

**СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ЭЛЕМЕНТОВ ТЕХНОЛОГИИ
МИКРОКЛОНАЛЬНОГО РАЗМНОЖЕНИЯ КАРТОФЕЛЯ**
Improving the elements of the technology of microclonal propagation of potatoes

С. В. Агеева, магистрант,

Уральский государственный аграрный университет
(Екатеринбург, ул. Карла Либкнехта, 42)

М. Ю. Карпухин, доцент,

Уральский государственный аграрный университет
(Екатеринбург, ул. Карла Либкнехта, 42)

Рецензент: Н. В. Кандаков., доктор сельскохозяйственных наук, профессор

Аннотация

В статье описываются этапы микроклонального размножения. Говорится о том, как происходит процесс микроклонального размножения, какие инструменты и оборудования нужны для размножения растений в условиях *in vitro*.

Ключевые слова: *in vitro*, микроклональное размножение, пробирочные растения, черенкование, картофель, семеноводство.

Summary

The article describes the stages of micropropagation. It is said about how the process of micropropagation takes place, what tools and equipment are needed for the reproduction of plants *in vitro*.

Keywords: *in vitro*, microclonal reproduction, test tube plants, cuttings, potatoes, seed production.

Первоначальные методы культуры ткани были разработаны в 1950-х годах XX века, французским ученым Жоржем Морелем на орхидеях. Он использовал технику культивирования апикальной меристемы растений. Растения, полученные таким путем, свободны от вирусов.

В Российской Федерации исследования по оздоровлению растений методом меристем и по клональному микроразмножению начались в 60-х годах в институте физиологии растений им. К.А. Тимирязева АН СССР [1].

Метод клонального микроразмножения представляет собой вегетативное размножение растений в культуре *in vitro* на искусственной питательной среде в контролируемых условиях. Размножение растений *in vitro* имеет ряд преимуществ – высокий коэффициент размножения, возможность оздоровления посадочного материала от вирусной инфекции, получение растений, генетически идентичных исходному экспланту. Ежегодный объем растений, полученных путем микроклонального размножения из тканевых культур, оценивается в сотни миллионов и содержит десятки тысяч видов.

В настоящее время наибольшую актуальность приобретают различные методы микроклонального размножения сельскохозяйственных культур в системе *in vitro*: размножение пазушными и адвентивными почками, непрямой морфогенез, соматический эмбриогенез [9-11].

Использование этих методов дает возможность:

1) ускорять селекционный процесс. Сроки получения товарной продукции сокращаются до 2-3 лет, вместо 10-12;

- 2) получать за короткий промежуток времени большее количество оздоровленного, безвирусного материала, который генетически идентичен материнскому растению;
- 3) работать в лабораторных условиях и поддерживать активно растущие растения круглый год;
- 4) размножать растения практически без контакта с внешней средой, что исключает воздействие неблагоприятных абиотических и биотических факторов;
- 5) получать максимальное количество растений с единицы площади;
- 6) в самые короткие сроки получать большое число растений трудноразмножаемых или вегетативно неразмножаемых;
- 7) при выращивании растений с длительной ювенильной фазой можно ускорять переход от ювенильной к репродуктивной фазе развития;
- 8) длительно, в течение 1-3 лет, сохранять растительный материал в условиях *in vitro* без пассирования на свежую среду;
- 9) создавать банки длительного хранения ценных форм растений и отдельных их органов;
- 10) разрабатывать методы криосохранения оздоровленного *in vitro* материала [5; 6].

Этапы микроклонального размножения

Процесс микроклонального размножения включает в себя четыре этапа:

- 1) выбор растения-донора, изолирование эксплантов и получение хорошо растущей стерильной культуры;
- 2) собственно микроразмножение, когда достигается получение максимального количества меристематических клонов;
- 3) укоренение размноженных побегов с последующей адаптацией их к почвенным условиям, а при необходимости депонирование растений-регенерантов при пониженной температуре (+2°C, +10°C);
- 4) выращивание растений в условиях теплицы и подготовка их к реализации или посадке в поле.

Целью работы является оптимизация процесса клонального микроразмножения растений картофеля.

Методика исследования

Работа проводилась в селекционно-семеноводческом комплексе «Уральский картофель», с. Кочневское Белоярского района Свердловской области. Объектом исследования является картофель.

Оборудования и материалы

Для проведения работ по микроклональному размножению растений необходимы специально оборудованные помещения:

- 1) лаборатория микроклонального размножения – это отдельное помещение, стены и пол которого отделаны легко моющимися материалами. Обязательное наличие ламинарных шкафов, бактерицидная ультрафиолетовая лампа, бинокулярные микроскопы, медицинские шкафы для хранения необходимых материалов (чашки Петри, скальпели, пинцеты, спиртовки и др.) [2];
- 2) комната для приготовления питательной среды. Здесь необходимо следующее оборудование: лабораторный стол, плитка для приготовления среды, весы, лабораторная посуда (колбы, пробирки, стаканы, мерные цилиндры, пипетки), дистиллятор, рН-метр, лабораторные шкафы для хранения посуды, автоклав;
- 3) комната для мытья посуды (моечная), оборудованная лабораторными столами, мойками, посудомоечными машинами, дистиллятором, сухожаровым шкафом для сушки посуды;

- 4) комната для хранения химикатов, оборудованная специальными шкапами;
- 5) культуральный зал №1, оборудованный стеллажами для размещения штативов с пробирками, световыми лампами и сплитсистемой для поддержания микроклимата;
- 6) культуральный зал №2 – зона доращивания, оборудованная световыми установками и сплитсистемой. Необходима для адаптации растений.
- 7) теплица, предназначенная для высадки растений с целью получения мини-клубней.

В методике микроклонального размножения растений *in vitro*, важным этапом является выращивание безвирусных маточных форм растений в вегетационных домиках или изолированных боксах в зимних теплицах, в условиях, недоступных для переносчиков вирусов. Растения, прежде чем вводить в культуру, необходимо проверить на наличие вирусных, микоплазменных и бактериальных инфекций. Для этого используют метод ПЦР-диагностики либо молекулярной гибридизации, либо иммуноферментного анализа (ИФА).

После проверки растений на вирусы и бактериозы, можно приступить к микроклональному черенкованию растений. Черенкование происходит на питательной среде Мурасиге-Скуга, варьируется лишь количество витаминов, микро- и макроэлементов.

Пробирочное растение, в стерильных условиях ламинарного бокса, делится на черенки. Черенки могут иметь 1-2 междоузлия. В зависимости от размера и длины растения из одной пробирки может получиться от 3 до 7 новых пробирок. При делении растений на черенки с двумя междоузлиями, получается, от 3 до 5 пробирок. Если делить растение на черенки с одним междоузлем, то мы можем получить от 5 до 7 пробирок [2].

После черенкования штативы с пробирками маркируются, фиксируются в журнал черенкования, затем отправляются в Культуральный зал №1. Каждый стеллаж в культуральном зале оборудован лампами дневного света, которые на автоматическом уровне работают в режиме 16 (день)/8 (ночь). Также в культуральном зале поддерживается необходимая температура и влажность.

Примерно, через 3-4 недели, в зависимости от сорта картофеля, процесс черенкования повторяется. Размножение растений продолжается до тех пор, пока не будет произведено необходимое количество растений для высадки в теплицу [4].

После получения необходимого количества растений, штативы с пробирками переходят в культуральный зал №2 (зона доращивания), а часть пробирок высаживается в теплицу. В зоне доращивания растения черенкуются в субстрат перлит+цион. Растения делятся на две части, это необходимо для того, чтобы выровнять черенки между собой в процессе роста. Спустя 15-20, в зависимости от сорта, растения пересаживаются в теплицу. Готовые пробирочные растения и растения с доращиванием высаживают в горшки объемом 5 л, наполненные торфом на ½. По мере роста и развития растений картофеля в горшки досыпается торф. Это увеличивает площадь питания и способствует формированию новых столонов, на которых образуются клубни. В результате увеличивается урожайность картофеля [4].

Выводы

При делении растения картофеля на черенки с двумя междоузлиями, вероятность приживаемости выше, чем при делении на черенки с одним междоузлем. Но такие растения начинают ветвиться, становятся более хрупкими и плохо развиваются.

При делении растений картофеля на черенки с одним междоузлем получается больше растений, нежели при делении на два междоузлия. Растения хорошо развиваются в пробирке, стебли более мощные.

При посадке пробирочных растений в горшки с торфом без заглабления до верхушки, приживаемость растений снижается. Стебли растений тонкие, хрупкие, отмечена высокая полегаемость и ломкость растений. Урожайность таких растений ниже.

При посадке растений в торф с заглаблением до верхушки, растения лучше развиваются, не полегают, урожайность таких растений выше.

При высадке растений после процесса доращивания, отмечено, что растения хорошо приживаются в торфе. Стебли растений толще, чем у пробирочных. Быстрее адаптируются к тепличным условиям, начинают активный рост и развитие. Урожайность таких растений выше.

Библиографический список

1. *Адамова А.И., Банадысев С.А., Коновалова Г.И., Семенова З.А.* Технология производства исходного семенного материала картофеля. Картофелеводство. Минск : Мерлит, 2002. Вып. 11.
2. *Анисимов Б.В., Усков А.И., Юрлова С.М., Варицев Ю.А.* Семеноводство картофеля в России: состояние, проблемы и перспективные направления // Достижения науки и техники АПК. 2007. № 7
3. *Банадысев С.А.* Семеноводство картофеля: организация, методы, технологии. Минск, 2003. 325 с.
4. Безвирусное семеноводство картофеля. М. : Агропромиздат, 1990. 32 с.
5. *Волова Т.Г.* Биотехнология. Новосибирск : Изд-во Сибирского отделения Российской Академии наук, 1999. 252 с.
6. *Карпухин М.Ю., Крупский И.Н., Кейта Ф.* Технология возделывания картофеля на Среднем Урале. Екатеринбург : Изд-во Уральского ГАУ, 2016. 15 с.
7. *Карпухин М.Ю., Дунин В.А., Юсупов М.Л., Крупский И.Н., Юшкин Е.М.* Технология производства оригинального, элитного и репродукционного семенного картофеля на Среднем Урале. Екатеринбург : Изд-во Уральского ГАУ, 2019. 92 с.
8. *Лутова Л.А., Ежова Т.А., Додуева И.Е., Осипова М.А.* Генетика развития растений / под ред. С.Г. Инге-Вечтомова. СПб. : Н-Л, 2010. 432 с.
9. Новые технологии производства оздоровленного исходного материала в элитном семеноводстве картофеля. М. : Агропромиздат, 2000. 78 с.
10. *Овэс Е.В.* Методические рекомендации по тиражированию *in vitro* материала для оригинального семеноводства картофеля / ФГБНУ ВНИИКХ; Е.В. Овэс, Б.В. Анисимов, А.И. Усков. М., 2017. 25 с.
11. *Шевелуха В.С., Калашишникова Е.А., Кочиева Е.З.* и др. Сельскохозяйственная биотехнология : учебник / под ред. В.С. Шевелухи. 3-е изд., перераб. и доп. М. : Высшая школа, 2008. 710 с.