

**ВЛИЯНИЕ САХАРОЗЫ И РЕГУЛЯТОРА РОСТА НА ИНДУКЦИЮ ОБРАЗОВАНИЯ
МИКРОКЛУБНЕЙ КАРТОФЕЛЯ В КУЛЬТУРЕ IN VITRO**
**Growth saccharine and regulators influence on induction of potato microtubers formation in
culture in vitro**

Кокшарова М. К., канд. с.-х. наук, ведущий научный сотрудник селекционно-технологического центра по картофелю Уральского НИИ сельского хозяйства
(Екатеринбург, ул.Главная, 21)

Лепп Ф. Р., научный сотрудник селекционно-технологического центра по картофелю
(Екатеринбург, ул.Главная, 21)

Келик Л.А., научный сотрудник селекционно-технологического центра по картофелю
(Екатеринбург, ул.Главная, 21)

Рецензент: А. П.Колотов, канд. с.-х. наук зам.директора по научной работе Уральского НИИ сельского хозяйства

Аннотация

Представлены результаты по изучению выращивания микроклубней на питательных средах с различным уровнем содержания сахарозы. Замечено, что при использовании низких доз сахарозы - 20 г/л питательного раствора микроклубни образовали всего от 22 до 34 % пробирочных растений. Пропорциональное же увеличение сахарозы в питательной среде стимулировало клубнеобразование у растений. Установлено, что оптимальной средой для образования микроклубней сорта Каменский является среда с содержанием сахарозы 60 г/л, сорта Ирбитский - 80 г/л. Микроклубни получены у 82-84 % растений.

В статье приведены результаты исследований по изучению влияния разных доз оротовой кислоты на образование микроклубней *in vitro*. Выявлено, что в условиях естественного освещения регулятор роста не оказал существенного влияния на формирование микроклубней пробирочной культуры картофеля, а при искусственном освещении следует добавлять в питательную среду оротовую кислоту в дозе 15-25 мг/л.

Ключевые слова: Картофель, микроклубни, пробирочная культура, питательная среда, сахароза, оротовая кислота, регулятор роста, искусственное и естественное освещение.

Summary

Results on studying of cultivation of microtubers on nutrient mediums with various level of content of saccharine are presented. It is noticed that when using low doses of sacharine - 20 g/l of nutritious solution microtubers have formed from only 22 to 34% the test tube of plants. Proportional increase in saccharine stimulated a tubers formation at plants in culture medium. It is established that the optimum environment for formation of microtubers of a grade Kamensky with the content of saccharine of 60 g/l, grade Irbitsky - 80 g/l. Microtubers are received at 82-84% of plants.

The article presents results of studies on the effect of different doses of orotic acid on the formation of microtubers in an *in vitro* culture. It was revealed that under natural light growth regulator did not have a material impact on the formation of microtubers of potato test tube culture, and artificial light to be added to the culture medium orotic acid at a dose of 15-25 mg/l.

Keywords: Potato, microtubers, test tube culture, culture medium, saccharine, orotic acid, growth regulator, artificial and natural light.

Введение

В настоящее время во всех странах мира, которые занимаются производством картофеля, уделяется особое внимание здоровому посадочному материалу. Известно, что фитопатогенные микроорганизмы могут снизить до 50 % урожая этой важнейшей сельскохозяйственной культуры. Наиболее вредоносными формами считаются вирусные инфекции (ВСК, ХВК, АВК, УВК и др.), бактериозы (черная ножка, кольцевая гниль), фитофтороз [1]. Вирусы быстро распространяются переносчиками и всегда передаются вегетативно через клубни. Вследствие этого ухудшаются рост и развитие растений, снижается урожай, качество и товарность клубней. Происходит вырождение сорта.

Современная система семеноводства картофеля позволяет получать семенной материал свободный от фитопатогенов, благодаря передовым биотехнологическим приемам. Это, прежде всего, метод на основе меристемно-тканевой культуры с последующим микроклональным размножением проверенного на ИФА и ПЦР исходного материала. Этот метод исключает повторное заражение растений вирусами и обеспечивает максимальный выход посадочного материала, который генетически идентичен материнской культуре. Другой, не менее интересный, метод ускоренного размножения – получение *in vitro* микроклубней. Использование микроклубней в качестве исходного материала в производственных условиях позволяет увеличить продуктивность растений и количественный выход семенных клубней с единицы площади в последующих полевых поколениях. По мнению многих авторов, этот метод позволяет обходиться без трудоемких работ, упрощает и удешевляет семеноводческий процесс. По-сравнению со стандартными семенами микроклубни свободны от патогенов, а благодаря малому размеру и массе (0,2-0,3 г) микроклубни проще хранить и транспортировать. Кроме того, они могут быть использованы для накопления размножаемого материала в межсезонье, а также для непосредственного высаживания в теплицу и поле [4, 5, 6].

Такие исследователи как Артюхова С. И., Киргизова И. В., Овчинникова В. Н. и многие другие в своих работах отмечают, что на образование микроклубней оказывают влияние многие факторы [2, 3]. Это и сортовая особенность, состав питательной среды, освещение, температура и др. В том числе немаловажную роль играет содержание сахарозы в питательной среде. Отмечено, что появление микроклубней из мериклонов стимулируется с увеличением концентрации сахарозы. Повышается не только эффективность клубнеобразования, но и улучшаются морфометрические характеристики микроклубней. В качестве ростовых регуляторов ученые используют аденин, кинетин, ИУК, феруловую кислоту и другие. В качестве индуктора клубнеобразования в нашем опыте была использована оротовая кислота - производное пиримидинового основания урацила. Содержится во всех живых клетках, участвует в биосинтезе пиримидиновых нуклеотидов, стимулирует рост растений и животных [7].

Технология получения микроклубней обязательно найдет свое применение в ускоренном размножении новых сортов картофеля. Предполагаем, что такие семена займут центральное место в торговле посадочным материалом в ближайшем будущем, поэтому изучение элементов технологии получения микроклубней интересно и актуально.

Цель исследований – изучить возможность образования микроклубней на питательных средах с разным уровнем содержания сахарозы и регулятора роста.

Материалы и методы. По теме исследования были заложены два лабораторных опыта с сортами картофеля Уральской селекции - Каменский (ранний) и Ирбитский (среднеранний). Для эксперимента брали выровненные по своему развитию меристемные

растения и разрезали на два черенка (с тремя почками с верхней и нижней части растения), которые высаживали в равных количествах на питательные среды Мурасиге-Скуга. Культивирование растений проводили в осенне-зимний период на световых установках при 16-часовом световом периоде при дневной температуре 23-25 °С и ночной - 20-22 °С. В первом опыте среды различались только по содержанию сахарозы (20, 40, 60, 80 и 100 г/л). За контроль была взята среда с содержанием сахарозы 20 г/л, которая обычно используется для производственного ускоренного размножения картофеля. Во втором опыте питательные среды различались только по содержанию оротовой кислоты (5, 10, 15, 20 и 25 мг/л) при этом концентрация сахарозы в растворе составляла 8%. Кроме того растений второго опыта культивировали не только в условиях искусственного освещения, но и при естественном свете.

Результаты исследований

Наблюдения показали, что развитие черенков и образование микроклубней проходило на всех вариантах по-разному и зависело от содержания сахарозы в питательной среде. Растения контрольного варианта, как и следовало ожидать, имели мощный стебель высотой 10 см с крупными листьями и хорошо развитую корневую систему. Микроклубни образовали каждое третье растение сорта Каменский (34 % от количества высаженных растений) и каждое пятое сорта Ирбитский (22,5 %). Образование микроклубней, на наш взгляд, у данного варианта связано с биологическим возрастом растений. Период вегетации в опыте составил 90 дней. При ведении коллекции пробирочной культуры образование микроклубней часто наблюдается при длительном затягивании черенкования, особенно в осенний период.

В ходе исследований было замечено, что с повышением концентрации сахарозы в питательной среде, увеличивалось число растений, образовавших микроклубни. Так, максимальное количество растений с клубеньками были получены у сорта Каменский на питательной среде с дозой сахарозы 60 г/л. Микроклубни образовали 82 % растений, что в 2,4 раза больше, чем у растений контрольного варианта. Дальнейшее повышение дозы сахарозы в питательной среде с 60 г/л до 100 г/л привело к снижению образования клубеньков у 17 % растений (таблица 1).

Таблица 1

Образование микроклубней картофеля *in vitro* сортов Каменский и Ирбитский в зависимости от доз сахарозы в питательной среде, 2014 – 2016 гг.

Ва- риант	Содержание сахарозы, г/л	Количество высаженных растений, шт	Количество растений, сформировавших клубни		Получено микроклубней, шт	Средняя масса микроклубня, мг
			шт	%		
Сорт Каменский						
1	20	40	13	34,0	15	242
2	40	38	24	63,1	27	309
3	60	39	32	82,0	34	242
4	80	40	29	72,5	31	246
5	100	40	26	65,0	30	215
Сорт Ирбитский						
1	20	40	9	22,5	12	103
2	40	39	12	30,7	15	158
3	60	40	27	67,5	29	250
4	80	39	33	84,6	37	281
5	100	36	30	83,3	31	211

При выращивании микроклубней сорта Ирбитский выявлено, что растения этого сорта, по сравнению с сортом Каменский, обладают пониженной способностью клубнеобразования. У сорта Ирбитский начало клубнеобразования по вариантам наступило на 8-12 дней позже, чем у растений сорта Каменский. Это объясняется скороспелостью сорта: сорт Ирбитский относится к среднеранней группе, а сорт Каменский к ранней. Установлено, что для получения большего количества микроклубней сорта Ирбитский, необходимы более высокие дозы сахарозы. Наиболее оптимальной оказалась среда с содержанием 80 г сахарозы на один литр питательного раствора, где 84,6 % растений сорта Ирбитский образовали микроклубни. При этом средняя масса клубенька составила 281 мг, что в 2,7 раза больше, чем у микроклубней контрольного варианта. У всех вариантов опыта, не зависимо от содержания сахарозы в питательной среде, растения образовали, в основном, по одному микроклубню.

В опыте с применением различных доз оротовой кислоты у всех вариантов были получены микроклубни, но их количество зависело от дозы регулятора роста в питательной среде, условий освещения и сорта. У растений контрольного варианта (без содержания оротовой кислоты) при искусственном освещении микроклубни получены у 68,5 % растений сорта Каменский и 57,7 % сорта Ирбитский. Добавление в питательную среду оротовой кислоты в дозе 5 и 10 мг/л существенно не повлияло на образование клубеньков у растений (таблица 2).

Таблица 2

Влияние оротовой кислоты на формирование микроклубней картофеля сортов Каменский и Ирбитский при естественном и искусственном освещении, 2014 – 2016 гг.

Среда	Содержание оротовой кислоты, мг/л	Освещенность	Количество высаженных растений, шт	Число растений, образовавших микроклубни		Получено микроклубней, шт	Средняя масса 1 микроклубня, мг
				шт	%		
Сорт Каменский							
1 (к)	-	естественная	37	34	92,0	37	301
		искусственная	35	24	68,5	26	212
2	5	естественная	40	40	100	42	269
		искусственная	36	29	80,5	32	210
3	10	естественная	32	30	83,3	35	286
		искусственная	34	20	58,8	20	236
4	15	естественная	39	36	92,3	41	281
		искусственная	35	31	88,5	32	252
5	20	естественная	34	32	97,1	36	299
		искусственная	29	22	75,8	31	239
6	25	естественная	36	35	97,2	39	258
		искусственная	31	25	80,6	33	283
Сорт Ирбитский							
1(к)	-	естественная	37	33	91,8	38	252
		искусственная	40	23	57,7	26	248
2	5	естественная	40	39	97,5	55	277
		искусственная	38	25	65,7	26	270
3	10	естественная	41	41	100	59	330
		искусственная	36	20	55,5	25	270
4	15	естественная	40	38	95,0	60	305
		искусственная	39	25	64,1	26	322
5	20	естественная	34	34	100	38	308
		искусственная	31	23	74,1	26	348
6	25	естественная	38	37	97,3	46	293
		искусственная	30	24	80,0	25	325

Однако, дальнейшее повышение содержания оротовой кислоты в питательной среде до 15 мг/л способствовало образованию клубеньков у максимального количества растений только у сорта Каменский. Здесь микроклубни получены у 88,5 % растений. Для образования микроклубней картофеля сорта Ирбитский при искусственном освещении потребовались более высокие дозы оротовой кислоты. Наибольшее количество растений (80 %) с клубеньками получены при максимальной испытываемой дозе оротовой кислоты – 25 мг/л.

В ходе исследований было установлено, что при выращивании микроклубней при естественном освещении роль оротовой кислоты, как регулятора клубнеобразования, снижается. Так, 92 % растений *in vitro* образовали микроклубни на питательной среде без оротовой кислоты. Для получения микроклубней у ста процентов растений сорта Каменский потребовалось 5 мг оротовой кислоты на 1 литр питательного раствора, соответственно у растений сорта Ирбитский – 10 мг/л. Оротовая кислота не оказала влияния на количественный выход клубней и их среднюю массу по вариантам опыта.

Заключение

Основным компонентом питательной среды для образования микроклубней *in vitro* является сахароза. Наиболее оптимальной для раннего картофеля сорта Каменский является среда с содержанием сахарозы 60 г/л, для среднераннего сорта Ирбитский – 80 г/л. Для образования микроклубней картофеля *in vitro* в условиях естественного освещения следует добавлять в питательную среду оротовую кислоту в дозе 5-10 мг/л. При выращивании микроклубней на световых установках дозу оротовой кислоты для растений сорта Каменский необходимо повысить до 15 мг/л, для сорта Ирбитский - до 25 мг/л.

Библиографический список

1. *Анисимов Б.В.* Вирусные болезни и их контроль в семеноводстве картофеля. Защита и карантин растений.
2. *Артюхова С.И., Киргизова И.В.* Биотехнологический способ размножения оздоровленного картофеля Западной Сибири микроклубнями в условиях *in vitro*// Современные наукоемкие технологии. 2014. № 12. С. 107.
3. *Балашова Г.С.* Влияние температуры, фотопериода и концентрации микросолей в питательной среде на продуктивность картофеля в культуре *in vitro* // Молодой ученый.- 2015.- № 14.- С. 675-678.
4. *Дерябин А.Н., Юрьева Н.О.* Образование и морфометрические показатели микроклубней картофеля *in vitro* при разном составе сахаров в среде// Сельскохозяйственная биология, 2011. № 1. С. 54 -59.
5. *Кокшарова М.К.* Микроклубни как посадочный материал. Картофель и овощи. 2016. № 3. С. 31.
6. *Смолеговец Д.В.* Особенности выращивания *in vitro* микроклубней и их использование в оригинальном семеноводстве картофеля. Автореф.дисс. Москва, 2008.
7. *Токбергенова Ж.А.* Индуктор ускоренного получения микроклубней картофеля *in vitro*. Картофель и овощи, 2010. № 3. С. 23-24.