

УДК 634.11:631.816.12:631.559

ИЗУЧЕНИЕ УСЛОВИЙ РОСТА И РАЗМНОЖЕНИЯ ПОБЕГОВ КАРТОФЕЛЯ В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO*

Александр Юрьевич Трунов¹

учитель биологии

alexander_myces@mail.ru

Марина Борисовна Янковская¹

педагог дополнительного образования

лаборатории биотехнологии «Агокуб»

mary.janck@yandex.ru

Элина Олеговна Невзорова¹

учащаяся

yasamusenko@yandex.ru

Юлия Владимировна Мазаева²

старший преподаватель

iyli.2020@mail.ru

¹ТОГАОУ «Мичуринский лицей»

²Мичуринский государственный аграрный университет

Мичуринск, Россия

Аннотация. Рассмотрено описание развития картофеля сорта Гулливер в культуре в *in vitro*. Изучено влияние разных типов углеводов в составе питательных сред на рост и размножение побегов картофеля. При использовании в составе питательных сред MS б/г таких углеводов как сахара, мальтоза и фруктоза, положительная динамика прироста исследуемых показателей отмечена в варианте опыта с мальтозой.

Ключевые слова: культура *in vitro*, питательные среды, углеводы, растения, сорт картофеля Гулливер.

Картофель (*Solanum tuberosum* L.) является наиболее важным продуктом питания населения, выращивается в России повсеместно, практически во всех климатических зонах. Россия занимает одно из последних мест по урожайности культуры картофеля. Зараженность вирусными и бактериальными инфекциями семенного материала является одной из основных причин низкой урожайности картофеля. Перспективным направлением для производства картофеля, свободного от вирусных и бактериальных инфекции, является микрклональное размножение картофеля из образовательных тканей [3, 4, 6, 7, 11].

Содержание в условиях изолированной культуры требует постоянного решения задачи оптимизации состава питательных сред и совершенствования методов размножения в зависимости от видовых и сортовых особенностей растений. Одним из самых важных вопросов в методике культуры тканей был вопрос о питании культуры. Культура тканей, даже хлорофиллоносных, не автотрофна и требует органических источников углерода.

Углеводы (сахара), группа органических соединений, химическая структура которых часто отвечает общей формуле $C_m(H_2O)_n$, а также их производные (в том числе полимерные), выделяемые из природных источников или получаемые при химической модификации природных углеводов путем окисления, восстановления или введения различных заместителей. В природе углеводы образуются зелёными растениями из неорганических предшественников (CO_2 и воды) в процессе фотосинтеза, присутствуют во всех организмах и по массе превосходят другие органические соединения в биосфере Земли. Среди углеводов выделяют моносахариды, олигосахариды и полисахариды (рисунок 1) [12].

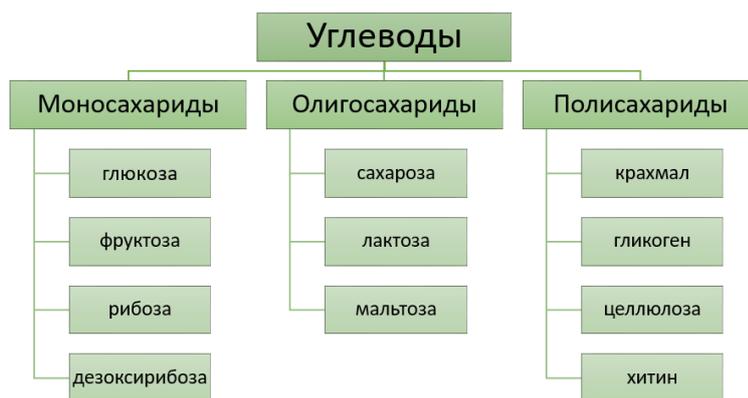


Рисунок 1 - Классификация углеводов

Многие исследователи показали, что лучшим источником углерода являются сахара, располагаясь в такой последовательности по своей значимости: сахароза, глюкоза, мальтоза, раффиноза, фруктоза [1].

При клональном размножении чаще всего применяют сахарозу, как универсальный углевод, который обеспечивает хорошую пролиферацию у различных культур. В целом, многочисленные исследования подтверждают представление о сахарозе как лучшем субстрате для роста изолированных культур тканей растений. Ряд структурных особенностей сахарозы, обеспечивающих высокий энергетический потенциал молекулы и защищенность ее главных реакционноспособных связей и является той основой, которая определяет особое положение сахарозы. Почти так же хорошо, как сахароза, поддерживает рост и глюкоза, а также сахара, легко превращаемые в глюкозу путем немногих метаболических реакций. К этой группе сахаров относится как фруктоза, так и ряд дисахаридов, образованных из глюкозы [8].

Однако в литературе достаточно данных об использовании других углеводов. Так, например, для культуры изолированных зародышей *Zea mays* вместо сахарозы применяли мальтозу [9].

Модифицируя питательные среды по углеводному составу можно добиться изменения эффективности органогенеза у эксплантов различных растений, культивируемых в условиях *in vitro*.

Материалы и методы. Научно-исследовательская база проведения исследований: Лаборатория биотехнологии «Агокуб» ТОГАОУ «Мичуринский Лицей».

В работе использовались общепринятые биотехнологические методы культивирования растительных тканей на питательных средах [1].

В качестве объекта исследования был изучен сорт картофеля Гулливер – раннеспелый столовый сорт картофеля (ФГБНУ «ВНИИ картофельного хозяйства имени А.Г. Лорха» и ООО «Агроцентр Корнеево») [10].

В нашем эксперименте в качестве углеводов в безгормональной питательной среде МС (Мурасиге-Скуга) [5, 13] применяли *фруктозу* и *мальтозу*. *Контрольным вариантом была питательная среда с сахарозой.*

Для пересадки эксплантов растений картофеля приготовили твердую питательную среду по прописи Мурасиге-Скуга, содержащую макросоли 50 мг/л, микросоли 1 мг/л, хелат железа 10 мг/л, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ - 440 мг/л, мезоинозит - 100 мг/л, тиамин - 1,0 мг/л, пиридоксин - 1,0 мг/л, углеводов - 30 000 мг/л, агар - 7000 мг/л. Уровень pH питательной среды перед автоклавированием - 5,8. Питательную среду автоклавировали под давлением 1,0 атм, при температуре 120°C в течение 15 минут. Разливали по стерильным культуральным сосудам. Микрочеренкование проводили в ламинарном боксе. После высадки эксплантов культуральные сосуды выставляли в люминостат. Растения культивировали при $t=22\pm 2^0\text{C}$ и 16-часовом световом дне.

Учет проводили спустя 3 недели после посадки. Элементами учета служили количество листьев/побег, количество междоузлий/побег и длина побега/см.

Статистическая обработка проводилась с использованием стандартных методов [2] с применением программы Excel («Описательная статистика»).

Результаты исследований. Полученные результаты показали преимущество мальтозы при клональном микроразмножении картофеля сорта Гулливер (таблица 1).

Таблица 1

Влияние разных углеводов в составе питательной среды MS б/г на рост и размножения побегов картофеля сорта Гулливер в культуре *in vitro*

Показатель	Количество листьев/побег	Количество междоузлий/побег	Длина побегов/см
Тип углеводов в питательной среде MS б/г			
Сахароза (контроль)	4,4±0,8	3,4±0,6	2,2±0,6
Мальтоза	4,8±0,5	3,9±0,5	2,9±0,4
Фруктоза	1,6±0,4	1,1±0,3	1,0±0,3

Побеги из пазух листьев у картофеля начали свой рост на второй неделе культивирования.

На питательной среде с фруктозой некоторые экспланты вообще не дали побегов и в дальнейшем, погибли, а выросшие побеги были в основном слабыми, с мелкими листьями и часто искривленными (рисунок 2).

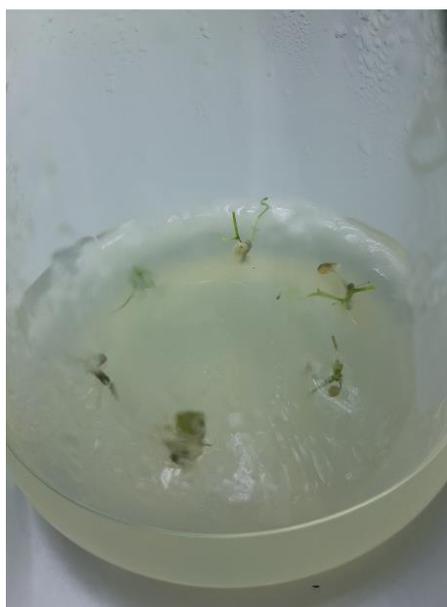


Рисунок 2 - Влияние фруктозы в составе питательной среды MS б/г на рост и размножения побегов картофеля сорта Гулливер в культуре *in vitro*

Количество междоузлий равно средней длине побега, что говорит о том, что междоузлия короткие. Это также характеризует не совсем нормальное развитие побегов.

На среде с сахарозой все экспланты пошли в рост. Однако образовались побеги как нормального строения, так и сильно разветвленные (рисунок 3). Такие побеги не очень удобны для дальнейшего размножения.



Рисунок 3 - Влияние сахарозы в составе питательной среды MS б/г на рост и размножения побегов картофеля сорта Гулливер в культуре in vitro

Побеги без разветвления, с хорошо развитыми листьями отмечены на среде с мальтозой (рисунок 4).



Рисунок 4 - Влияние мальтозы в составе питательной среды MS б/г на рост и размножения побегов картофеля сорта Гулливер в культуре in vitro

Заключение. При анализе результатов учитывали общую длину побегов/см, количество листьев/побег и междоузлий/побег образовавшихся на исходных эксплантах. На таблице (таблица 1) и диаграмме (рисунок 5) хорошо видно, что средняя длина всех побегов в варианте с мальтозой и сахарозой практически в 2 раза превышает таковую в варианте с фруктозой. Различия по

данному показателю между сахарозой и мальтозой можно считать несущественными, но все же в варианте с мальтозой наблюдается некоторое превышение как количества междоузлий, так и средней длины побега/см.

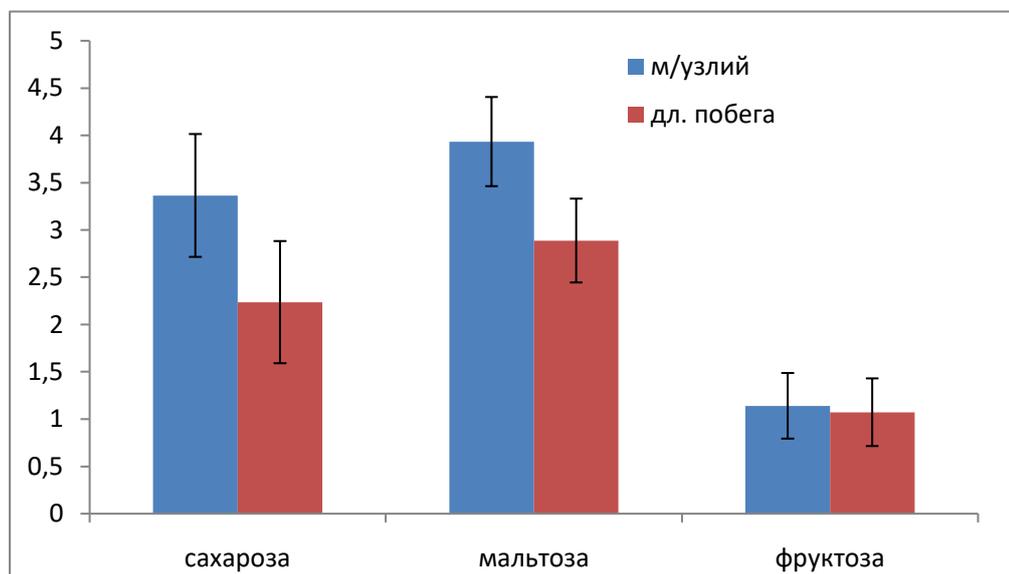


Рисунок 5 - Влияние разных углеводов в составе питательной среды MS б/г на рост и размножения побегов картофеля сорта Гулливер в культуре *in vitro*

Список литературы:

1. Бутенко Р.Г. Культура изолированных тканей и физиология морфология растений // М.: Издательство «Наука».1964. С. 272.
2. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований) // 5-е изд., доп. и перераб. М.: Агропромиздат. 1985. С.351.
3. Мазаева Ю.В. Клональное микроразмножение растений картофеля // Наука и Образование. 2023. Т. 6. № 2.
4. Мазаева Ю.В. Особенности получения оригинального семенного картофеля с помощью методов биотехнологий // Наука и Образование. 2023. Т. 6. № 2.
5. Мазаева Ю.В., Пугачева Г.М. Влияние разных питательных сред на эффективность роста и развития растений картофеля *in vitro* и клубнеобразование // Наука и Образование. 2021. Т. 4. № 2.

6. Основные исследования и практическое применение методов биотехнологии в картофелеводстве / Папихин Р.В., Пугачёва Г.М., Муратова С.А., Мазаева Ю.В., Никонов К.Е. // Наука и Образование. 2021. Т. 4. № 1.

7. Способы получения безвирусного картофеля *in vitro* / Папихин Р.В., Пугачёва Г.М., Муратова С.А., Чусова Н.С., Никонов К.Е. // Наука и Образование. 2020. Т. 3. № 1. С. 88.

8. Холодова В.П. Рост и метаболизм углеводов в культуре ткани растений. Культура клеток растений. М.: Наука. 1981. 18-26 с.

9. Эрст А.А., Вечернина Н.А. Размножение смородины золотистой *in vitro* // Вестник Алтайского государственного университета. 2008. № 4(42). С.10-14 (12-13).

10. Сорт картофеля Гулливер. Государственная Комиссия Российской Федерации по испытанию и охране селекционных достижений (ФГБУ «Госсорткомиссия»). URL: <https://gossortrf.ru/registry/gosudarstvennyy-reestr-selektionnykh-dostizheniy-dopushchennykh-k-ispolzovaniyu-tom-1-sorta-rasteni/gulliver-kartofel/> (дата обращения: 28.02.2024 г.)

11. Патент № 2789460 С1 Российская Федерация, МПК А01Н 4/00. Способ микрклонального размножения картофеля *in vitro* сорта Хозяюшка: № 2022109154: заявл. 07.04.2022: опубл. 03.02.2023 / И. В. Киргизова, Ю. В. Иордан, Р. М. Турпанова, А. М. Гаджимурадова; заявитель Общество с ограниченной ответственностью "Элита". EDN SRHBTM.

12. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // J. Plant Physiol. 1962. Vol. 15. P. 473-497.

UDC 634.11:631.816.12:631.559

STUDY OF THE CONDITIONS FOR GROWTH AND REPRODUCTION OF POTATO SHOOTS IN IN VITRO CULTURE

Alexander Yu. Trunov¹

biology teacher

alexander_myces@mail.ru

Marina B. Yankovskaya¹

additional education teacher

biotechnology laboratory "Agokub"

mary.janck@yandex.ru

Elina Ol. Nevzorova¹

student

yasamusenko@yandex.ru

Yulia V. Mazaeva²

senior lecturer

iyli.2020@mail.ru

¹TOGAOU "Michurinsk Lyceum"

²Michurinsk State Agrarian University

Michurinsk, Russia

Abstract. A description of the development of potato variety Gulliver in culture in in vitro is considered. The influence of different types of carbohydrates in the composition of nutrient media on the growth and reproduction of potato shoots was studied. When carbohydrates such as sucrose, maltose and fructose are used in MS nutrient media, a positive dynamics of the increase in the studied parameters was noted in the variant of the experiment with maltose.

Key words: in vitro culture, nutrient media, carbohydrates, plants, potato variety Gulliver.

Статья поступила в редакцию 01.02.2024; одобрена после рецензирования 20.03.2024; принята к публикации 22.03.2024.

The article was submitted 01.02.2024; approved after reviewing 20.03.2024; accepted for publication 22.03.2024.