоутворення було дещо швидшим за температури 20 °С. За даними Wang & Hu, середня кількість мікробульб була нижчою за вищої температури *in vitro* (28–28 °С день/ніч), ніж за нижчої температури (20–20 °С день/ніч). Wang & Hu (1982) стверджували, що оптимальною температурою для бульбоутворення *in vitro* є 20 °С. Однак Akita & Takayama встановили оптимальне бульбоутворення *in vitro* при температурах 15–18 °С. Wattimena навіть виявив оптимальну температуру 15 °С для бульбоутворення, з лише незначним зменшенням бульбоутворення за температури 10 °С порівняно з оптимумом 15 °С. На противагу цьому, Okazawa спостерігав, що температури нижче 12 °С сильно пригнічували утворення бульб.[27]

За даними Wang & Hu, ці відмінності в оптимальних температурах можуть бути пов'язані з інтенсивністю світла (висока інтенсивність світла підвищує температуру всередині посудин порівняно з температурою довкілля) та використанням регуляторів росту (у відсутності цитокінінів низька температура може бути необхідною для індукції бульбоутворення). Wang & Hu також припустили, що за однакових середніх температур постійні температури забезпечували вищий рівень утворення мікробульб, ніж змінні денні-нічні температури. Цей негативний ефект змінних температур різко контрастує з результатами Steward et al. і Bennett et al., які встановили, що добові коливання температури загалом позитивно впливали на цілі рослини.

На бульбоутворення *in vitro* також може впливати взаємодія між температурою та концентрацією сахарози в поживному середовищі. Koda & Okazawa повідомили, що індукція мікробульб за 25 °С посилювалася зі

збільшенням концентрації сахарози в середовищі від 2% до 8%. Того самого ефекту сахарози не було виявлено за нижчих або вищих досліджуваних температур. Іноді впливи факторів навколишнього середовища зберігаються й після того періоду, протягом якого експланти або рослини були піддані цим умовам. Otrshy & Struik повідомили про позитивний вплив нижчої температури під час фази *in vitro* на врожайність, розмір і масу мінібульб, отриманих у теплиці. Нижча температура (16 °C) під час фази *in vitro* призвела до утворення важчих мінібульб і, відповідно, суттєво підвищила врожайність рослин картоплі порівняно з вищими температурами *in vitro* (20 і 24 °C). Вони також встановили, що нижча температура *in vitro* змістила розподіл розмірів бульб у бік більших бульб.

Хоча було виконано багато досліджень щодо впливу температури (як денної, так і нічної) на фізіологію розвитку та ріст рослин картоплі, порівняно мало відомо про вплив температури на утворення мікробульб. У літературі, очевидно, існують значні суперечності щодо мінімальної температури для ефективного утворення мікробульб і щодо оптимальної температури для їх виробництва.[28] Крім того, впливи змінних температур або добових коливань температури вивчені недостатньо. Наявні нечисленні дані свідчать, що добові коливання температури негативно впливають на утворення мікробульб. Ці негативні ефекти різко контрастують з позитивними ефектами, які зазвичай спостерігаються у цілих рослин.

РОЗДІЛ 2

УМОВИ ТА МЕТОДИКА ПРОВЕДЕННЯ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Місце проведення дослідження

Дослідження проводили на базі Проблемної науково-дослідної лабораторії «Інститут проблем картоплярства Північного Сходу України» Сумського національного аграрного університету.

Лабораторія спеціалізується на селекції, насінництві, біотехнологічних методах розмноження картоплі, створенні безвірусного садивного матеріалу та впровадженні інноваційних технологій у виробництво.

Дослід виконували в умовах культури тканин *in vitro*, у спеціально обладнаному приміщенні, що забезпечує дотримання стерильності та контрольованого мікроклімату.

Рослинний матеріал — картопля сорту Корінна та Княгиня, відомі високою врожайністю, чудовими кулінарними властивостями та доброю адаптивністю до різних ґрунтово-кліматичних умов України.

Мікробульбоутворення здійснювали на живильному середовищі Murashige & Skoog, модифікованому відповідно до цілей дослідження. Основна мета експерименту — оцінити вплив різних концентрацій сахарози на процес утворення мікробульб у культурі картоплі *in vitro*.

2.2. Схема досліду

Дефіцит якісного насіння визнано найважливішим фактором, що обмежує виробництво картоплі в країнах, що розвиваються. Усі традиційні системи виробництва насіння картоплі характеризуються низьким коефіцієнтом розмноження та прогресивним накопиченням дегенеративних вірусних хвороб під час клонального розмноження. Культура тканин, можливо, є першим біотехнологічним підходом, що використовується для усунення вірусів та отримання насіння картоплі без хвороб.

Виробництво мікробульб *in vitro* вирішило проблему пересадки саджанців *in vivo*, зберігання запасів насіння картоплі без хвороб та легкого в обробці обміну здоровою зародковою плазмою та збереження цінних сортів.

Мікробульби – це перше покоління насіння картоплі, вироблене методом культури тканин з аксіальної частини листа саджанців *in vitro*. Оскільки мікробульбоутворення – це складний фізіологічний процес, що регулюється багатьма факторами, включаючи концентрацію цукру в середовищі. Попередні дослідження були зосереджені переважно на використанні регуляторів росту для мікробульбоутворення картоплі. Дане дослідження *in vitro* було проведено для оцінки впливу різних концентрацій сахарози на формування мікробульб у картоплі сорту Кіранда - обраний завдяки високій споживчій популярності, чудовим кулінарним властивостям і здатності добре адаптуватися до різних умов вирощування.

Спеціалізоване середовище для кожного виду рослин є найважливішим фактором *in vitro*. Середовище зазвичай складається з розчину солей, що постачає другорядні та основні поживні речовини, різноманітні амінокислоти та вітаміни (необов'язково), а також джерело енергії (зазвичай сахарозу), необхідні для росту та розвитку рослин. Поживне середовище Murashige & Skoog (MS) поживне середовище широко використовується в культурі тканин.

Фітогормони рослин регулюють різноманітні аспекти життя рослин. Було виявлено, що цитокінін, абсцизова кислота, гібереліни, етилен та ауксин діють антагоністично або синергетично для регуляції численних важливих етапів росту та розвитку, включаючи підтримку та формування меристеми. Протягом останніх кількох десятиліть було виявлено різний прогрес у розвитку, який показує молекулярні та фізіологічні механізми, що лежать в основі взаємодії та дії цитокінін-ауксин. Залежно від цільових експлантатів, різні концентрації фітогормонів використовувалися в *in vitro*.

Для дослідження було приготоване базове середовище Murashige & Skoog (1962) MS, що містить 1,0 мг/л пентотенату кальцію, 0,25 мг/л гіберелінової кислоти (GA3), 100 мг/л міоїнозиту та агару (8 г/л) з рН 5,8,

відрегульованим за допомогою 0,1 N КОН або 0,1 N HCl перед стерилізацією, використовувалася в цьому дослідженні. До середовища додавали сахарозу в п'яти різних концентраціях, а саме 0% (T0), 3% (T1), 6% (T2), 8% (T3) та 11% (T4).

Кожну обробку повторювали 20 разів. Обробка 0% концентрацією сахарози служила контролем. Середовище розливали в пробірки по 10 мл на пробірку та автоклаували при 121 °C під тиском 15 psi протягом 15 хвилин.

Експлантати картоплі сорту Корінна та Княгиня, що мають щонайменше 6 вузлів на рослину, були отримані з проблемно науково дослідної лабораторії «Інститут проблем картоплярства північного сходу України», і кожен сегмент розрізали на вузлові сегменти.

Кожен сегмент інокулювали асептично на середовище в пробірках у стерилізованих умовах у ламінарній камері. Пробірки інкубували в камері для росту при 200°C за 16 годин світлового та 8 годин темного фотоперіоду протягом приблизно 30 днів.

Потім рослини переміщували в темряву до утворення мікробульб. Дані аналізували за допомогою комп'ютерного програмного забезпечення для статистики 8.1, а для оцінки значущої різниці між різними обробками використовували тест найменшої значущості різниці (LSD) при рівні значущості 95%.

Дані проростання коренів/пагонів були зафіксовані через 5 днів та один тиждень після культивування, тоді як інші дані параметрів росту були зафіксовані через 30 днів інокуляції.

РОЗДІЛ 3

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ

У цьому дослідженні оцінювали ефективність різних концентрацій сахарози на ріст та формування мікробульб у картоплі сорту Корінна та Княгиня .

3.1. Залежність ростових параметрів сортів Корінна та Княгиня від рівня сахарози в середовищі

Таблиця 1

Середня кількість сіянців картоплі з проростанням коренів та пагонів.

Кількість днів	Поява пагонів					Проростання коренів				
	T1	T2	T3	T4	T0	T1	T2	T3	T4	T0
На 5-й день сорт Корінна	20	15	16	18	10	20	10	8	9	6
На 8-й день сорт Корінна	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
На 5-й день сорт Княгиня	17	15	17	20	7	17	10	8	10	4
На 8-й день сорт Княгиня	17	20	20	20	14	17	20	20	20	14

Дані таблиці 1 показують, що різні концентрації сахарози в середовищі Murashige & Skoog по-різному впливають на швидкість проростання пагонів і коренів у сортів картоплі Корінна та Княгиня. Для сорту Корінна найкращі результати спостерігалися у варіанті T1 (3%), де всі культивовані вузли вже на п'ятий день утворили пагони (20), тоді як у контролі (T0, 0%) цей

показник становив лише 10. Подібна тенденція простежується і для проростання коренів — за Т1 кількість проростків була найвищою (20 шт.), тоді як за відсутності сахарози спостерігалось лише 6. На восьмий день усі варіанти досягли максимальних значень (20/20), що свідчить про повну регенерацію за достатнього часу культивування.

Для сорту Княгиня динаміка мала схожий характер, однак загальні показники на п'ятий день були дещо нижчими. Найвищу кількість пагонів (20) зафіксовано у варіанті Т4 (11%), тоді як у контролі цей показник становив лише 7. Проростання коренів також було найінтенсивнішим за підвищених концентрацій сахарози (Т3–Т4), тоді як без додавання вуглеводу (Т0) кількість проростків зменшувалася до 4. Це свідчить про те, що сорт Княгиня чутливіший до рівня сахарози в живильному середовищі та краще реагує на її підвищені концентрації.

Отже, можна зробити висновок, що оптимальна концентрація сахарози для стимулювання утворення пагонів і коренів у сортів картоплі залежить від генотипу: для Корінна ефективнішою є помірна (3–6%), тоді як для Княгині — вища (8–11%).

Таблиця 2

Середні значення параметрів росту сорту картоплі Корінна після 30 днів культивування.

Обробка	Кількість листків	Кількість коренів	Кількість вузлів	Довжина пагонів	Довжина коренів(см)
Рівень сахарози 3% (Т1)	9,75	8,45	7,90	8,28	6,16
Рівень сахарози 6% (Т2)	6,50	4,10	5,45	6,40	4,86
Рівень сахарози 8% (Т3)	5,60	4,40	4,60	5,02	3,40
Рівень	4,85	3,55	3,85	4,28	3,00

Продовження таблиці 2

сахарози 11%(T4)					
Контроль (T0) Рівень сахарози 0%	4,05	2,80	3,05	3,48	2,40

Таблиця 3

Середні значення параметрів росту сорту картоплі Княгиня після 30 днів культивування.

Обробка	Кількість листіків	Кількість коренів	Кількість вузлів	Довжина пагонів	Довжина коренів(см)
Рівень сахарози 3% (T1)	5,80	4,20	4,60	5,10	3,60
Рівень сахарози 6% (T2)	6,70	5,80	5,90	6,85	4,90
Рівень сахарози 8% (T3)	8,90	7,40	7,60	8,20	6,10
Рівень сахарози 11%(T4)	9,60	8,10	8,00	8,75	6,45
Контроль (T0) Рівень сахарози 0%	4,00	2,90	3,10	3,50	2,40

Отримані результати свідчать, що рівень сахарози в живильному середовищі Murashige & Skoog суттєво впливає на ріст і морфогенез рослин картоплі обох досліджуваних сортів — Корінна та Княгиня.

Для сорту Корінна найкращі показники росту спостерігалися за концентрації сахарози 3% (Т1): кількість листків, коренів і вузлів, а також довжина пагонів та коренів були максимальними (9.75; 8.45; 7.90; 8.28 см; 6.16 см відповідно)(таб.2). Подальше підвищення концентрації сахарози призводило до поступового зниження показників росту, що свідчить про пригнічення морфогенезу при надмірному вмісті вуглеводів у середовищі. Таким чином, для сорту Корінна оптимальним є рівень сахарози 3%, тоді як вищі концентрації (8–11%) негативно впливають на розвиток пагонів і коренів.

Сорт Княгиня продемонстрував протилежну тенденцію — зростання концентрації сахарози сприяло підвищенню інтенсивності росту. Найвищі середні значення кількості листків, вузлів і довжини пагонів спостерігалися за 11% сахарози (Т4): 9.60; 8.00; 8.75 см відповідно(таб.3). Це вказує на те, що сорт Княгиня краще пристосовується до високого осмотичного тиску середовища та ефективніше використовує вуглеводи для біосинтезу структурних компонентів клітин.

Отже, вплив сахарози на морфогенетичні показники картоплі є сортоспецифічним: для Корінна оптимальним є помірний рівень (3%), а для Княгині— підвищений (8–11%). Це слід враховувати при підборі умов *in vitro* для мікроклонального розмноження різних сортів картоплі.

3.2. Вплив концентрації сахарози на мікробульбоутворення сортів картоплі Корінна та Княгиня *in vitro*

Рівень сахарози в живильному середовищі по різному вплинув на мікробульбоутворення в досліджуваних сортах.

**Вплив концентрацій сахарози на мікробульбоутворення картоплі
Корінна.**

Обробка	Свіжа маса (мг)	Діаметр (мм)	Кількість мікробульб	Кількість вічок на мікробульбі	Обробка
3 % рівень сахарози (Т1)	70,00	5,86	2,05	3,00	3 % рівень сахарози (Т1)
Рівень сахарози 6% (Т2)	57,50	5,35	1,90	2,65	Рівень сахарози 6% (Т2)
Рівень сахарози 8% (Т3)	97,00	6,84	2,10	3,35	Рівень сахарози 8% (Т3)
Рівень сахарози 11% (Т4)	55,50	5,56	1,95	2,80	Рівень сахарози 11% (Т4)
Контроль (Т0) Рівень сахарози 0%	0,00	0,00	0,00	0,00	Контроль (Т0) Рівень сахарози 0%

Результати дослідження показують, що концентрація сахарози впливає на морфологічні параметри мікробульб картоплі Корінна. Найбільша середня вага, діаметр та кількість вічок спостерігалися за концентрації сахарози 8% (Т3), тоді як контрольна обробка (Т0) не сприяла утворенню мікробульб. Кількість мікробульб на саджанець не змінювалася суттєво між обробками, проте тенденція до більшої кількості спостерігалася за Т1 і Т3. Отже, оптимальним рівнем сахарози для формування якісних мікробульб сорту Корінна є 8%.

**Вплив концентрацій сахарози на мікробульбоутворення картоплі
Княгиня.**

Обробка	Свіжа маса (мг)	Діаметр (мм)	Кількість мікробульб	Кількість вічок на мікробульбі
3 % рівень сахарози(T1)	65,00	5,50	2,00	3,10
Рівень сахарози 6% (T2)	75,50	6,10	2,05	3,20
Рівень сахарози 8% (T3)	95,50	6,90	2,15	3,45
Рівень сахарози 11% (T4)	102,00	7,10	2,25	3,55
Контроль (T0) Рівень сахарози 0%	0,00	0,00	0,00	0,00

Сорт Княгиня продемонстрував іншу реакцію — найвищі показники формування мікробульб спостерігалися при 11% сахарози (T4), що свідчить про здатність цього сорту ефективно використовувати підвищені концентрації вуглеводу для розвитку мікробульб. Це підтверджує сортоспецифічний характер реакції картоплі на рівень сахарози: Кіранда краще росте за помірною рівня (8%), тоді як Княгиня — за високого (11%).

Таким чином, оптимальна концентрація сахарози для стимуляції мікробульбоутворення визначається генетичною специфікою сорту і повинна враховуватися при плануванні *in vitro* мікроклонального розмноження картоплі.

Результати показали, що обробка T1 з 3% сахарозою для сорту Корінна забезпечує проростання пагонів і коренів у всіх культивованих вузлах вже

через 5 днів культивування, порівняно з іншими обробками. Це може бути пов'язано з тим, що рослини потребують оптимального рівня джерела вуглецю для нормального розвитку, і будь-яке відхилення від оптимуму (збільшення або зменшення концентрації сахарози) затримує появу пагонів і коренів. Попередні дослідження показали, що 3% сахарози сприяє максимальній регенерації пагонів у айви та ананаса *in vitro*.

Дані таблиці 2 показали, що для сорту Корінна довжина пагонів, кількість листків, кількість вузлів та кількість коренів зменшуються із збільшенням концентрації сахарози. Це пояснюється тим, що ріст *in vitro* та розмноження пагонів залежать від концентрації екзогенного джерела вуглецю, доданого до середовища. Раніше проводилися дослідження на кукурудзі, які показали, що помірна концентрація цукрів (мальтоза або сахароза) сприяє росту коренів і пагонів, тоді як їх довжина зменшується при високих концентраціях.

Для сорту Княгиня спостерігалася інша тенденція: збільшення концентрації сахарози до 8–11% (Т3–Т4) стимулювало інтенсивніший ріст пагонів і коренів, а також збільшення кількості листків і вузлів у порівнянні з нижчими концентраціями. Це свідчить про сортоспецифічну реакцію: Княгиня ефективніше використовує підвищені концентрації вуглеводів для енергії та розвитку, тоді як Корінна оптимально росте за помірної концентрації 3%. Таким чином, сахароза в культурі тканин діє одночасно як джерело енергії та осмотичний агент, і її оптимальний рівень для морфогенезу залежить від генотипу рослини, регулюючи ріст пагонів, коренів і розвиток вузлів.

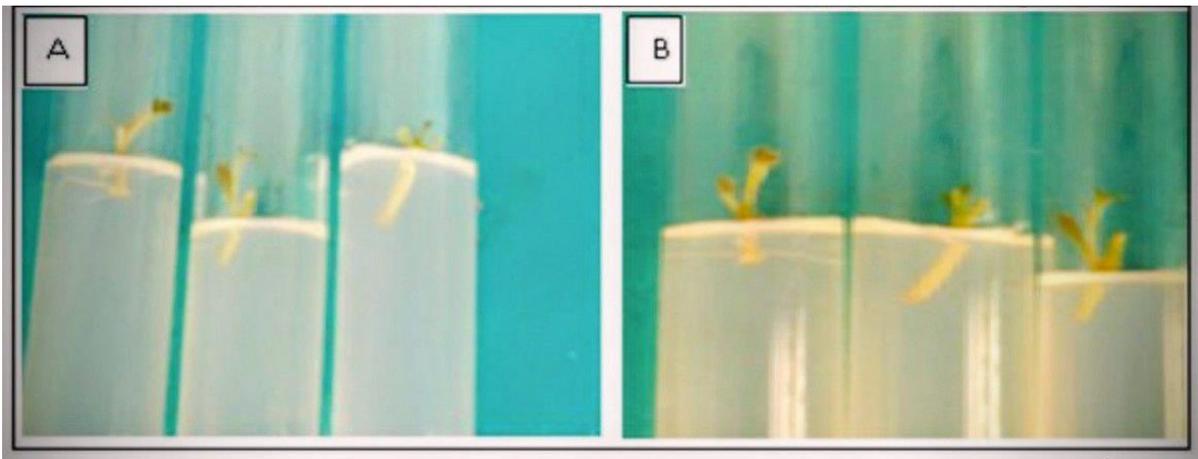


Рисунок 3.1. Картопляні саджанці з коренями і пагонами, що з'явилися в умовах *in vitro* на 5-й день культивування: А- сорт Корінна; В-сорт Княгиня

Що стосується формування мікробульб, результати показали, що для сорту Корінна підвищення концентрації сахарози до 8% (Т3) сприяло збільшенню кількості мікробульб, середньої свіжої маси, діаметра та середньої кількості вічок на мікробульбі. Проте подальше підвищення концентрації сахарози до 11% (Т4) призводило до подовження часу формування мікробульб і зменшення їх кількості на саджанці. Це свідчить про те, що як дуже низька (Т0), так і дуже висока (Т4) концентрація сахарози є непридатною для оптимальної мікробульбоутворення: низький рівень цукру недостатній для індукції мікробульб, тоді як надмірна концентрація підвищує осмолярність середовища, порушує рН і баланс поживних речовин. Високий рівень сахарози не лише асимілюється та перетворюється на крохмаль для розвитку мікробульб, а й збільшує осмолярність середовища, що негативно впливає на їх формування.

Для сорту Княгиня спостерігалася інша реакція: збільшення концентрації сахарози до 11% (Т4) стимулювало формування більшої кількості мікробульб із вищою середньою свіжою масою, більшим діаметром та більшою кількістю вічок порівняно з нижчими концентраціями (Т1–Т3). Це свідчить про сортоспецифічну реакцію: Княгиня здатна ефективніше використовувати високі концентрації вуглеводів для мікробульбоутворення,

тоді як Корінна оптимально формує мікробульби при помірному рівні цукру (8%).

Отже, як для Корінна, так і для Княгині низькі та надмірні концентрації сахарози негативно впливають на процес мікробульбоутворення, однак оптимальна концентрація для формування якісних мікробульб є сортоспецифічною і повинна враховувати генетичні особливості рослини.

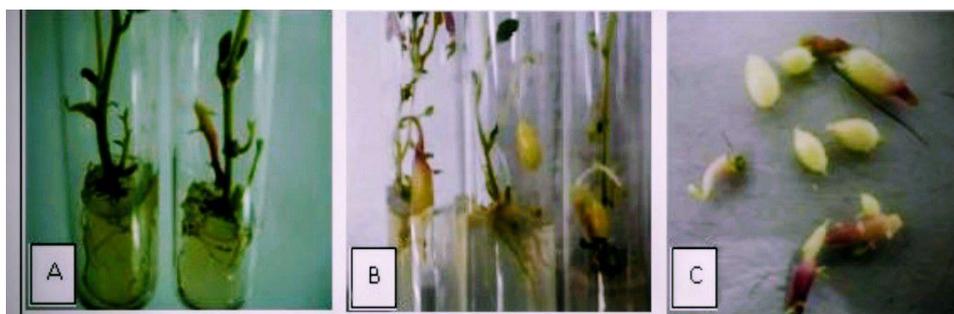


Рисунок 3.2. Саджанці сорту картоплі Корінна, що демонструють розвиток мікробульб *in vitro* (А і В); (С) Мікробульби після збору врожаю

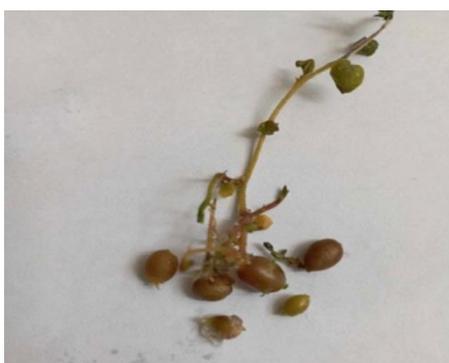


Рисунок 3.3. Мікробульби після збору врожаю сорту Княгиня

ВИСНОВКИ

Проведені дослідження дозволили встановити, що рівень сахарози в живильному середовищі Murashige & Skoog істотно впливає на інтенсивність ростових процесів, морфогенез і мікробульбоутворення картоплі *in vitro*. Обидва досліджувані сорти — Корінна та Княгиня — продемонстрували сортоспецифічну реакцію на зміну концентрації вуглеводів, що свідчить про наявність генетично зумовлених особливостей їх метаболізму та адаптації до умов культивування.

Для сорту Корінна оптимальним виявився рівень сахарози 3% (T1). Саме за цієї концентрації спостерігалася найвища швидкість утворення пагонів і коренів уже на п'ятий день культивування, тоді як за відсутності цукру (T0) цей процес відбувався значно повільніше. На тридцятий день розвитку рослини цього сорту формували максимальну кількість листків, вузлів, коренів та мали найбільшу довжину пагонів і кореневої системи. Подальше підвищення концентрації сахарози до 6–11% призводило до поступового зниження всіх ростових показників, що пояснюється надмірним осмотичним тиском середовища і порушенням водного обміну у тканинах. Таким чином, для сорту Корінна надлишкові концентрації сахарози виконують не стимулюючу, а гальмівну роль у ростових процесах, пригнічуючи морфогенез.

На відміну від Корінна, сорт Княгиня продемонстрував зворотну тенденцію: підвищення рівня сахарози від 3% до 11% супроводжувалося стабільним зростанням усіх морфометричних параметрів. Максимальні показники кількості листків, вузлів, довжини пагонів і коренів відзначалися при 11% сахарози (T4). Це свідчить, що Княгиня має вищу толерантність до осмотичних змін середовища та здатна ефективніше використовувати додаткові джерела вуглецю для синтезу біомаси. Генетичні особливості цього сорту, очевидно, зумовлюють підвищену активність ферментів, що беруть участь у засвоєнні цукрів, а також більшу адаптивність до умов *in vitro*.

Результати мікробульбоутворення підтвердили встановлену закономірність. Для сорту Корінна найбільш інтенсивне формування мікробульб відбувалося при 8% сахарози (Т3) — за цієї концентрації спостерігалася максимальна свіжа маса, діаметр і кількість вічок на мікробульбі. Збільшення рівня цукру до 11% викликало зниження цих показників і затримку у формуванні мікробульб, що свідчить про перевищення оптимального осмотичного порогу для цього сорту. Для Княгині, навпаки, найкращі результати отримано при 11% сахарози: мікробульби мали найбільшу масу, діаметр та кількість вічок, а їх кількість на саджанець була максимальною. Це підтверджує, що сорт Княгиня ефективніше використовує підвищені концентрації сахарози для накопичення поживних речовин і диференціації тканин.

Таким чином, можна зробити висновок, що вплив сахарози на процеси росту й морфогенезу картоплі *in vitro* визначається генотипом сорту. Сорт Корінна характеризується оптимальним ростом при помірному вмісті вуглеводів (3–8%), тоді як сорт Княгиня потребує підвищеного рівня (8–11%) для максимальної активації фізіолого-біохімічних процесів. Надто низький або надто високий вміст сахарози в середовищі знижує життєздатність експлантів, уповільнює ріст і обмежує мікробульбоутворення.

Отримані результати мають практичне значення для оптимізації технологій мікроклонального розмноження картоплі різних сортів. Встановлено, що підбір індивідуальних концентрацій сахарози є ключовим фактором успішної регенерації, забезпечення нормального фотоморфогенезу та формування мікробульб. Використання оптимальних параметрів дозволить підвищити ефективність розмноження елітного посадкового матеріалу та скоротити тривалість лабораторного циклу вирощування.

Підсумовуючи, можна зазначити, що рівень сахарози є одним із головних регуляторів росту та морфогенезу картоплі в культурі *in vitro*. Його оптимізація відповідно до сортових особливостей є передумовою створення ефективних технологічних схем масового мікроклонального розмноження,

спрямованих на отримання високоякісних рослин із стабільними генетичними та морфологічними характеристиками.

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 ХХІ 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.; Lakhiar, 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.