

3. Saprykin V.S. Proso v Sibiri / V.S. Saprykin. – Novosibirsk, 1977. – 182 s.

4. Lysov V.N. Proso / V.N. Lysov. – Leningrad: Kolos. – 1968. – 224 s.

5. Vasilchenko N.F. Kormovoe proso v Altaiskom krae (metodicheskie rekomendatsii) / N.F. Vasilchenko. – Novosibirsk, 1982. – 20 s.

6. Shukis E.R. Proso posevnoe / E.R. Shukis // Kormovye kultury na Altae. – Barnaul, 2013. – S. 49-56.

7. Iashovskii I.V. Seleksiia i semenovodstvo prosa / I.V. Iashovskii. – Moskva: Agropromizdat, 1987. – 256 s.

8. Metodika gosudarstvennogo sortoispytaniia selskokhoziaistvennykh kultur. – Moskva: 1985. – Vyp. 1. – S. 3-267.

9. Dospekhov B.A. Metodika polevogo opyta. – Moskva: Kolos, 1979. – 336 s.

10. Gosudarstvennyi reestr selektsionnykh dos-tizhenii, dopushchennykh k ispolzovaniiu. T. 1. Sorta rastenii (ofits. izd.). – Moskva: Rosinformagrotekh, 2022. – 645 s.



УДК 633.491:581.143.6

DOI: 10.53083/1996-4277-2022-216-10-12-17

О.В. Бычкова, Л.П. Хлебова, Н.В. Барышева

O.V. Bychkova, L.P. Khlebova, N.V. Barysheva

СРЕДНЕСРОЧНОЕ ХРАНЕНИЕ ГЕНОФОНДА КАРТОФЕЛЯ В КУЛЬТУРЕ ТКАНЕЙ IN VITRO

MEDIUM-TERM STORAGE OF POTATO GENE POOL IN VITRO TISSUE CULTURE

Ключевые слова: картофель, коллекция *in vitro*, маннит, осмотический стресс, депонирование, медленно растущая коллекция, фазы развития картофеля.

Представлены данные влияния маннита на эффективность среднесрочного сохранения сортов картофеля в культуре *in vitro*. Объектом служили сорта картофеля Сувенир Горного Алтая и Монастырский. Тестировали варианты питательных сред (МС + 7 г/л агара, 20 г/л сахарозы) с добавлением маннита в концентрации 2,5-10 г/л (шаг 2,5 г). Контроль – среда без осмотика. Культуры содержали при стандартных условиях без субкультивирования. В процессе культивирования на контроле регенеранты показали различную скорость развития. Использование маннита в низкой концентрации (2,5 г/л) не привело к снижению скорости роста в начале развития. Более длительное нахождение в присутствии осмотика привело к увеличению периода культивирования до стадии замедленного роста на 9-16 суток. Высокое содержание маннита – 5,0-10,0 г/л – позволило увеличить межфазный период в 2-3 раза относительно контроля. Высота регенерантов в разные фазы развития не различалась между собой. На стадии формирования 2-3 междоузлий максимальное содержание осмотика снижало скорость развития и высоту регенерантов. Скорость формирования 4-6 междоузлий снижалась относительно контроля с увеличением действия осмотического агента. Более длительное культивирование в условиях стресса позволило регенерантам сформировать 7 междоузлий и более (фаза 3) и достичь высоты, не отличающейся от контроля. Продолжительность межфазного периода превосходила кон-

трольное значение и составила 44-98 сут. в зависимости от генотипа и концентрации маннита. Размеры междоузлий (7,7-11,1 мм) позволяют использовать микрочеренки для дальнейшей мультипликации, не снижая коэффициент размножения. Выявлена реакция генотипа на применение маннита в качестве сдерживающего рост фактора. Использование маннита в концентрации 2,5-7,5 г/л способствовало снижению скорости роста и развитию регенерантов картофеля *in vitro*. Максимальный эффект был получен при использовании 10 г/л маннита, что привело к увеличению срока субкультивирования в 2,8-3,3 раза.

Keywords: potato, *in vitro* collection, mannitol, osmotic stress, deposition, slow-growing collection, potato development stages.

This paper discusses the data on the effect of mannitol on the effectiveness of medium-term preservation of potato varieties *in vitro* culture. The research targets were the potato varieties Suvenir Gornogo Altaya and Monastyrskiy. Nutrient media (MS + 7 g L of agar, 20 g L of sucrose) were tested with the addition of mannitol at a concentration of 2.5-10 g L (step 2.5 g). The medium without any osmotic agent was used as the control. The cultures were kept under standard conditions without subcultivation. When being cultivated in the medium, the regenerants had different rates of development. The use of mannitol at a low concentration (2.5 g L) did not reduce the growth rate at the beginning of development. A longer stay with the osmotic agent increased the cultivation period to the stage of retarded growth by 9-16 days. The high content of mannitol (5.0-10.0 g L) allowed increasing the interphase period 2-3

times as compared to the control. The height of regenerants at different development stages did not differ from each other. At the stage of formation of the 2nd and 3rd internodes, the maximum content of the osmotic agent reduced the development rate and height of regenerants. The rate of formation of the 4th through 6th internodes decreased compared to the control with increased action of the osmotic agent. Longer cultivation under stress conditions allowed regenerants forming the 7th or more internodes (stage 3) and reaching the height of the control plantlets. The duration of the interphase period exceeded

that of the control and amounted to 44-98 days depending on the genotype and mannitol concentration. The internode size (7.7-11.1 mm) allows using microcuttings for further reproduction without reducing the multiplication factor. The reaction of the genotype to the use of mannitol as a growth-inhibiting factor was revealed. The use of mannitol at a concentration of 2.5-7.5 g L contributed to decreased growth rate and the development of potato regenerants *in vitro*. The maximum effect was obtained when using 10 g L of mannitol which led the increase of the subcultivation period 2.8-3.3 times.

Бычкова Ольга Владимировна, к.с.-х.н., ст. науч. сотр., Алтайский государственный университет, г. Барнаул, Российская Федерация, e-mail: olga4ka_asu@mail.ru.

Хлебова Любовь Петровна, к.б.н., доцент, вед. науч. сотр., Алтайский государственный университет, г. Барнаул, Российская Федерация, e-mail: hlebova61@mail.ru.

Барышева Надежда Владимировна, к.б.н., ст. науч. сотр., ФГБНУ «Федеральный Алтайский научный центр агроботехнологий», г. Барнаул, Российская Федерация, e-mail: barysheva.63@mail.ru.

Bychkova Olga Vladimirovna, Cand. Agr. Sci., Senior Researcher, Altai State University, Barnaul, Russian Federation, e-mail: olga4ka_asu@mail.ru.

Khlebova Lyubov Petrovna, Cand. Bio. Sci., Assoc. Prof., Leading Researcher, Altai State University, Barnaul, Russian Federation, e-mail: hlebova61@mail.ru.

Barysheva Nadezhda Vladimirovna, Cand. Bio. Sci., Senior Researcher, Federal Altai Scientific Center of Agro-Biotechnologies, Barnaul, Russian Federation, e-mail: barysheva.63@mail.ru.

Введение

Создание и поддержание генетических коллекций растений – наиболее эффективный путь сохранения разнообразия, его обогащения и рационального использования. Так, необратимая потеря отдельных генов или комбинаций генов в генотипах – генная эрозия – является ключевой проблемой при изучении генетических ресурсов растений для производства продовольствия и ведения сельского хозяйства.

Существующая стратегия сохранения видов в естественных условиях (*in situ*) является предпочтительной, но это не всегда возможно. Альтернативой является сохранение генофонда растений *ex situ*, в том числе путем создания генетических банков. Согласно классификации Международного центра генетических ресурсов, различают: 1) генетические банки семян; 2) банки растительного материала, сохраняемого *in vitro*; 3) полевые генные банки [1].

Использование банков семян имеет ряд недостатков, в том числе невозможность хранения рекальцитрантных семян или вегетативно размножающихся и не образующих семян растений. Существуют сложности в сохранении живых коллекций видов, характеризующихся узкой экологической приуроченностью или имеющих сложные трофические связи. Для таких видов единственно возможным способом сохранения

ex situ является разработка технологии размножения и сохранения *in vitro*.

Одной из задач при создании *in vitro* коллекций генетических ресурсов растений является поиск способов замедления роста регенерантов [2], поскольку увеличение количества пассажей приводит к снижению качества размножаемого материала.

Методы, позволяющие ограничить рост, как правило, основаны на изменении регламентов культивирования. Это позволяет при необходимости легко переключаться на режим быстрого тиражирования. Подбор оптимальных условий культивирования определяется потребностями видов в отношении физических факторов, а также способностью преодолеть условия стресса для обеспечения сохранности микрорастений с последующей регенерацией с высоким процентом приживаемости *ex vitro* [2, 3].

Особенностью культивирования растений *in vitro* является специфическая реакция генотипа на компоненты питательной среды и, как следствие, необходимость оптимизации условий депонирования, что обуславливает актуальность исследований в данной области.

Целью исследования явилось изучение влияния маннита на эффективность среднесрочного сохранения сортов картофеля в культуре *in vitro*.

Объекты и методы исследования

В качестве объекта были выбраны сорта картофеля разных групп спелости: Сувенир Горного Алтая – раннеспелый и Монастырский – среднепоздний (селекция ГАГУ).

Базовой питательной средой служила безгормональная среда Мурасиге-Скуга, содержащая 7 г/л агара и 20 г/л сахарозы. Тестировали варианты сред с добавлением осмотического агента маннита в концентрации 2,5-10 г/л, с шагом 2,5 г. Контролем служила среда без содержания осмотика. Культуры содержали при стандартных условиях (23±2°C, освещенность 2 кЛк, фотопериод 16 ч день/8 ч ночь) без субкультивирования. В процессе культивирования отмечали фазы роста: прорастание, интенсивный рост, замедленный рост и естественное отмирание. Фиксировали сроки формирования морфологических структур на стадии интенсивного роста: формирование 2 настоящих листьев, 2-3 междоузлий (1), 4-6 междоузлий (2) и более 7 междоузлий (3) [4]. Наступление фазы фиксировали при вступлении в нее 75-80% регенерантов.

Результаты исследований

В процессе культивирования на питательных средах без добавления осмотического фактора регенеранты картофеля в зависимости от группы спелости показали различную скорость развития. Так, регенеранты сорта Сувенир Горного Алтая достигали фаз формирования 2-3, 4-6 и более 7 междоузлий на 7-е, 18-е и 27-е сут. соответственно. Сорт Монастырский, являющийся среднепоздним, достигал соответствующих фаз развития на 3-7 суток позднее.

Использование маннита в низкой концентрации (2,5 г/л) не привело к снижению скорости роста в начале развития. Более длительное нахождение на питательных средах в присутствии данного осмотика привело к увеличению

периода культивирования до стадии замедленного роста на 9-16 суток. Высокое содержание маннита – 5,0-10,0 г/л – позволило увеличить межфазный период в 2-3 раза относительно контроля (табл. 1).

Отзывчивость генотипов на использование маннита в качестве фактора, сдерживающего рост культур, была продемонстрирована в ряде работ [5, 6]. Так, Chappell с коллегами обращает внимание на то, что необходимо учитывать характеристики генотипа картофеля для получения желаемого роста растений для длительного хранения, а также для последующего размножения, поскольку разные клоны росли с разной скоростью на средах, содержащих маннит.

Полагают, что действие осмотического стресса на растение выражается в угнетении фотосинтеза и дыхания, снижении ферментной активности, изменении соотношения минеральных веществ и, как следствие, замедлении ростовых процессов, в том числе за счет торможения деления и роста клеток [7-9]. В связи с этим одним из важных морфометрических показателей является высота растений (табл. 2).

Несмотря на то, что сорта отличаются по срокам спелости, высота их регенерантов в разные фазы развития не различалась между собой.

На стадии формирования 2-3 междоузлий (фаза 1) максимальное содержание осмотика достоверно снижало не только скорость развития, но и высоту регенерантов. Средняя высота мериклонов составила 14 (Сувенир Горного Алтая) и 15 мм (Монастырский), тогда как в контроле данный показатель варьировал от 20,7 до 21,6 мм соответственно. Содержание маннита в питательной среде в концентрации 2,5-7,5 г/л способствовало сокращению длины побега на 40-60% в зависимости от сорта.

Таблица 1

Сроки формирования морфологических структур на стадии интенсивного роста картофеля *in vitro*, сут.

Концентрация маннита, г/л	Фазы формирования морфологических структур					
	1	2	3	1	2	3
	Салют Горного Алтая			Монастырский		
0	7	18	27	10	23	35
2,5	7	21	43	9	24	44
5,0	15	41	75	18	45	81
7,5	15	41	75	18	48	80
10	15	53	90	21	61	98

Высота регенерантов картофеля *in vitro* в различные фазы формирования морфологических структур (стадия интенсивного роста), мм

Концентрация маннита, г/л	Фазы формирования морфологических структур					
	1	2	3	1	2	3
	Салют Горного Алтая			Монастырский		
0	21,6	46,7	81,5	20,7	43,8	78,9
2,5	10,7	31,8	70,4	12,5	32,6	71,0
5,0	12,6	41,5	74,8	12,4	38,6	77,7
7,5	9,7	30,0	74,4	11,8	27,1	77,8
10	14,0	29,0	74,2	15,0	29,9	72,0

Скорость формирования 4-6 междоузлий (переход во вторую фазу развития) снижалась относительно контроля с увеличением действия осмотического агента. Средняя длина междоузлий не превышала контрольный показатель сортов Сувенир Горного Алтая и Монастырского (9,3 и 8,8 мм соответственно), что подтверждает ингибирующее действие осмотиков на дифференциацию и рост клеток растений. Данный параметр варьировал от 5,4 до 8,3 мм в зависимости от сорта и содержания маннита, тем самым снижая коэффициент размножения в 1,5-2 раза (рис. 1).

Более длительное культивирование в условиях осмотического стресса позволило регенерантам сформировать 7 междоузлий и более (фаза 3) и достичь высоты, достоверно не отличающейся от контроля. Однако продолжительность межфазного периода превосходила контрольное значение и составила 44-98 сут. в зависимости от генотипа и концентрации маннита

(рис. 2). При этом размеры междоузлий (7,7-11,1 мм) позволяют использовать микрочеченки для дальнейшей мультипликации с одной пазушной почкой, не снижая коэффициент размножения, который варьировал от 6,4 до 7,3.

Регенеранты после достижения 3-й фазы развития использовали в качестве эксплантов для дальнейшего микроразмножения на питательной среде без фактора, ограничивающего рост. Кинетика развития мериклонов картофеля по срокам развития и их габитус не отличались от контроля.

Наши данные подтверждаются аналогичной ответной реакцией картофеля *in vitro* на добавление маннита в питательную среду, описанной в работе Chappell с коллегами. Последующее микроразмножение можно использовать для получения растительного материала *in vitro*, не вызывая задержек в производстве миниклубней в теплицах [6].

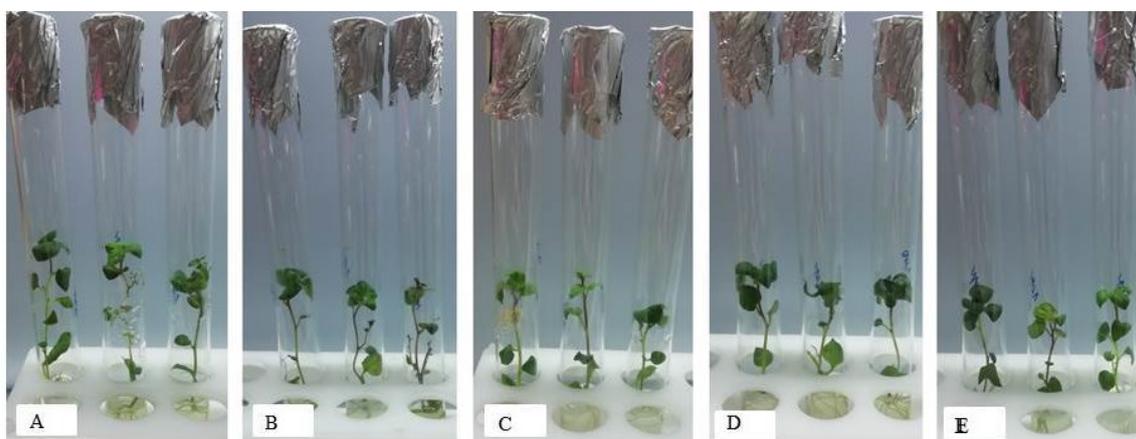
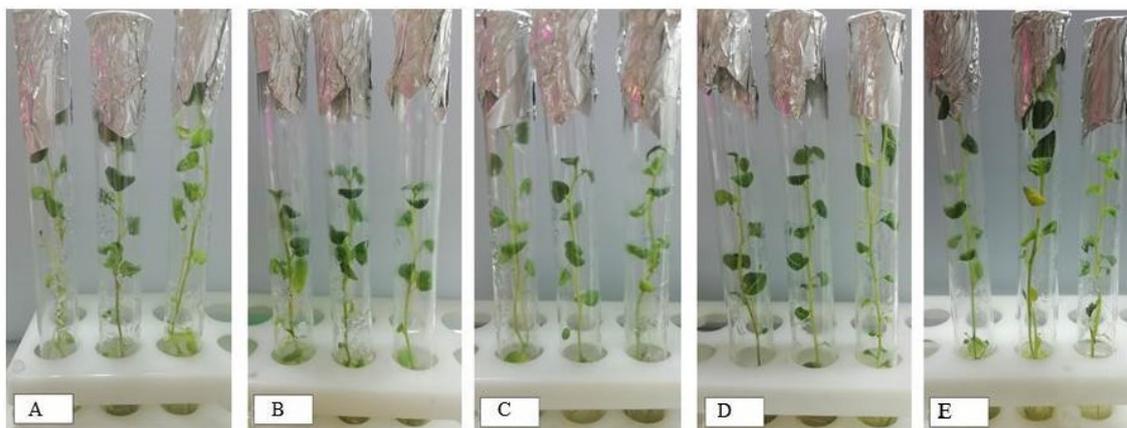


Рис. 1. Вторая фаза формирования морфологических структур *in vitro* сорта картофеля Сувенир Горного Алтая на питательной среде Мурасиге-Скуга с различным содержанием маннита:

A – контроль; B – 2,5 г/л; C – 5,0 г/л; D – 7,5 г/л; E – 10,0 г/л



**Рис. 2. Третья фаза формирования морфологических структур *in vitro* сорта картофеля Сувенир Горного Алтая на питательной среде Мурасиге-Скуга с различным содержанием маннита:
А – контроль; В – 2,5 г/л; С – 5,0 г/л; D – 7,5 г/л; E – 10,0 г/л**

Таким образом, использование маннита позволяет поддерживать устойчивое жизнеспособное состояние сохраняемых побегов и растений картофеля изучаемых сортов при низкой интенсивности ростовых процессов. При этом полученные регенеранты можно отнести к стандартным растениям, образующим не менее 4 междоузлий, с хорошо развитыми листовыми пластинками темно-зеленого цвета и сформированной корневой системой.

Выводы

Выявлена реакция генотипа на применение маннита в качестве сдерживающего рост осмотического фактора. Формирование морфологических структур на стадии интенсивного роста у среднепозднего сорта картофеля происходило позже на 1-8 сут. в зависимости от фазы роста и концентрации многоатомного спирта.

Использование маннита в концентрации 2,5-7,5 г/л способствовало снижению скорости роста и развитию регенерантов картофеля *in vitro*. Максимальный эффект был получен при использовании 10 г/л маннита, что привело к увеличению срока субкультивирования в 2,8-3,3 раза. После переноса эксплантов на питательную среду без маннита морфофизиологические характеристики мериклонов не отличались от контроля.

Библиографический список

1. Андреев, Л. Н. Сохранение редких и исчезающих растений *ex situ*: достижения и проблемы / Л. Н. Андреев, Ю. Н. Горбунов. – Текст: непосредственный // Изучение и охрана

разнообразия фауны, флоры и основных экосистем Евразии: материалы Международной конференции (г. Москва, 21-23 апреля 1999 г.). – Москва, 2000. – С. 19-23.

2. International Plant Genetic Resources Institute; Reed, B.M.; Engelmann, F.; Dulloo, M.E.; Engels, J.M.M. (2004) Technical guidelines for the management of field and *in vitro* germplasm collections. *Handbooks for Genebanks*. No. 7. 106 p.

3. Шабанова, Е. А. Влияние модификаций состава питательных сред на эффективность длительного хранения *in vitro* клонов тополя и осины / Е. А. Шабанова, Н. И. Внукова, О. С. Машкина. – Текст: непосредственный // Вестник Воронежского государственного университета. – 2020. – № 1. – С. 42-49.

4. Методические рекомендации по тиражированию *in vitro* материала на основе БЗСК для оригинального семеноводства картофеля / Е. В. Овэс, Б. В. Ансимов, А. И. Усков [и др.]. – Москва: ФГБНУ ВНИИКС, 2017. – 26 с. – Текст: непосредственный.

5. Разработка эффективных способов депонирования каллусных культур ценных лекарственных растений / С. Н. Филиппова, Т. И. Дитченко, А. О. Логвина [и др.]. – Текст: непосредственный // Труды БГУ. – 2015. – Т. 10, ч. 1. – С. 205-220.

6. Chappell, A.L., Koym, J.W., Scheuring, D.C., et al. (2020). Incorporation of mannitol in tissue culture media for long-term storage of potatoes at moderately low temperature and effect on subsequent micropropagation. *Am. J. Potato Res.* 97: 439-446. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12230-020-09780-6>.

7. Zhu, J.K. (2016). Abiotic stress signaling and responses in plants. *Cell* 167(2): 313-324. DOI: 10.1016/j.cell.2016.08.029

8. Дорошенко, Н. П. Влияние сахарозы на замедление роста и сохранение растений винограда в коллекции *in vitro* / Н. П. Дорошенко, А. С. Куприкова, В. Г. Пузырнова. – Текст: непосредственный // Плодоводство и виноградарство Юга России. – 2017. – № 46 (04). – С. 1-16.

9. Особенности депонирования хризантемы садовой в условиях *in vitro* / И. В. Митрофанова, Н. Н. Иванова, О. В. Митрофанова [и др.]. – DOI 10.25684/NBG.boolt.131.2019.15. – Текст: непосредственный // Бюллетень ГНБС. – 2019. – № 131. – С. 110-117.

References

1. Andreev, L. N. Sokhranenie redkikh i ischezaiushchikh rastenii ex situ: dostizheniia i problemy / L. N. Andreev, Iu. N. Gorbunov // Izucheniie i okhrana raznoobraziia fauny, flory i osnovnykh ekosistem Evrazii: materialy Mezhdunar. konf., Moskva, 21-23 aprelia 1999 g. – Moskva, 2000. – S. 19-23.

2. International Plant Genetic Resources Institute; Reed, B.M.; Engelmann, F.; Dulloo, M.E.; Engels, J.M.M. (2004) Technical guidelines for the management of field and *in vitro* germplasm collections. *Handbooks for Genebanks*. No. 7. 106 p.

3. Shabanova, E. A. Vliianie modifikatsii sostava pitatelnykh sred na effektivnost dlitel'nogo khraneniia *in vitro* klonov topolia i osiny / E. A. Shabanova, N. I. Vnukova, O. S. Mashkina // Vestnik VGU. – 2020. – No. 1. – S. 42-49.

4. Metodicheskie rekomendatsii po tirazhirovaniu *in vitro* materiala na osnove BZSK dlia original'nogo semenovodstva kartofelia / E. V. Oves,

B. V. Ansimov, A. I. Uskov [i dr.]. – Moskva: FGBNU VNIKKh, 2017. – 26 s.

5. Razrabotka effektivnykh sposobov deponirovaniia kallusnykh kultur tsennykh lekarstvennykh rastenii / S. N. Filippova, T. I. Ditchenko, A. O. Logvina [i dr.] // Trudy BGU. – 2015. – T. 10. – Ch. 1. – S. 205-220.

6. Chappell, A.L., Koym, J.W., Scheuring, D.C., et al. (2020). Incorporation of mannitol in tissue culture media for long-term storage of potatoes at moderately low temperature and effect on subsequent micropropagation. *Am. J. Potato Res.* 97: 439-446. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12230-020-09780-6>.

7. Zhu, J.K. (2016). Abiotic stress signaling and responses in plants. *Cell*. 167 (2): 313-324. DOI: 10.1016/j.cell.2016.08.029.

8. Doroshenko, N. P. Vliianie sakharozy na zamedenie rosta i sokhranenie rastenii vinograda v kolleksii *in vitro* / N. P. Doroshenko, A. S. Kuprikova, V. G. Puzyrnova // Plodovodstvo i vinogradarstvo luga Rossii. – 2017. – No. 46 (04). – S. 1-16.

9. Osobennosti deponirovaniia khrizantemy sadovoi v usloviakh *in vitro* / I. V. Mitrofanova, N. N. Ivanova, O. V. Mitrofanova [i dr.] // Biulleten GNBS. – 2019. – No. 131. – S. 110-117. DOI: 10.25684/NBG.boolt.131.2019.15.

Исследование выполнено в рамках реализации Программы поддержки научно-педагогических работников ФГБОУ ВО «Алтайский государственный университет», проект «Использование биотехнологических методов в оздоровлении растений и размножении безвирусного посадочного материала сельскохозяйственных культур».



УДК 630*114:631.436:630(571.15)
DOI: 10.53083/1996-4277-2022-216-10-17-23

И.В. Гецке, С.В. Макарычев
I.V. Gefke, S.V. Makarychev

ВОДНЫЙ РЕЖИМ ЧЕРНОЗЕМА ВЫЩЕЛОЧЕННОГО ПОД НАСАЖДЕНИЯМИ ГРУШИ И ЕГО РЕГУЛИРОВАНИЕ

WATER REGIME OF LEACHED CHERNOZEM UNDER PEAR PLANTATIONS AND ITS REGULATION

Ключевые слова: чернозем, груша, теплоемкость, теплопроводность, водный режим, запасы влаги, дефицит влаги, поливная норма.

Keywords: chernozem, pear, thermal capacity, thermal conductivity, water regime, soil moisture storage, moisture deficit, irrigation rate.