

УДК 635.21 : 581.4:573.6

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ РАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ *IN VITRO* В ЗАВИСИМОСТИ ОТ РАЗЛИЧНЫХ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД

© 2018 А.В. Милехин, А.Л. Бакунов, С.Л. Рубцов, Н.Н. Дмитриева

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Самарский научно-исследовательский институт сельского хозяйства имени Н. М. Тулайкова»,
п.г.т. Безенчук, Самарская область

Статья поступила в редакцию 03.10.2018

Представлены результаты работы по оптимизации и повышению эффективности производства оздоровленных микрорастений картофеля. В эксперименте с сортами Жигулевский и Джувел показана возможность замены стандартных компонентов питательной среды Мурасиге-Скуга на водорастворимые комплексные удобрения Акварин. Рекомендованы модификации Акварина, при использовании которых рост и развитие меристемных растений картофеля происходят наиболее эффективно.
Ключевые слова: семеноводство картофеля, биотехнология, меристемные растения, питательные среды, акварин.

DOI: 10.24411/1990-5378-2018-00079

ВВЕДЕНИЕ

Основным путем увеличения производства картофеля и эффективности картофелеводства во всех категориях хозяйств является сортовое сертифицированное семеноводство. Именно от качества семенного материала зависит большая часть урожайности. Самарская область находится в зоне массового распространения вирусных, виroidных и фитоплазменных заболеваний картофеля, их источников и переносчиков, а также в зоне недостаточного увлажнения и высоких температур воздуха в период вегетации, что способствует быстрому распространению инфекции. Так, снижение урожайности в результате нарастания заражения наиболее вредоносными вирусами Y, X, виroidом веретеновидности клубней может достигать 80%. Таким образом, для получения высоких устойчивых урожаев безусловную важность приобретает использование полностью оздоровленного высокопродуктивного семенного картофеля.

Современная система безвирусного семеноводства картофеля на первом этапе включает группу биотехнологических методов, основной из которых – получение из апикальной меристемы свободных от инфекции растений и их раз-

множение *in vitro*. Важнейшим фактором, влияющим на рост и развитие меристемных растений картофеля, является питательная среда. В настоящее время для регенерации меристем и последующего микрочеренкования преимущественно используются различные модификации среды Мурасиге-Скуга. По вопросам модификации питательной среды с целью повышения эффективности производства растений картофеля *in vitro* имеется обширный исследовательский материал, посвященный как подбору оптимального сочетания традиционных компонентов, так и созданию новых питательных сред для конкретных сортов картофеля [1, 2, 3, 4]. Экспериментально показана возможность выращивания растений картофеля в меристемной культуре при увеличении концентрации сахарозы в питательной среде Мурасиге-Скуга до 4 % [5], питательные среды оптимизированы по содержанию комплекса витаминов (тиамин, пиридоксин, никотиновая кислота) [6]. Установлено, что использование питательной среды с концентрацией гиббереллиновой кислоты более 1 мг/л с кислоты приводит к увеличению длины микрорастений и количества междоузлий [7]. Интенсификации процессов морфогенеза, ризогенеза и образования микроклубней меристемных растений картофеля способствует применение ионов Скулачева (SkQ1) [8, 9], которые представляют собой соединения проникающего катиона трифенилдецилфосфония и производных пластихинона хлоропластов и являются специфическими регуляторами внутриклеточного баланса активных форм кислорода. [10]. Более эффективные ростовые процессы в условиях *in vitro* у сортов Ермак, Алена и Хозяюшка наблюдались при использовании питательной среды Мурасиге-Скуга с добавлением 0,005 мг/л феруловой кислоты [11], обладающей

Милехин Алексей Викторович, кандидат с.-х. наук, зав. лабораторией биотехнологии сельскохозяйственных растений. E-mail: samniish@mail.ru

Бакунов Алексей Львович, кандидат с.-х. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории биотехнологии сельскохозяйственных культур. E-mail: bac24@yandex.ru

Рубцов Сергей Леонидович, научный сотрудник лаборатории биотехнологии сельскохозяйственных растений.
Дмитриева Надежда Николаевна, старший научный сотрудник лаборатории биотехнологии сельскохозяйственных растений.

сильным действием на ростовые процессы, выступая в качестве активатора ИУК-оксидазы, а также ингибирующим действием против вирусов растений [12].

Однако довольно существенным недостатком использования различных модификаций среды Мурасиге-Скуга является постоянная необходимость приготовления растворов макро- и микросолей, включающих по 12-15 компонентов, что увеличивает затраты труда. Таким образом, актуальным является вопрос оптимизации и повышения эффективности процесса производства микрорастений картофеля. Одним из способов решения этого вопроса могло бы стать использование в питательной среде водорастворимых удобрений типа Акварин.

Целью работы является изучение роста и развития растений картофеля в меристемной культуре с использованием питательной среды, в которой оригинальные макросоли и микросоли по Мурасиге-Скугу заменены водорастворимыми удобрениями с разной концентрацией макро- и микроэлементов.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

В качестве объекта исследований использовались меристемные растения картофеля сортов Жигулевский и Джувел. Питательной средой служил раствор агар-агара в концентрации 7 г/л, в который вместо стандартных компонентов среды Мурасиге-Скуга добавлялись различные модификации комплексного водорастворимого удобрения Акварин (таблица 1). Концентрация маточного раствора удобрений составляла 0,04 г/мл, для приготовления питательной среды использовали 25 мл маточного раствора на 1 литр среды. Контроль – среда Мурасиге-Скуга в модификации Украинского НИИКХ.

Регенеранты выращивались в пробирочной культуре по 20 растений каждого сорта на каждом варианте опыта при 16-часовом световом дне. Всего было проведено три цикла выращивания длительностью по 30 дней. По окончании каждого цикла оценивались показатели, характеризующие развитие растений: длина расте-

ния, количество междоузлий на одно растение, количество корней на одно растение.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Двухфакторный дисперсионный анализ показателей роста и развития регенерантов выявил высокую достоверность различий по этим показателям, как между генотипами, так и между вариантами опыта с использованием различных питательных сред.

Важнейшим показателем развития растений картофеля *in vitro* является их длина. При анализе данного показателя установлено, что длина регенерантов сорта Жигулевский была достоверно выше контрольных значений при использовании Акваринов 2 и 6. Так, при выращивании на питательной среде с Акварином 2 и Акварином 6 средняя длина меристемных растений сорта Жигулевский составила 8,55 см, а в контрольном варианте – 7,21 см. Напротив, использование Акварина 4 привело к существенному замедлению роста регенерантов сорта Жигулевский, их средняя длина была лишь 4,05 см, что достоверно ниже контроля. При выращивании сорта Жигулевский на средах с Акварином 1, 3 и 5 различия с контрольным вариантом по длине растений были математически недостоверны.

Максимальная достоверно превышающая контроль длина регенерантов сорта Джувел выявлена при использовании Акварина 1 – 6,50 см. В остальных вариантах опыта этот показатель достоверно не различался с контролем.

При анализе средних показателей по фактору «среда» установлено достоверное превышение контроля по длине регенерантов в вариантах опыта 2 и 6 (7,29 и 7,27 см. соответственно), достоверное снижение в варианте 4 (4,54 см.) и отсутствие достоверных различий с контролем в вариантах 1, 3 и 5 (табл. 2).

Изменчивость признака длины меристемных растений практически в равной степени была обусловлена влиянием генотипических и средовых факторов. На долю генотипических факторов приходилось 40,8 % общего варьиро-

Таблица 1. Характеристика видов Акварина, использованных в качестве вариантов исследований

Модификация удобрения	Содержание макроэлементов, %				
	N	P ₂ O ₅	K ₂ O	MgO	S
Акварин 1	6	12	36	2	7,6
Акварин 2	18	18	18	2	1,5
Акварин 3	13	41	13	-	-
Акварин 4	15	5	30	1,7	1,3
Акварин 5	20	5	10	0,15	8,4
Акварин 6	13	5	25	2	8
Контроль	среда Мурасиге-Скуга в модификации Украинского НИИКХ				

Таблица 2. Длина меристемных растений картофеля при выращивании на питательных средах с различными модификациями Акварина

Сорт	Вид питательной среды, длина растений, см.							
	1	2	3	4	5	6	Контроль МС	Ср. по фактору А
Жигулевский	7,47	8,55	7,77	4,05	7,72	8,55	7,21	7,33
Джувел	6,50	6,03	4,64	5,02	4,97	6,00	5,39	5,51
Ср. по фактору В	6,99	7,29	6,21	4,54	6,35	7,27	6,30	-

НСР для любых средних – 1,09 см.

НСР по фактору А (сорт) – 0,41 см.

НСР по фактору В (среда) – 0,77 см

вания, на долю средовых факторов – 37,9%, а на взаимодействие факторов генотипа и среды приходилось 21,3% от общего варьирования признаков.

Количество междоузлий на одно растение картофеля *in vitro* важно для оценки количества черенков, которые могут быть получены с растения и, следовательно, для последующего прогнозирования коэффициента размножения. При анализе этого показателя установлено, что растения сорта Жигулевский сформировали максимальное количество междоузлий при выращивании на питательной среде с Акварином 3 – 8,95 шт., что достоверно превышает контрольный вариант, а минимальное количество – при использовании Акварина 4 (3,15шт.). Количество междоузлий при выращивании регенерантов сорта Жигулевский на питательной среде с Акваринами 1, 2, 5 и 6 достоверно не различалось с контрольным вариантом. У меристемных растений сорта Джувел достоверных различий с контролем по количеству междоузлий не выявлено на всех вариантах опыта, максимальные значения этого показателя отмечены при использовании Акваринов 5 и 6 (8,15 и 8,10 шт. соответственно).

Достоверное снижение количества междоузлий при анализе средних показателей по средовому фактору выявлено при использовании Акварина 4 (5,13 см.), аналогично с показателями длины регенерантов (табл. 3).

Варьирование количества междоузлий у меристемных растений картофеля сортов Жигулевский и Джувел преимущественно было обусловлено действием факторов среды. На долю этих факторов приходилось 49,3% от общего варьирования признака. Взаимодействие генотипических и средовых факторов давало 37,9%, а на долю генотипов приходилось лишь 12,8% от общего варьирования признака.

Наиболее интенсивный ризогенез у регенерантов сорта Жигулевский наблюдался при их выращивании на питательных средах с Акваринами 2 и 3 (11,65 и 11,80 корней на одно растение соответственно). В других вариантах опыта существенных различий с контролем по этому показателю не выявлено. Регенеранты сорта Джувел сформировали максимальное количество корней, достоверно превосходящее контрольный вариант, при использовании питательных сред с Акваринами 1, 2 и 3 (9,21; 7,87 и 7,89 шт. соответственно). В других вариантах также не выявлено существенных различий с контролем. При анализе средних показателей по фактору среды также выявлено достоверное превышение контрольного варианта при использовании Акваринов 1, 2 и 3 (9,65; 9,76 и 9,84 корней на одно растение соответственно) и отсутствие существенных различий с контролем в вариантах 4, 5 и 6 (табл. 4).

В отличие от показателей длины растения и количества междоузлий, варьирование количе-

Таблица 3. Количество междоузлий у меристемных растений картофеля при выращивании на различных видах питательной среды

Сорт	Вид питательной среды, количество междоузлий, шт.							
	1	2	3	4	5	6	Контроль МС	Ср. по фактору А
Жигулевский	6,45	6,90	8,95	3,15	6,70	6,70	7,58	6,63
Джувел	6,89	7,75	7,39	7,10	8,15	8,10	7,42	7,54
Ср. по фактору В	6,67	7,32	8,17	5,13	7,42	7,40	7,50	-

НСР для любых средних – 1,19 шт.

НСР по фактору А (сорт) – 0,45 шт.

НСР по фактору В (среда) – 0,84 шт

Таблица 4. Количество корней у меристемных растений картофеля при выращивании на различных видах питательной среды

Сорт	Вид питательной среды, количество корней, шт.							Контроль МС	Ср. по фактору А
	1	2	3	4	5	6			
Жигулевский	10,10	11,65	11,80	10,15	9,75	10,20	9,42	10,44	
Джувел	9,21	7,87	7,89	7,16	6,85	7,16	5,74	7,41	
Ср. по фактору В	9,65	9,76	9,84	8,65	8,30	8,68	7,58	-	

НСР для любых средних – 1,75 шт.
НСР по фактору А (сорт) – 0,66 шт.
НСР по фактору В (среда) – 1,24 шт

ства корней в существенной степени было обусловлено воздействием генотипических факторов. На их долю приходилось 72,8% от общего варьирования признака, тогда как на средовые факторы 20,0%, а на взаимодействие генотипа и среды лишь 7,2%.

Таким образом, показана принципиальная возможность роста и развития меристемных растений картофеля при использовании различных модификаций водорастворимого удобрения Акварин вместо стандартных компонентов среды Мурасиге-Скуга. При этом модификации Акваринов 2 и 6 (табл. 1) оказывают положительное влияние на рост регенерантов картофеля, что проявляется в достоверном увеличении их длины в сравнении с контрольным вариантом. Использование Акварина в модификации 3 (табл. 1) привело к существенному увеличению количества междоузлий у меристемных растений сорта Жигулевский, а питательная среда с Акваринами в модификациях 2 и 3 (табл. 1) способствовала существенному увеличению интенсивности ризогенеза как у сорта Жигулевский, так и у сорта Джувел. В то же время использование Акварина 4 (табл. 1) привело к достоверному снижению длины растений обоих изученных сортов и достоверному снижению количества междоузлий у растений сорта Жигулевский.

Следовательно, в целях оптимизации и повышения эффективности производства оздоровленных микрорастений картофеля можно рекомендовать для замены стандартных компонентов среды Мурасиге-Скуга водорастворимые удобрения Акварин в модификациях 2, 3 и 6. Однако в связи с тем, что варьирование основных признаков, характеризующих рост и развитие регенерантов картофеля, может в разных случаях зависеть как от генотипических, так и от средовых факторов, использовать такую среду возможно только после предварительного изучения реакции на нее каждого конкретного сорта.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Леонова Н.С.* Изменчивость в культуре картофеля (*Solanum tuberosum L.*) in vitro и возможности её использования в селекции семеноводстве: автореф. дис. ... докт. биол. наук: 03.01.06. «Биотехнология». Улан-Уде, 2010. 34 с.
2. *Назарова В.Ф.* Оптимизация элементов технологии семеноводства картофеля на основе микроклонального размножения посадочного материала: автореф. дис. ... канд. с.-х. наук: 06.01.05 «Селекция и семеноводство сельскохозяйственных растений». М., 2011. - 21с.
3. *Koleva Gudeva Liljana, Mitrev S., Trajkova Fidanka, Ilievski Mite.* Micropropagation of Potato *Solanum tuberosum L.* // Electronic Journal of Biology. - 2012. - Vol 8(3). - P. 45-49.
4. *Fufa M., Mulugeta D.* Microtuber induction of two potato (*Solanum tuberosum L.*) varieties // Advances in Crop Science and Technology Fufa and Diro, Adv Crop Sci. Tech. -2014. -P. 122
5. Черемисин А.И., Купман В.Н. Влияние состава питательной среды при микроклональном размножении сортов и гибридов картофеля // Вестник Омского ГАУ. 2017. №4(28). - с. 87-91
6. *Myakisheva E.P., Durnikin D.A., Tavortkiladze O.K.* Influence of vitamin morphogenesis regenerated plants potato in vitro to intensify production of elite planting material. // Biological Bulletin of Bogdan Chmelinitskiy Melitopol State Pedagogical University. 2016. 6(2). - P. 166-173
7. *Ходаева В.П., Куликова В.И.* Размножение сортов картофеля в культуре in vitro на различных питательных средах. // Достижения науки и техники АПК. 2016. Т.30. №10. - С. 66-68
8. *Галушка П.А., Усков А.И., Кравченко Д.В.* Рост развитие ростовых черенков картофеля in vitro при использовании препарата SkQ1 // Достижения науки и техники АПК. 2011. № 4. - С. 40-41
9. *Кравченко Д.В., Галушка П.А.* Влияние ионов Скулачева (SkQ1) на формирование микроклубней картофеля in vitro. // Картофелеводство, сборник научных трудов. /Минск, 2013. Т21(2). -С. 65-70
10. *Скулачев В.П.* Снижение внутриклеточной концентрации O₂ как особая функция дыхательных систем клетки. // Биохимия, 1994. -Т59. вып. 12. с. 1910-1912.
11. *Киргизова И.В., Гаджимурадова А.М., Калиев Н.Б.* Математическое моделирование динамик роста

вых процессов картофеля *in vitro* при использовании различных вариантов питательных сред на основе динамических моделей обработки рядов. // Омский научный вестник. 2017. №5(155). - С. 168-174

12. Wu Z., Zhang J., Chan J. Design, synthesis, antiviral bioactivity and three dimensional quantitative structure-activity relationship study of novel ferulic acid ester derivatives containing quinazoline moiety. // Pest Management Science. 2017. P. 1-11.

MORPHOLOGICAL PARAMETERS OF POTATO PLANTS IN VITRO DEPENDING ON VARIOUS NUTRIENT MEDIUMS

© 2018 A. V. Milyokhin, A.L. Bakunov, N. N. Dmitrieva, S. L. Rubtsov

Samara Research Scientific Institute of Agriculture, Bezenchuk, Samara region

Results of work on optimization and efficiency improvement of potato virus-free micro-plants are presented. In experiment with varieties Zhigulyovsky and Juwel the possibility of replacement of standard components of Murashige and Skoog nutrient medium on water-soluble complex fertilizers Aqarin is shown. Aqarin modifications, the use of which growth and development of potato micro-plants occurs most effectively are recommended.

Keywords: potato seed growing, biotechnology, meristem virus-free plants, nutrient mediums, aquarin.

DOI: 10.24411/1990-5378-2018-00079

Alexey Milyokhin, PhD, Head of Laboratory of Agricultural Plants Biotechnology. E-mail: samniish@mail.ru

Alexey Bakunov, PhD, Leading Scientist.

E-mail: bac24@yandex.ru

Sergey Rubtsov, Scientist.

Nadezhda Dmitrieva, Senior Scientist.