

ИНДУЦИРОВАНИЕ МИКРОКЛУБНЕОБРАЗОВАНИЯ НОВЫХ ПЕРСПЕКТИВНЫХ СОРТОВ КАРТОФЕЛЯ В АСЕПТИЧЕСКОЙ КУЛЬТУРЕ

Овэс Е.В., Гаитова Н.А., Шишкина О.А.

Реферат. Исследования проводили с целью оптимизации микроклубнеобразования перспективных сортов картофеля в асептической культуре. В экспериментах изучали такие факторы, как использование сосудов различного размера (пробирки диаметром 25 мм и пластиковые контейнеры 18x18 см, в которые изначально разливали соответственно по 10 мл агаризованной и 400 мл жидкой питательной среды), густота посадки растений в контейнеры (40, 60 и 80 стеблевых эксплантов), состав питательной среды в период онтогенеза, выращивание мини-клубней из *in vitro* микрорастений (контроль) и микроклубней (размером $\geq 0,9$ см и 0,5...0,9 см). При изучении возможности модификации питательной среды на основе прописи Мурасиге-Скуга для индуцирования клубнеобразования в одном варианте концентрацию сахарозы в процессе роста изменяли с 2 % до формирования растениями четырех междоузлий на 8 % после этой фазы, содержание кинетина в течение всего периода наблюдений составляло 0,5 мг/л. Во втором варианте микрорастения в течение всего онтогенеза находились на среде с 6 % сахарозы и 0,25 мг/л кинетина. Наибольший выход микроклубней стандартной фракции (27...94 %) при коэффициенте размножения 0,8...2,7 шт./растение отмечен в варианте с размещением в контейнере 60 черенков. При выращивании в пробирках со сменой среды было собрано 1,0...1,5 микроклубней на одно растение с выходом стандартной фракции 64...78 %. Применение контейнерной технологии с аналогичным чередованием питательных сред повышало выход стандартной фракции у большинства изученных сортов до 75...86 %. В вариантах с постоянным содержанием сахарозы в питательной среде (6 %) отмечен очень низкий коэффициент размножения, который не компенсировал достаточно высокий выход стандартной фракции вне зависимости от используемого лабораторного сосуда. Коэффициент размножения пробирочных микрорастений при высадке в грунт был больше, чем при посадке микроклубней, при высоком выходе стандартной фракции.

Ключевые слова: картофель, фитогормоны, микроклубнеобразование *in vitro*, оригинальное семеноводство.

Введение. Согласно результатам анализа эффективности использования сортимента картофеля, из 420 сортов культуры, включенных в Госреестр РФ, в производстве зафиксировано всего 210 сортов, или 50,0 %. Причем, среди 11 сортов-лидеров только 3 российской селекции, на долю которых приходится 18,2 % общего объема сертифицированного посадочного материала, использованного в товарных посадках. Если в 2004 г. доля сортов отечественной селекции в общем объеме использованного на посадку семенного картофеля составляла 66,2 %, зарубежной – 20,8 %, не включенных в Госреестр – 13,0 %, то в 2017 г. в этом соотношении стали явно доминировать иностранные сорта – 13,5 %, 68,7 % и 17,8 %. Дальнейшему развитию такой тенденции способствуют практически ежегодно возникающие проблемы с качеством оригинального и элитного семенного материала отечественных сортов. Для решения этой проблемы необходимо повышение эффективности приоритетных научных исследований, среди которых на ближайшую перспективу можно выделить разработку эффективных методов выращивания высококачественного семенного картофеля на основе исходного материала, освобожденного от вирусных, виroidных и бактериальных фитопатогенов [1].

Микроклубни в качестве биоресурса обеспечивают сохранность сортов картофеля в генетических коллекциях, в производстве их используют в качестве исходного материала при ведении оригинального семеноводства [2, 3]. Преимущества микроклубней заключаются в отсутствии влияния сезонности на их выращивание,

возможности длительного хранения, простоте транспортировки и высадки [4].

В современных условиях для увеличения выхода стандартной фракции микроклубней используют самые разные лабораторные сосуды [5, 6]. В последние годы для производства микроклубней все чаще применяют пластиковые резервуары. Они удобны для работы, а главное их преимущество заключается в возможности проведения различных манипуляций, включая смену питательной среды, в период онтогенеза растений, а также создание стрессовых условий столонов без нарушения стерильности в период образования [7].

Технология производства микроклубней предусматривает культивирование растений на свету из черенков с одной или несколькими почками в течение 4...5 недель на жидких или агаризованных питательных средах, содержащих 2...3 % сахарозы. Для индукции клубнеобразования в питательную среду вносят регуляторы роста или увеличивают концентрацию сахарозы до 6...8 %. Период микроклубнеобразования составляет от 5 до 8 недель. При этом рост и развитие микрорастения лучше происходят при содержании сахаров в среде в количестве 2 %, а клубнеобразование – 8 % [8].

В то же время высокое содержание сахарозы в питательной среде негативно влияет на морфогенез растений *in vitro* [9]. В исследованиях Mani F. [10] наибольший выход микроклубней отмечен в варианте с ее концентрацией в питательной среде 80 г/л. Некоторые авторы [11] наблюдали различия во влиянии содержания сахарозы на морфогенез растений в зависи-

мости от сорта. Известна [12] двухфазная система производства микроклубней, включающая культивирование черенков на агаризованной среде, с последующим добавлением жидкой среды МС с содержанием 10 % сахарозы. Есть сведения, что при увеличении концентрации сахарозы выше 8 % растет количественный выход микроклубней, но уменьшаются их размерные характеристики [13]. В большинстве случаев при использовании для выращивания микроклубней *in vitro* жидкой питательной среды на первом этапе онтогенеза биоматериал культивируют на среде, способствующей формообразовательному процессу, а затем ее меняют на среду, в которую вводят индукторы клубнеобразования [8].

Клубнеобразование *in vitro* зависит прежде всего от генотипических особенностей сорта и состава питательных сред [14]. Для его инициации используют регуляторы роста в различных концентрациях [15, 16, 17]. При этом одни авторы отмечают положительную реакцию на кинетин [15], другие – на совместное действие кинетина и цитокинина [18, 19].

В связи с изложенным, изучение условий, стимулирующих столоно- и клубнеобразование у картофеля *in vitro*, а также направлений использования выращенных микроклубней остаётся актуальной задачей.

Цель исследований – определить возможности индуцирования микроклубнеобразования новых перспективных сортов картофеля селекции ВНИИКХ в асептической культуре под воздействием различных факторов, а также целесообразность использования выращенных микроклубней, наряду с микрорастениями, в оригинальном семеноводстве.

Условия, материалы и методы исследований. Объектом исследований служили микрорастения картофеля сортов Купец, Утро, Барин, Великан, Фиолетовый, Варяг, Красавчик, Вымпел из оздоровленной коллекции лаборатории меристемно-тканевых технологий и БЗСК. Для достижения поставленной цели была заложена серия лабораторных и полевых опытов.

Опыт №1 проводили для определения влияния плотности размещения микрочеренков в контейнере на выход и фракционный состав выращиваемых клубней. Его схема предусматривала варианты с посадкой 40, 60 и 80 стеблевых эксплантов.

В опыте №2 изучали влияние модификации питательной среды на морфогенез и онтогенез микрорастений *in vitro* в различных лабораторных сосудах. В эксперименте использовали пробирки диаметром 25мм и пластиковые контейнеры размером 18x18см, в которые изначально разливали соответственно по 10 мл агаризованной и 400 мл жидкой питательной среды.

В качестве контроля был взят вариант с традиционным методом выращивания микроклубней *in vitro* по пробирочной технологии. Микрочеренки высаживали на агаризованную питательную среду с минеральным составом по про-

писи Мурасиге-Скуга (МС), содержащую 2 % сахарозы, и размещали их в условиях фитотрона при 16 ч фотопериоде. После образования регенерантов в пробирки добавляли жидкую питательную среду МС с концентрацией 8 % сахарозы и 0,5 мг/л регулятора роста из классов цитокининов (кинетин), а затем перемещали в темное хорошо проветренное помещение. Уборку проводили по мере высыхания растений с определением фракционного состава микроклубней: стандартные (более 9 мм) и не стандартные (менее 9 мм). В экспериментальном варианте микроклубни выращивали без обмена питательной среды. При этом в ее состав добавляли только 0,25 мг/л кинетина, а содержание сахарозы увеличивали до 6 %. В каждый контейнер высаживали по 60 стеблевых эксплантов, в пробирках находилось по 1 микрорастению. В целом схема опыта выглядела следующим образом:

I) в пробирках на среде с минеральным составом по прописи Мурасиге-Скуга (агаризованная) с 2 % сахарозы и 0,5 мг/л кинетина до формирования растениями четырех междоузлий, после чего доливали среду с аналогичным минеральным составом с 8 % сахарозы и 0,5 мг/л кинетина;

II) в пробирках на среде с минеральным составом по прописи Мурасиге-Скуга (агаризованная) с 6 % сахарозы и 0,25 мг/л кинетина без изменения состава среды в течение всего периода онтогенеза;

III) в контейнерах на среде с минеральным составом по прописи Мурасиге-Скуга (жидкая) с 6 % сахарозы и 0,25 мг/л кинетина без изменения состава среды в течение всего периода онтогенеза;

IV) в контейнерах на среде с минеральным составом по прописи Мурасиге-Скуга (жидкая) с 2 % сахарозы и 0,5 мг/л кинетина до формирования регенерантами четырех междоузлий, после чего питательный раствор обменивали на среду с аналогичным минеральным составом с 8 % сахарозы и 0,5 мг/л кинетина.

В состав всех сред входила ИУК в концентрации 1 мг/л.

После манипуляций с питательными средами в вариантах I и IV или формирования растениями четырех междоузлий в вариантах II и III, контейнеры и пробирки помещали в темноту в климатическую камеру, в которой поддерживали температуру 16...18 °С. После уборки микроклубни хранили в холодильнике в колбах с ватными пробками при температуре 2...4 °С. Перед посадкой определяли их лежкость.

Опыт №3 был заложен для оценки продуктивности *in vitro* микроклубней в процессе выращивания мини-клубней, в сравнении с микрорастениями, по следующей схеме: микрорастения *in vitro* – контроль; микроклубни *in vitro* размером $\geq 0,9$ см; микроклубни *in vitro* – 0,5...0,9 см.

Каждая повторность состояла из 20 микрорастений и микроклубней. Выращивание мини-клубней осуществляли в защищенном грунте в

Таблица 1 – Количественный и качественный выход микроклубней в зависимости от плотности размещения растений в контейнере

Сорт	Плотность размещения, шт./контейнер	Количество микроклубней, шт.				
		Всего	12 мм	9...12 мм	5...9 мм	5 мм
Купец	40	53	20	33	0	0
	60	68	1	50	15	2
	80	82	0	56	0	6
Утро	40	43	17	24	0	2
	60	49	2	40	2	2
	80	64	1	18	29	16
Барин	40	63	1	17	28	17
	60	86	1	53	29	3
	80	102	1	7	70	24
Великан	40	65	16	44	3	3
	60	84	0	60	20	4
	80	90	0	35	26	21
Фиолетовый	40	120	0	24	45	51
	60	160	0	90	65	5
	80	170	0	50	54	46
Варяг	40	51	10	20	15	6
	60	90	3	75	15	3
	80	120	0	20	53	47
Красавчик	40	80	28	26	20	6
	60	125	2	78	39	7
	80	128	10	59	38	21
Вымпел	40	54	3	32	18	2
	60	90	3	70	22	5
	80	98	0	24	33	41

горшках объемом 5 л с соблюдением защитных мероприятий по общепринятой технологии. Посадку проводили 11 мая в НПБ «Апариха» в Раменском районе Московской области, уборку – во II декада августа. Наличие скрытой зараженности вирусами оценивали путем анализа листовых проб в период цветения методом ИФА. Учет урожайности проводили с фракционированием и взвешиванием.

Повторность во всех опытах – 4-кратная. При закладке лабораторных экспериментов использовали стеблевые экспланты с одной пазушной почкой и листом, вычлененные из средней части 4-недельных микрорастений *in vitro*. В процессе проведения экспериментов определяли фазы роста, развития и *in vitro* микроклубнеобразования.

Анализ и обсуждение результатов исследований. Эффективность различных методов производства семенного материала оценивают по коэффициенту размножения и соответствию продукции требованиям стандарта. В наших исследованиях отмечена устойчивая тенденция увеличения коэффициента размножения при загущенной посадке микрочеренков (табл. 1). Наибольшее количество микроклубней при размещении в контейнере 80 черенков формировали сорта Фиолетовый (170 шт.), Красавчик (128 шт.) и Варяг (120 шт.). Однако самый высокий выход микроклубней стандартного размера отмечен в варианте с 60 черенками на 1 сосуд: у сорта Великан – 94 %, Варяг и Утро – 86 %, Купец – 75 %, Красавчик – 64 %, Барин – 63 %, Фиолетовый – 56 %, Вымпел – 27 %. Ко-

эффициент размножения при этом изменялся от 0,8 до 2,7. Руководствуясь этим, в дальнейшей работе мы использовали выделившийся вариант – 60 черенков в контейнере.

При наблюдении за процессами развития растений на различных по составу питательных средах отмечена прямая их зависимость от концентрации сахарозы. Так, формирование 4-х междоузлий в варианте I происходило за 25...35 дней. При использовании контейнерной технологии и аналогичном содержании сахарозы в среде в варианте IV период регенерации растений из микрочеренков у среднераннего сорта Красавчик в среднем составлял 30...35 дней, у среднеспелых Барин, Утро, Купец, Вымпел, Варяг – 35...40 дней, у среднепозднего сорта Фиолетовый – 40...45 дней. Повышение концентрации легкодоступных углеводов при высадке микрочеренков с 2 до 6 % (варианты II и III) не зависимо от объема используемых сосудов вызывало увеличение продолжительности периода регенерации растений до 40...60 дней. Их характерной особенностью была низкорослость, угнетенность, отставание в росте и формирование слабого листового аппарата. Повышение содержания сахарозы в среде после формирования четырех междоузлий с 2 до 8 % (варианты I и IV) способствовало интенсивному столонообразованию у микрорастений. При этом на средах с изначально высокой ее концентрацией (варианты II и III) наблюдали образование столонов, уходящих в среду из пазух нижнего листа.

Формирование микроклубней в пробироч-

Таблица 2 – Клубнеобразование картофеля *in vitro* при разных модификациях питательной среды

Сорт	Вариант опыта	Коэффициент размножения, шт.	Выход микроклубней, шт.			Выход стандартной фракции, %
			всего	в том числе		
				> 9мм	< 9мм	
Купец	I	1,1	62	42	20	68
	II	0,7	30	18	12	60
	III	1,3	57	51	6	89
	IV	1,4	68	51	17	75
Утро	I	1,0	60	48	12	80
	II	0,8	14	0	14	0
	III	0,7	42	19	23	46
	IV	0,9	49	42	7	86
Барин	I	1,3	70	53	17	75
	II	0,7	26	24	2	95
	III	1,0	60	51	6	89
	IV	1,5	86	54	32	63
Великан	I	1,3	68	53	15	78
	II	0,9	39	32	7	82
	III	1,2	61	55	6	90
	IV	1,4	84	60	14	81
Фиолетовый	I	0,4	15	10	5	63
	II	0,9	36	30	6	83
	III	1,1	45	20	25	44
	IV	2,7	160	90	70	56
Варяг	I	1,3	61	47	14	77
	II	0,5	21	10	11	48
	III	1,4	84	47	37	56
	IV	1,5	90	65	18	86
Красавчик	I	1,5	111	71	40	64
	II	0,6	25	15	10	60
	III	0,8	45	30	15	67
	IV	2,1	125	80	45	64

ной культуре по традиционной технологии (I вариант) проходило за 30...50 дней. Использование контейнеров увеличивало продолжительность периода клубнеобразования, по сравнению с контролем, до 45...60 дней. Исключением был сорт Красавчик, который характеризовался интенсивным прохождением всех фаз роста и развития. В среднем продолжительность его онтогенеза как в пробирочной культуре, так и в контейнерах не превышала 100...120 дней. На фоне повышенного содержания (6 %) сахарозы не зависимо от технологии (II и III вариант) длительность периода клубнеобразования составляла 30...40 дней.

Коэффициент размножения в пробирочной культуре в варианте I составлял от 1,0 до 1,5 микроклубня на растение (табл. 2). Исключением был сорт Фиолетовый, который сформиро-

вали самый низкий урожай микроклубней (0,4 шт./растение). Выход стандартной фракции в этом варианте в зависимости от сорта был равен 64...80 %.

Культивирование растений на питательной среде, содержащей 6 % сахарозы, привело к снижению выхода микроклубней в варианте с пробирочной культурой до 0,5...0,9 шт./растение. При этом выход стандартной фракции у сортов Барин, Великан и Фиолетовый превысил 82 %, у сортов Купец, Варяг и Красавчик снизился до 48...60 %, а сорт Утро сформировал микроклубни только нестандартной фракции.

В варианте с использованием контейнерной технологии в сочетании со средой, содержащей 6 % сахарозы, количество образовавшихся микроклубней составляло от 0,8 до 1,4 шт., при

Таблица 3 – Сохранность микроклубней в зависимости от технологии выращивания (2018 г.)

Сорт	Контроль (I вариант)				Контейнерная технология (IV вариант)			
	стандартные		не стандартные		стандартные		не стандартные	
	шт.	сохранилось, %	шт.	сохранилось, %	шт.	сохранилось, %	шт.	сохранилось, %
Варяг	47	97	14	93	65	99	18	70
Барин	53	100	17	90	54	98	32	63
Красавчик	71	98	40	86	80	96	45	77
Фиолетовый	40	97	5	95	90	100	70	74
Купец	42	99	20	89	51	98	17	69
Утро	48	100	12	91	42	100	7	70
Великан	53	100	15	97	60	100	14	75

Таблица 4 – Продуктивность микрорастений и микроклубней *in vitro* различной фракции

Сорт	Вариант	Коэффициент размножения, шт.	Число клубней, шт.		Масса стандартных клубней, г/раст.
			стандартных	нестандартных	
Варяг	МР* (контроль)	7,0	63	12	21,3
	МК контейнеры, > 9мм	2,8	26	3	40,4
	МК контейнеры, < 9мм	2,3	23	3	20,0
	НСР₀₅	3,7			30
Вымпел	МР (контроль)	7,6	76	8	25,0
	МК контейнеры, > 9мм	4,2	42	17	39,5
	МК контейнеры, < 9мм	4,0	40	0	38,8
	НСР₀₅	2,5			22
Барин	МР (контроль)	4,6	42	2	22,1
	МК контейнеры, > 9мм	4,0	40	5	29,8
	МК контейнеры, < 9мм	3,7	34	-	36,2
	НСР₀₅	1,8			14
Красавчик	МР (контроль)	3,7	33	10	47,6
	МК контейнеры, > 9мм	7,5	75	4	36,0
	МК контейнеры, < 9мм	4,1	37	1	40,0
	НСР₀₅	2,3			17
Фиолетовый	МР (контроль)	9,1	91	8	19,2
	МК контейнеры, > 9мм	2,2	76	22	19,9
	МК контейнеры, < 9мм	1,2	66	12	17,7
	НСР₀₅	4,2			16
Купец	МР (контроль)	6,6	66	-	25,2
	МК контейнеры, > 9мм	4,2	42	4	33,6
	МК контейнеры, < 9мм	3,0	30	-	28,7
	НСР₀₅	1,9			25
Утро	МР (контроль)	7,5	75	34	14,1
	МК контейнеры, > 9мм	6,4	64	48	17,2
	МК контейнеры, < 9мм	2,7	27	14	13,7
	НСР₀₅	4,6			28
Великан	МР (контроль)	5,3	46	5	37,0
	МК контейнеры, >9мм	3,8	38	2	20,0
	МК контейнеры, < 9мм	2,9	29	7	18,3
	НСР₀₅	3,2			18

*МР – микрорастения, высаженные из пробирок, МК – микроклубни, выращенные в контейнерах, диаметром больше или меньше 9 мм

этом у большинства сортов оно было ниже, чем в контроле. При выращивании микроклубней в контейнерах со сменой питательных сред у всех сортов, кроме Утро, выход микроклубней был выше, чем в аналогичном варианте в пробирках (контроль). У сортов Красавчик и Фиолетовый коэффициент размножения увеличился до 2,1... 2,7 шт./ растение, Купец, Великан, Варяг и Барин – до 1,4...1,5 шт./раст. У сорта Утро в этом варианте он был ниже, чем в контроле, на 0,1 шт./растение. Применение контейнерной технологии позволило увеличить выход микроклубней стандартной фракции, по сравнению с контролем, у сортов Купец, Утро, Великан и Варяг на 3...9 %. Одновременно у сортов Барин и Фиолетовый величина этого показателя уменьшилась на 7...8 %, а у сорта Красавчик осталась без изменений.

Микроклубни стандартной и не стандартной фракции, выращенные в пробирках со сменой сред, отличались хорошей сохранностью: 97... 100 и 86...97 % соответственно (табл. 3). У микроклубней стандартной фракции, произведенных по аналогичной технологии в контейне-

рах, она составляла 96...100 %. Сохранность не стандартных микроклубней, выращенных в контейнерах, была ниже, чем в пробирках, на 9...27 %, что обусловлено их ростом в жидкой среде и последующей потерей тургора в период хранения.

В третьем опыте растения, высаженные в теплицу из пробирок (контроль) были выращенными, прохождение всех фаз развития – дружным, высота ботвы на 10 день после посадки составляла 15...20 см, а к фазе бутонизации – начала цветения достигала 30...40 см. Всхожесть микроклубней обеих фракций при посадке составляла 100 %, так как они были заблаговременно пророщены в лабораторных условиях. Однако этот агротехнический прием неприемлем для промышленного производства, поскольку велика вероятность облома ростков.

Растения из стандартных микроклубней, произведенных в контейнерах, несколько отличались от контроля по силе роста. Так, их высота на 10 день после посадки находилась на уровне не более 8...10 см. При это к фазе бутонизации, сроки наступления которой совпадали

с контрольным вариантом, они так же достигла 30...40 см.

Всходы из нестандартных микроклубней были неравномерными. Растения сильно отставали в росте и развитии. Прохождение всех фаз запаздывало, по сравнению с контролем, на 15...20 дней. Отмирание ботвы было сильно растянутым во времени. В результате уборку в этом варианте пришлось провести на 14 дней позже, чем в остальных.

Количественный и качественный выход мини-клубней при использовании исходного материала различного происхождения зависел от сортовых особенностей. Коэффициент размножения в контроле в зависимости от сорта составлял от 3,7 до 9,1 шт. при высоком выходе стандартной фракции. В варианте с высадкой клубней стандартной фракции он был несколько ниже – 2,2...6,4 шт. на одно растение. Исключением стал сорт Красавчик, у которого коэффициент размножения в контроле был меньше, чем при использовании стандартных микроклубней – 3,7 и 7,5 шт. соответственно. Растения из нестандартных микроклубней, характеризовались очень низким выходом мини-клубней, который не превышал 1,2...4,1 шт.

Выводы. Максимальный количественный выход стандартной фракции микроклубней отмечен в варианте с размещением 60 черенков в контейнере. При такой плотности посадки

коэффициент размножения был равен 0,8...2,7 микроклубням на 1 растение, выход стандартной фракции – 27...94 %. Увеличение густоты посадки микрочеренков в контейнере до 80 шт. снизило выход стандартных микроклубней в 1,3...1,5 раза.

При выращивании микроклубней в пробирках по общепринятой схеме со сменой среды для стимуляции клубнеобразования было получено от 1,0 до 1,5 клубней в перерасчете на одно растение при выходе стандартной фракции от 64 до 78 %. Применение контейнерной технологии с аналогичной схемой чередования питательных сред позволило увеличивать выход стандартной фракции у большинства изученных сортов до 75...86 %. В вариантах с повышенным содержанием сахарозы (6 %) в питательной среде на начальных этапах онтогенеза отмечен очень низкий коэффициент размножения, который не может компенсировать достаточно высокий выход стандартной фракции вне зависимости от используемого лабораторного сосуда для выращивания микроклубней.

Оценка продуктивности растений при их выращивании под защитой от насекомых-переносчиков инфекций свидетельствует, что в контрольном варианте с высадкой пробирочных микрорастений коэффициент размножения был больше, чем при посадке микроклубней, при высоком выходе стандартной фракции.

Литература

1. Актуальные проблемы и приоритетные направления развития картофелеводства / А. В. Коршунов, Е. А. Симаков, Ю. Н. Лысенко и др. // Достижения науки и техники АПК. 2018. Т. 32. № 3. С. 12-20. DOI: 10.24411/0235-2451-2018-10303.
2. In vitro technology at the US Potato Genebank / J. B. Bamberg, M. W. Martin, J. Abad, et al. // In Vitro Cellular Developmental Biology-plant. 2016. Vol. 52. No. 3. Pp. 213-225.
3. Involvement of jasmonic acid and light periods on potato microtuber growth response / M. H. Rahman, S.A. Haider, M. Hossain, et al. // *International Journal of Biosciences*. 2013. Vol. 3 No. 5. Pp. 87-94.
4. Wrobel S. Assessment of potato microtuber and in vitro plantlet seed multiplication in field conditions –Growth, development and yield // *Field crops research*. 2015. No. 178. Pp. 26-33.
5. Efficient microtuber production of potato in modified nutrient spray bioreactor system / Z. Rahman, S. Islam, F. Chowdhury, et al. // *Scientia Horticulturae*. 2015. No. 192. Pp. 369-374.
6. Naik P., Buckseth T. Recent advances in virus elimination and tissue culture for quality potato seed production // *Biotechnologies of crop improvement* / S. Gosal, S. Wani (Eds). Cham: Springer, 2018. V.1. Pp. 131-158.
7. Mamiya K., Tanabe K., Jnishi N. Production of potato microtubers using plastic culture bags // *Plant Biotechnology*. 2020. Vol. 37. Pp. 233-238.
8. Чигрина С.А., Лукаткин А.С. Трофическая регуляция столоно- и клубнеобразования у однопочковых черенков картофеля на жидкой питательной среде // *Морфофизиология специализированных побегов многолетних травянистых растений: Программ и тезисы докладов Всероссийского совещания*. Сыктывкар, 2000. С. 169-171.
9. Дерягин А.Н., Юрьева Н.О. Периодичность этапов клубнеобразования у картофеля in vitro // *Докл. РАСХН*. 2001. №3.
10. Shoot regeneration, micropropagation and microtuberization of potato (*Solanum tuberosum* L.) cultivars / F. Mani, M. Mhamdi, T. Bettaieb, et al. // *Journal of New Sciences*. 2014. Vol. 7. No. 2. Pp. 10-18.
11. Koksharova M.K., Lepp F.R., Kelik L.A. Influence of sucrose and growth regulators on induction of the formation of potato microtubers in culture in vitro // *Bulletin of Biotechnology*. 2017. Vol. 1. No. 11. P. 12.
12. Impact of Plant Density on the Formation of Potato Minutubers Derived from Microtubers and Tip-Cuttings in Plastic Houses / H. Jin, J. Liu, J. Song, et al. // *Journal of Integrative Agriculture*. 2013. Vol. 12. No. 6. Pp. 1008-1017.
13. Изучение динамики микроклубнеобразования картофеля сорта Невский в асептической культуре in vitro / А.Т. Гайзатулина, З. Сташевски, Е.А. Гимаева и др. // *Достижения науки и техники АПК*. 2016. Т.30. №10. С. 61-65.
14. Аксенова Н.П., Константинова Т.Н., Ложникова В.Н. Влияние длины дня и фитогормонов на клубнеобразование у картофеля в культуре in vitro // *Физиология растений*. 2009. Т. 56. №4. С. 500-508.
15. Effect of two cytokinins and a growth inhibitor on the in vitro tuberization of two genotypes of *Solanum tuberosum* L. cvs. Atlantic and Alpha / J. Garcia, F. Campos, J. Bolanos, et al. // *Uniciencia*. 2019. Vol. 33. No. 2. Pp. 1-12.
16. Kumlay A.M. Combination of the auxins NAA, IBA, and IAA with GA3 improves the commercial seed-tuber production of potato (*Solanum tuberosum* L.) under in vitro conditions // *Biomed Research International*. 2014. URL: <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2014/439259/> (дата обращения: 10.10.2020).
17. Afrasiab H., Rashid N., Akram M. An efficient method for direct shoot regeneration from leaf explants of *Solanum nigrum* induced by Thidiazuron // *International Journal of Agriculture and Biology*. 2017. Vol. 19. Pp. 348-354.
18. Manisha D, Tapan K.N. High efficiency macropropagation of potato (*Solanum tuberosum* L.) cv. Kufri Jyoti in

Kumaun Hills // Journal of Plant Breeding and Crop Science 2015. Vol. 7. Pp. 203-210.

19. Zürcher E., Müller B. Cytokinin synthesis, signaling, and function—advances and new insights // International review of cell and molecular biology. 2016. Vol. 324. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1937644816000022?via%3Dihub>. doi. 10.1016/bs.ircmb.2016.01.001.

Сведения об авторах.

Овэс Елена Васильевна – кандидат сельскохозяйственных наук, зав. отделом
 Гаитова Наталья Александровна – кандидат сельскохозяйственных наук, старший научный сотрудник
 Шишкина Ольга Алексеевна – научный сотрудник
 Федеральный исследовательский центр картофеля имени А.Г. Лорха, Московская обл., п. Красково, Россия

INDUCTION OF MICROTUBING OF NEW PROMISING POTATO VARIETIES IN ASEPTIC CULTURE

Oves E.V., Gaitova N.A., Shishkina O.A.

Abstract. The studies were carried out with the aim of optimizing microtubing of promising potato varieties in aseptic culture. The experiments studied such factors as the use of vessels of various sizes (test tubes with a diameter of 25 mm and plastic containers 18x18 cm, into which 10 ml of agar and 400 ml of liquid nutrient medium, respectively, were poured, respectively), the density of planting plants in containers (40, 60 and 80 stem explants), the composition of the nutrient medium during ontogenesis, cultivation of mini-tubers from in vitro microplants (control) and microtubers (≥ 0.9 cm and 0.5 ... 0.9 cm in size). When studying the possibility of modifying the nutrient medium based on the Murashige-Skoog recipe to induce tuberization in one variant, the sucrose concentration during growth was changed from 2% before the formation of four internodes by 8% after this phase, the kinetin content during the entire observation period was 0.5 mg/l. In the second variant, microplants were kept on a medium with 6% sucrose and 0.25 mg/l kinetin throughout ontogenesis. The highest yield of microtubers of the standard fraction (27 ... 94%) with a multiplication factor of 0.8 ... 2.7 pcs/plant was noted in the variant with 60 cuttings placed in a container. When grown in test tubes with a change of medium, 1.0 ... 1.5 microtubers were collected per plant with a standard fraction yield of 64 ... 78%. The use of container technology with a similar alternation of nutrient media increased the yield of the standard fraction in most of the studied varieties to 75 ... 86%. In variants with a constant sucrose content in the nutrient medium (6%), a very low multiplication factor was noted, which did not compensate for a sufficiently high yield of the standard fraction, regardless of the laboratory vessel used. The multiplication factor of test tube microplants during planting in the ground was higher than when planting microtubers, with a high yield of the standard fraction.

Key words: potatoes, phytohormones, microtubing in vitro, original seed production.

References.

1. Korshunov AV, Simakov EA, Lysenko YuN. [Actual problems and priority directions of potato growing development]. Dostizheniya nauki i tekhniki APK. 2018; 32 (3): 12 p. Russian. DOI: 10.24411/0235-2451-2018-10303.
2. Bamberg JB, Martin MW, Abad J. In vitro technology at the US Potato Genebank. In vitro cellular developmental Biology-plant. 2016; 52 (3): 213 p.
3. Rahman MH, Haider SA, Hossain M. Involvement of jasmonic acid and light periods on potato microtuber growth response. International journal of biosciences. 2013; 3 (5): 87 p.
4. Wrobel S. Assessment of potato microtuber and in vitro plantlet seed multiplication in field conditions – growth, development and yield. Field crops research. 2015; 178: 26 p.
5. Rahman Z, Islam S, Chowdhury F. Efficient microtuberproduction of potato in modified nutrient spray bioreactor system. Scientia horticulturae. 2015; (192): 369 p.
6. Naik P, Buckseth T, Gosal S, Wani S. Recent advances in virus elimination and tissue culture for quality potato seed production. Biotechnologies of crop improvement. Cham: Springer, 2018; 1: 131 p.
7. Mamiya K, Tanabe K, Jnishi N. Production of potato microtubers using plastic culture bags. Plant biotechnology. 2020; 37: 233 p.
8. Chigrina SA, Lukatkin AS. Troficheskaya regulyatsiya stolono- i klubneobrazovaniya u odnopochkovykh cherenkov kartofelya na zhidkoi pitatel'noi srede. Morfofiziologiya spetsializirovannykh pobegov mnogoletnikh travyanistykh rastenii: Programm i tezisy dokladov Vserossiiskogo soveshchaniya. [Trophic regulation of stolon and tuber formation in single-bud potato cuttings on a liquid nutrient medium. Morphophysiology of specialized shoots of perennial herbaceous plants: Programs and abstracts of all-Russian meeting]. Syktyvkar. 2000; 169 p. Russian.
9. Deryain AN, Yur'eva NO. [Periodicity of stages of tuberization in potato in vitro]. Dokl. RASKhN. 2001; (3).
10. Mani F, Mhamdi M, Bettaieb T. Shoot regeneration, micropropagation and microtuberization of potato (*Solanum tuberosum* L.) cultivars. Journal of new sciences. 2014; 7 (2): 10 p.
11. Koksharova MK, Lepp FR, Kelik LA. Influence of sucrose and growth regulators on induction of the formation of potato microtubers in culture in vitro. Bulletin of biotechnology. 2017; 1 (11): 12 p.
12. Jin H, Liu J. Song impact of plant density on the formation of potato minitubers derived from microtubers and tip-cuttings in plastic houses. Journal of integrative agriculture. 2013; 12 (6): 1008 p.
13. Gaizatulina AT, Stashevski Z, Gimaeva EA. [Study of the dynamics of microtubing of potato varieties Nevsky in aseptic culture in vitro]. Dostizheniya nauki i tekhniki APK. 2016; 30 (10): 61 p. Russian.
14. Aksenova NP, Konstantinova TN, Lozhnikova VN. [Influence of day length and phytohormones on tuberization of potatoes in in vitro culture]. Fiziologiya rastenii. 2009; 56 (4): 500 p. Russian.
15. Garcia J, Campos F, Bolanos J. Effect of two cytokinins and a growth inhibitor on the in vitro tuberization of two genotypes of *Solanum tuberosum* L. cvs. Atlantic and Alpha. Uniciencia. 2019; 33 (2): 1 p.
16. Kumlay AM. Combination of the auxins NAA, IBA, and IAA with GA3 improves the commercial seed-tuber production of potato (*Solanum tuberosum* L.) under in vitro conditions. Biomed research international. 2014; [cited 2020 Oct. 10]. Available from: <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2014/439259/>
17. Afrasiab H, Rashid N, Akram M. An efficient method for direct shoot regeneration from leaf explants of *Solanum nigrum* induced by Thidiazuron. International journal of agriculture and biology. 2017; 19: 348 p.
18. Manisha D, Tapan KN. High efficiency macropropagation of potato (*Solanum tuberosum* L.) cv. Kufri Jyoti in Kumaun Hills. Journal of plant breeding and crop science 2015; (7): 203 p.
19. Zürcher E, Müller B. Cytokinin synthesis, signaling, and function - advances and new insights. International review of cell and molecular biology. 2016; 324: Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1937644816000022?via%3Dihub>. doi. 10.1016/bs.ircmb.2016.01.001

Authors:

Oves Elena Vasilievna – Ph.D. of agricultural sciences, head of department.
 Gaitova Natalya Aleksandrovna – Ph.D. of agricultural sciences, senior researcher
 Shishkina Olga Alekseevna - researcher