

К.Ю. Гусева, И.Д. Бородулина, Е.П. Мякишева, О.К. Таварткиладзе
Укоренение *in vitro* сортов картофеля (*Solanum tuberosum* L.)

K.Yu. Guseva, I.D. Borodulina, E.P. Myakisheva, O.K. Tavartkiladze
Rooting of Potato (*Solanum Tuberosum* L.) Varieties *in vitro*

Изучались особенности укоренения при клональном микроразмножении сортов картофеля. В результате проведенных исследований определена оптимальная концентрация гормона роста (НУК), обеспечивающая интенсивный ризогенез и развитие морфологических признаков.

Ключевые слова: картофель, укоренение *in vitro*, ризогенез, концентрация ауксина.

Картофель (*Solanum tuberosum* L.) является одной из важнейших продовольственных, технических и кормовых культур. В мировом производстве растительных продуктов питания картофель занимает 4-е место, уступая пшенице, кукурузе и рису. Биотехнология картофеля *in vitro* нашла широкое применение в первичном семеноводстве данной культуры — в технологиях оздоровления, микрклонального размножения, депонирования сортовых коллекций *in vitro*, в получении микроклубневого посадочного материала [1, с. 3; 2, с. 3].

М. А. Эрастова и Ю. Н. Федорова [3, с. 21] отмечают, что сорта картофеля сильно различаются по их способности развиваться в культуре *in vitro* в зависимости от состава питательной среды.

Целью исследования явилось изучение влияния концентрации ауксина на ризогенез картофеля в культуре *in vitro*.

Объекты и методы исследования. Объектом для исследования служили четыре сорта картофеля: раннеспелый — Ред Скарлет (Голландия); среднеранние — Адретта (Германия) и Кузнечанка (Кемеровский НИИСХ) и среднеспелый — Тулеевский (Кемеровский НИИСХ и ВНИИКС). Данные сорта были выбраны вследствие их вкусовых качеств, высокой урожайности, крупноплодности. Все сорта внесены в государственный реестр РФ.

Метод исследования основывался на общепринятых классических приемах работы с культурами изолированных тканей и органов растений. В качестве эксплантов использовали микрочеренки с 1–2 пазушными почками и верхушки микропобегов. Укоренение микрорастений проводили на агаризованной питательной среде по прописи Мурасиге и Скуга (МС), дополненной для индукции ризогенеза ауксином — 1-нафтилуксусной кислотой (НУК) в различных концентрациях: 0,1; 0,5; 1,5; 3,0 и 5,0 мкМ.

Rooting of potato varieties for clonal micropropagation is studied. The studies determined the optimal concentration of growth hormone (NAC) which provides intensive rhizogenesis and development of morphological features.

Key words: potatoes, rooting *in vitro*, rhizogenes, concentration of the auxins.

Экспланты культивировали в следующих условиях: фотопериод 16/8 ч свет/темнота, освещенность 2–3 клк, температура 24±1 °С. Длительность пассажа составляла 25–30 дней. Через 20 сут. фиксировали показания: количество корней, шт./экспл.; длина корней, мм; высота побега, мм; количество листьев на побеге, шт./экспл.; наличие каллуса, +/–. Статистическую обработку данных осуществляли с использованием пакета прикладных программ Microsoft Office Excel 2007. Расчет абсолютной скорости роста (К) морфологических признаков проводили по следующей формуле:

$$K = \frac{W_2 - W_1}{t_2 - t_1},$$

где W1 и W2 — параметры растения или его отдельного органа в моменты времени t1 и t2.

Исследования выполнены в 2012–2013 гг. на кафедре экологии, биохимии и биотехнологии АлтГУ.

Результаты исследований и их обсуждение. Укоренение размноженных побегов *in vitro* представляет собой третий этап клонального микроразмножения. От типа и концентрации ауксина на этом этапе, согласно литературным данным [4, с. 51], зависит эффективность корнеобразования у микрорастений. Традиционно для индукции ризогенеза используют ауксины ИУК, ИМК, НУК или их сочетания [5, с. 19].

В наших экспериментах в качестве стимулятора корнеобразования у микрорастений четырех сортов картофеля была использована НУК.

Изучение влияния концентрации НУК (0,1; 0,5; 1,5; 3,0 и 5,0 мкМ) на ризогенез сортов картофеля *in vitro* показало, что через 20 сут. максимальное количество корней (24,0±9,8: от 3 до 43 шт./экспл.) было получено у сорта Тулеевский на питательной среде с 0,5 мкМ НУК (рис. 1). Это в 2,4 раза больше, чем у сорта Адретта (9,8±7,0 шт./экспл.), в 1,6 и 1,7 раза больше по сравнению с Кузнечанкой (14,3±8,6 шт./экспл.) и Ред Скарлет (13,8±6,0) соответственно.

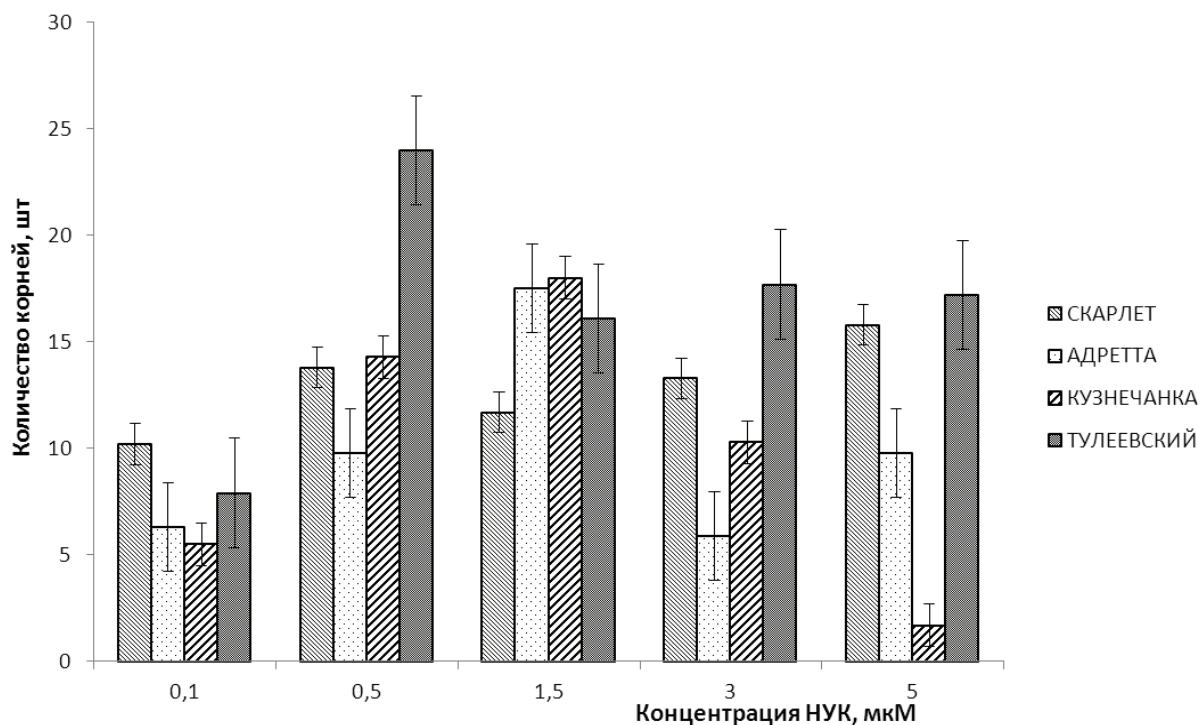


Рис. 1. Влияние концентрации НУК на укоренение сортов картофеля (*Solanum tuberosum* L.) в культуре *in vitro*

При использовании ауксина в концентрации 1,5 мкМ отмечалось более дружное корнеобразование у всех изучаемых сортов (в среднем $15,8 \pm 3,1$ шт./экспл.). Так, максимальное количество корней при данной концентрации ауксина наблюдалось у двух сортов: Адретта ($17,5 \pm 2,7$ шт./экспл.) и Кузнечанка ($18,0 \pm 3,0$ шт./экспл.); на уровне средней — у сорта Тулеевский ($16,1 \pm 4,1$ шт./экспл.) и на 4,1 корня меньше (относительно среднего значения) у сорта Ред Скарлет.

Увеличение концентрации ауксина индуцировало корнеобразование, но не столь интенсивно. В среднем корнеобразовательная способность мини-растений всех сортов на среде с 3,0 мкМ НУК составила $11,8 \pm 1,6$ шт./экспл., с 5,0 мкМ НУК — $14,3 \pm 2,3$ шт./экспл. Использование низкой концентрации ауксина (0,1 мкМ) вызывало слабую индукцию ризогенеза у всех исследуемых сортов картофеля.

Таким образом, наиболее эффективной для индукции корнеобразования явилась концентрация НУК, равная 1,5 мкМ, так как она обеспечивала наиболее массовое укоренение *in vitro* сортов картофеля. Наибольшим ризогенным потенциалом обладал сорт Тулеевский, для которого 0,5 мкМ НУК уже было достаточно для активного корнеобразования в культуре *in vitro*.

Анализ длины образовавшихся корней выявил, что у сорта Тулеевский в варианте с 0,5 мкМ НУК были самые длинные корни — $3,3 \pm 1,2$ см (рис. 2). В среднем при данной концентрации ауксина длина корней по сортам составила через 20 сут. $2,3 \pm 0,4$ см.

Такая же средняя длина корней наблюдалась и при использовании более высокой концентрации НУК — 1,5 мкМ, но при этом у всех сортов она была на уровне (у Тулеевского — $2,3 \pm 0,4$ см, у Адретты — $1,7 \pm 0,2$ см) и выше средней (у Ред Скарлет — $2,5 \pm 0,3$ см, у Кузнечанки (рис. 3) — $2,9 \pm 1,7$ см). Более высокие концентрации НУК (3,0 и 5,0 мкМ) ингибировали рост образовавшихся корней. Так, длина корней в варианте с 3,0 мкМ НУК в среднем не превышала 2,0 см, а с 5,0 мкМ НУК составила всего $1,1 \pm 0,1$ см.

Длина побега увеличивалась следующим образом: при использовании низких (0,1 мкМ) и высоких (5,0 мкМ) концентраций ауксина она была минимальной, в среднем по сортам — $2,8 \pm 0,2$ и $3,8 \pm 1,9$ см соответственно. На средах с 3,0 мкМ НУК средняя длина побега составила $3,9 \pm 1,5$ см, на 0,7 см выше ($4,6 \pm 1,7$ см) — в варианте с 1,5 мкМ НУК. Самые высокие побеги в среднем отмечены при использовании ауксина в концентрации 0,5 мкМ: от $4,3 \pm 1,6$ см (у Ред Скарлет) до $7,8 \pm 2,0$ см (у Тулеевского). Таким образом, наиболее оптимальной является концентрация НУК, равная 1,5 мкМ, так как на ней не происходит сильное вытягивание побегов сортов картофеля.

Максимально облиственные побеги наблюдались у сорта Тулеевский в варианте с 1,5 мкМ НУК; на 1,4 листа меньше у этого же сорта было в варианте с 0,5 мкМ ауксина. Более высокие концентрации НУК (3,0 и 5,0 мкМ) почти в 1,5 раза снижали его облиственность, но несмотря на это данный сорт был с наибольшим числом листьев на побеге по сравнению с другими сортами. В среднем концентрации

ауксина 0,5 и 1,5 мкМ вызвали хорошую облиственность побегов всех изучаемых сортов. Низкая концентрация ауксина (0,1 мкМ) была оптимальной для сортов Адретта и Ред Скарлет, у которых формировались $9,5 \pm 1,9$ и $8,7 \pm 1,1$ шт./экспл. листьев соответственно. Для сорта Кузнечанка оптимальной оказалась концентрация 0,5 мкМ НУК, так как здесь было отмечено наибольшее облиствление побегов ($8,9 \pm 1,1$ шт./экспл.) по сравнению с другими изучаемыми вариантами концентраций.

Изучение скорости образования корней у микро-растений картофеля через 20 сут. показало, что ми-

нимальной она была у двух сортов — Адретта и Кузнечанка ($0,3 \pm 2,3$ и $0,3 \pm 1,8$ шт./сут. соответственно) на питательной среде с 0,1 мкМ НУК (рис. 4); максимальной — у сорта Кузнечанка ($1,4 \pm 2,7$ шт./сут.) при увеличении концентрации ауксина в 15 раз (1,5 мкМ). При анализе всех вариантов отмечено, что наиболее высокой скоростью корнеобразования обладали растения, укореняемые на среде с 1,5 мкМ НУК. При этом абсолютная скорость образования корней составила $1,1 \pm 0,1$ шт./сут. Низким ризогенезом обладали варианты с применением ауксина в концентрации 0,1 мкМ.

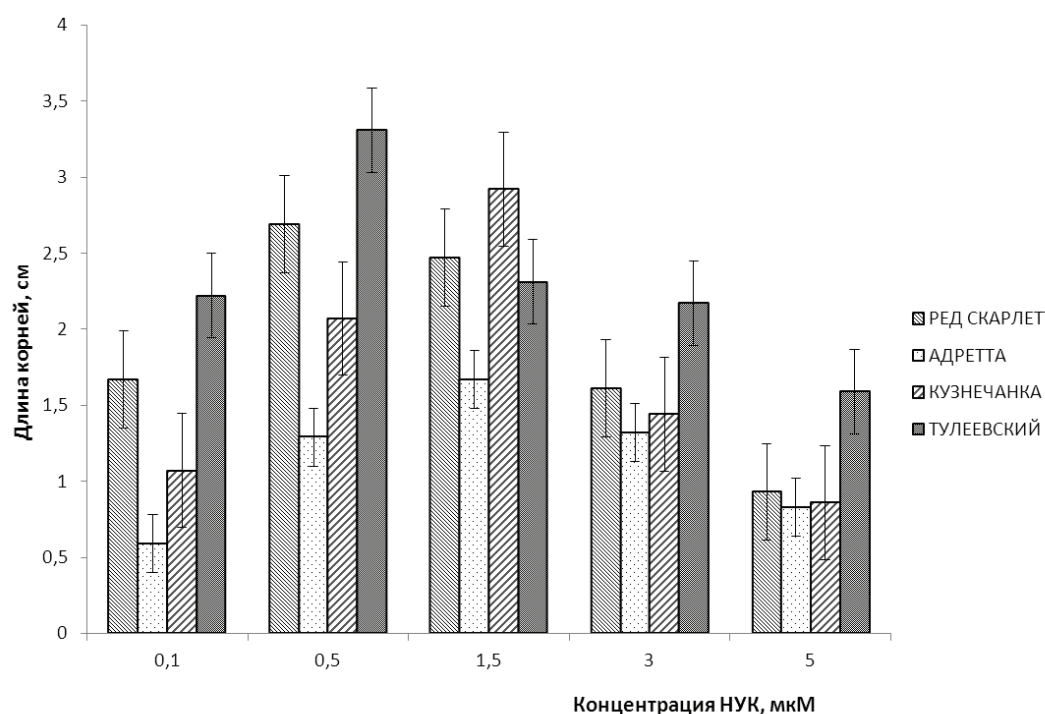


Рис. 2. Влияние концентрации НУК на длину корней сортов картофеля (*Solanum tuberosum* L.) в культуре *in vitro*



Рис. 3. Растения-регенеранты картофеля сорта Кузнечанка после посадки на питательную среду МС+НУК 1,5 мкМ

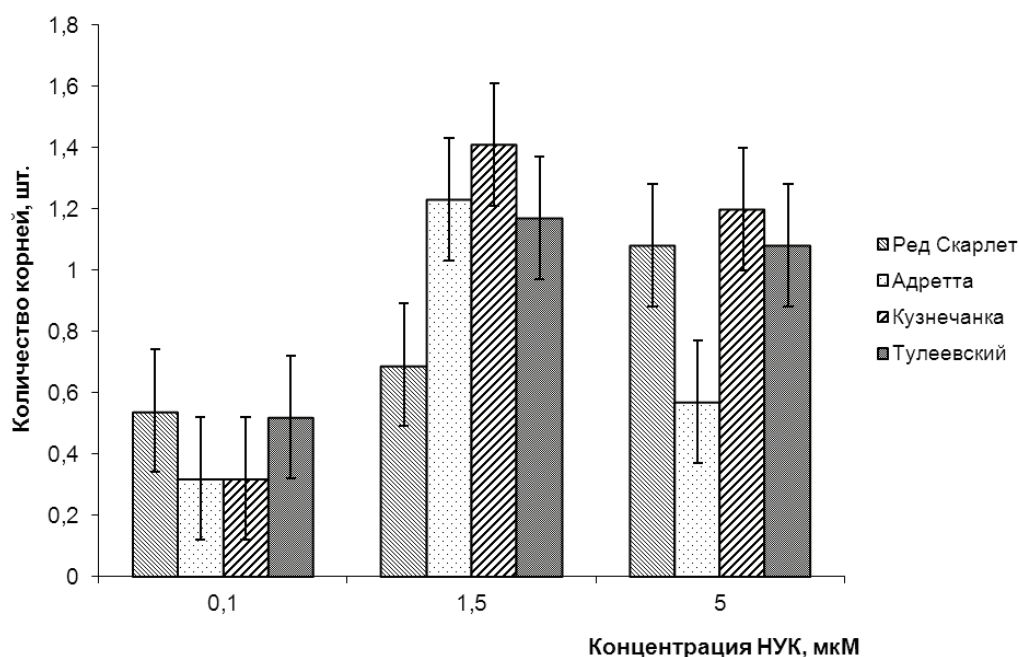


Рис. 4. Скорость образования корней у микрорастений сортов картофеля (*Solanum tuberosum* L.) в культуре *in vitro*

Такая же тенденция прослеживалась и в скорости роста образовавшихся корней. Быстрее всего корни росли у всех сортов картофеля, укореняемых на питательной среде с 1,5 мкМ НУК, — $1,5 \pm 0,1$ мм/сут. Чуть ниже (на 0,15 мм/сут.) скорость роста была в вариантах с повышенной концентрацией ауксина — 5,0 мкМ. Самая низкая скорость отмечена во всех вариантах с применением 0,1 мкМ НУК. Таким образом, низкая концентрация ауксина (0,1 мкМ) слабо стимулировала корнеобразование, а высокая (5,0 мкМ) незначительно ингибировала этот процесс у мини-растений картофеля, и только концентрация 1,5 мкМ оптимально индуцировала ризогенез в сочетании с эндогенными ауксинами укореняемых растений.

Наряду с корнеобразованием у мини-растений идет развитие надземной части — увеличиваются длина побега и количество листьев на нем. Так, наивысшей скоростью роста побегов (в среднем $2,6 \pm 0,6$ мм/сут.) характеризовались растения на средах с использованием ауксина в концентрации 1,5 мкМ: от $1,4 \pm 0,5$ у сорта Ред Скарлет до $3,7 \pm 1,2$ у сорта Адретта. Несколько меньшую (на 0,6 мм/сут.) скорость имели побеги всех исследуемых сортов картофеля в вариантах с 5,0 мкМ НУК, хотя сорт Тулеевский на этой среде показал максимальный темп роста ($4,2 \pm 0,5$ мм/сут.). У сорта Кузнечанка на этой же среде была минимальная скорость роста побега ($0,5 \pm 0,2$ мм/сут.) среди всех изучаемых сортов картофеля и вариантов концентрации НУК.

Самая высокая скорость образования листьев ($0,9 \pm 2,8$ шт./сут.) наблюдалась у сорта Тулеевский на среде с 1,5 мкМ НУК. На этой же среде отмече-

на и минимальная листообразовательная способность у сорта Адретта ($0,2 \pm 0,7$ шт./сут.). У сортов Ред Скарлет и Кузнечанка скорость образования листьев была ниже среднего уровня в 1,6 и 1,4 раза соответственно.

Использование ауксина в низкой концентрации (0,1 мкМ) в среднем в 1,5 раза снижало скорость образования листьев по сравнению со средней концентрацией (1,5 мкМ); в высокой (5,0 мкМ) — незначительно уменьшало листообразование.

Анализ абсолютной скорости роста разных морфологических признаков сортов картофеля в культуре *in vitro* показал, что такие сорта, как Кузнечанка и Тулеевский, быстро образовывали и наращивали корни по сравнению с сортами Адретта и Ред Скарлет.

Таким образом, обобщая изложенное выше, можно сделать вывод, что использование НУК в концентрации 1,5 мкМ активно индуцирует ризогенез растений (в среднем $15,8 \pm 3,1$ шт./экспл.), способствует формированию хорошей корневой системы с достаточно длинными корнями (в среднем $2,3 \pm 0,4$ см), а также эта концентрация является достаточным регулятором роста для развития побега (в среднем $4,6 \pm 1,7$ см — длина побега и $9,4 \pm 4,3$ шт./экспл. — количество листьев). Наибольшим морфогенетическим потенциалом обладает сорт Тулеевский, у которого наряду с активным ризогенезом наблюдались достаточно хорошие рост и развитие побега. В дальнейшем будет продолжено изучение укоренения сортов картофеля с применением других регуляторов роста и развития растений.

Библиографический список

1. Глушкова Т. Н. Изучение нетрадиционных регуляторов роста в культуре ткани картофеля : автореф. дис. ... канд. биол. наук. — М., 2003.
2. Назарова В. Ф. Оптимизация элементов технологии семеноводства картофеля на основе микроклонального размножения посадочного материала : автореф. дис. ... канд. с.-х. наук. — М., 2011.
3. Эрастова М. А., Федорова Ю. Н. Изучение процесса ризогенеза растений картофеля *in vitro* // Вестник АГАУ. — 2009. — № 5.
4. Вечернина Н. А. Методы биотехнологии в селекции, размножении и сохранении генофонда растений : монография. — Барнаул, 2004.
5. Нам И. Я. Оптимизация применения регуляторов роста и развития растений в биотехнологиях *in vitro* : автореф. дис. ... д-ра биол. наук. — М., 2004.