

# Особенности морфогенеза *in vitro* и оценка фенотипической идентичности сортовых признаков картофеля

Е.В. Овэс, Б.В. Анисимов, Е.А. Симаков, С.В. Жевора, Н.А. Гаитова

Представлены результаты оценки сортов картофеля в базовой полевой коллекции, поддерживаемой в чистых фитосанитарных условиях и отбора базовых клонов для введения в культуру *in vitro*. Предложены новые методические подходы проведения оценки растений-регенерантов в культуре *in vitro* в период прохождения основных фаз роста, развития и формирования морфологических структур. Показано, что введение в культуру ткани биоматериала, прошедшего оценку по основным сортоотличительным признакам в базовой полевой коллекции позволяет минимизировать возможные риски проявлений модификаций сортовых признаков и обеспечить сохранение фенотипической идентичности (тождественности) сортов картофеля при последующем тиражировании исходного материала для оригинального семеноводства.

**Ключевые слова:** картофель, *in vitro* материал, микрорастения, морфогенез, регенерация, фенотипическая идентичность, сортовые признаки.

Поддержание сортообразцов картофеля в базовой полевой коллекции – важное звено технологического процесса получения исходного материала для дальнейшего тиражирования и выращивания высококачественного семенного картофеля в оригинальном семеноводстве. В общепринятой семеноводческой практике отсутствуют конкретные рекомендации по проведению оценки роста и развития микрорастений и их соответствия нормативным требованиям стандарта.

Цель работы – получение новых линий *in vitro* на основе отбора высокопродуктивных базовых клонов в полевой коллекции Банка здоровых сортов картофеля (БЗСК), и проведения оценки микрорастений в фитотроне с учетом сортовых особенностей прохождения фаз роста и развития и формирования морфологических структур растений-регенерантов в культуре *in vitro*. Объектом для исследований послужили 18 сортообразцов картофеля, работа была выполнена в 2015–2017 годах.

На основе исследований в ФГБНУ ВНИИКХ показано, что надежный способ сохранения фенотипической идентичности сортов – их поддержание в базовой полевой коллекции в чистых фитосанитарных условиях [1]. Фенотипическая идентичность сортовых признаков – важнейшая составная часть работы в БЗСК. Основа

отбора базовых клонов – тщательная визуальная оценка каждого растения в онтогенезе (всходы – бутонизация – цветение) на типичность по степени выраженности основных сортоотличительных признаков с обязательным последующим отбором листовых проб и тестированием на наличие скрытой зараженности вирусной инфекцией. Предварительно намечают к отбору и нумеруют растения, отвечающие следующим основным параметрам:

- типичность и хорошая выраженность основных сортоотличительных признаков растения, стебля, листа, соцветия;

- оптимальное развитие растений с характерным для сорта количеством основных стеблей (все стебли в кусте по толщине и высоте равномерно развиты);

- абсолютно здоровый вид растений по внешним признакам – доли листа равномерно окрашены, без признаков крапчатости, морщинистости, складчатости, скручивания или закручивания.

При уборке урожаем каждого растения выкапывают вручную, выкладывают в лунку и каждое гнездо индивидуально оценивают по сортовой типичности и здоровью с учетом следующих основных параметров:

- типичность формы клубней для данного сорта, отсутствие признаков веретеновидности;

- характерное (типичное) для сорта количество стандартных по размеру клубней и переход от крупных к мелким, типичный для основной массы здоровых растений.

- отсутствие симптомов болезней и дефектов на клубнях, контролируемых допусками стандартов.

Базовая коллекция БЗСК поддерживают в чистых фитосанитарных условиях на территории Архангельской области и в высокогорье Северного Кавказа на вы-

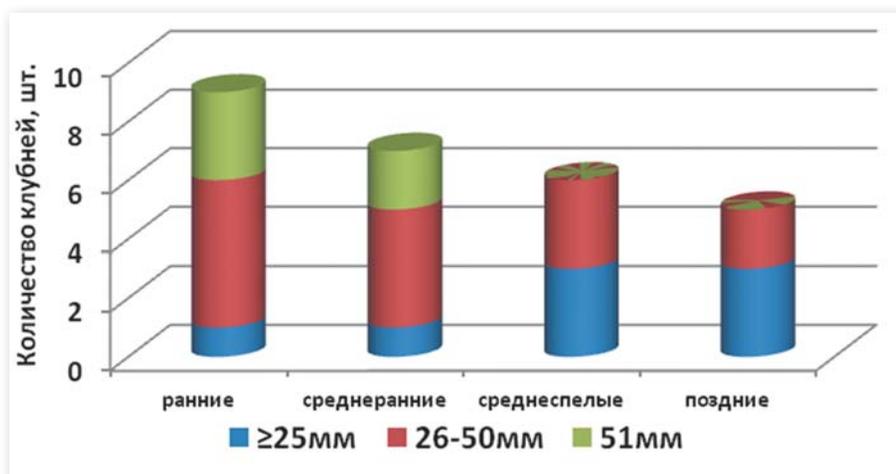


Рис. 1. Продуктивность базовых клонов в условиях северной зоны



Рис. 2. Базовый клон сорта Крепыш

соте 2500 м над уровнем моря. Использование чистого природно-климатического фактора создает благоприятные условия для оздоровительного эффекта, получаемого на основе сочетания применения методов биотехнологии и многократных последовательных улучшающих полевых отборов. Однако проведение отбора в питомнике базовых клонов в северных условиях, в связи с крайне ограниченным безморозным периодом, не всегда позволяет объективно оценивать и отбирать высокопродуктивные растения, особенно при

выращивании сортов, требующих более длительных сроков для клубнеобразования и накопления урожая. Результаты наблюдений в условиях северной зоны отражают четкую взаимосвязь между продуктивностью и скороспелостью сортов картофеля (рис. 1). Раннеспелые и среднеранние сорта формируют от 8 до 10 клубней при их средней массе 40–46 г, или 40 мм в поперечном диаметре. Сорта более поздних групп спелости не превышают 6 клубней при их средней массе 33 г, или 30–35 мм в поперечном диаметре.

Размещение БЗСК в высокогорье в условиях Северокавказского региона позволило существенно повысить эффективность отбора растений с высоким коэффициентом размножения и выравненностью урожая клубней. Результат многолетних оценок показывает, что независимо от группы спелости в условиях высокогорья сорта картофеля формируют от 12 до 25 клубней (табл.). При этом урожай сформированных клубней превышает 1000 г/растение. В таблице отражена результативность отбора в питомнике БЗСК наиболее продуктивных базовых клонов. В раннеспелой группе тройку лучших сортов представляют Удача, Метеор

и Крепыш. Они сформировали более 20 клубней при максимальном выходе стандартной фракции 16–20 шт. и продуктивностью более 1000 г/растение. При этом наибольший выход клубней стандартной фракции отмечен у сорта Крепыш (рис. 2). Высоким урожаем характеризовалась среднеранняя группа. Сорта Волжанин, Фрителла и Василек не уступили по основным оценочным показателям лучшим ранним сортам, а сорт Волжанин даже немного их превысил.

Большой интерес среди изученных образцов представляют сорта более позднего срока созревания. Среди них отмечены варьирования по количеству сформированных клубней (15–25 шт.), однако по урожайности они отличаются несущественно. В линейке среднеспелой группы по показателю сформированных клубней выделился сорт Петербургский – 25 шт., среди более поздних образцов лучший коэффициент размножения отмечен у сортов Великан и Лорх.

Отобранные базовые клоны из полевой коллекции используют в качестве биоматериала для введения в культуру ткани и получения линий *in vitro*. При тиражировании *in vitro* материала количество циклов черенкования от момента введения в культуру не превышает 10-и пассажей.

В процессе регенерации биоматериала в культуре ткани обычно отчетливо прослеживаются три основные фазы: интенсивного роста, замедленного роста и естественного отмирания. Наиболее важной частью формообразовательного процесса является фаза интенсивного роста. Она включает два основных этапа: прорастание и образование 2–3 междоузлий [2, 3]. Важная особенность этого периода – формирование морфологических структур из пазушной почки экспланта (рис. 3).

Фаза замедленного роста наступает при достижении стандартных параметров растений-регенерантов. К этому моменту они формируют 4–6 междоузлий. Согласно нормативным требованиям ГОСТ 33996–2016 «Картофель семенной. Технические условия и методы определения качества» к стандартным относятся микрорастения образующие не менее 4 междоузлий, темно-зеленой окраски с хорошо развитой листовой пластиной и корневой системой. Биоматериал с искривленными стеблями (переросшие микрорастения, сформировавшие более 7 междо-

Основные параметры оценки базовых клонов в высокогорье (2015–2017 годы)

| Сорт          | Группа спелости | Урожай клубней, г/раст. | Количество клубней, шт. | Структура урожая, шт. |          |         |
|---------------|-----------------|-------------------------|-------------------------|-----------------------|----------|---------|
|               |                 |                         |                         | > 51 мм               | 41–50 мм | < 40 мм |
| Удача         | 3               | 1400                    | 23                      | 2                     | 18       | 3       |
| Метеор        | 3               | 1100                    | 20                      | 2                     | 16       | 2       |
| Юбиляр        | 3               | 950                     | 20                      | 2                     | 15       | 3       |
| Крепыш        | 3               | 1000                    | 20                      | 8                     | 20       | 2       |
| Любава        | 3               | 800                     | 16                      | 0                     | 13       | 3       |
| Волжанин      | 4               | 1500                    | 25                      | 4                     | 14       | 7       |
| Фрителла      | 4               | 1400                    | 23                      | 3                     | 15       | 5       |
| Невский       | 4               | 1300                    | 20                      | 2                     | 13       | 5       |
| Василек       | 4               | 1300                    | 25                      | 1                     | 20       | 4       |
| Маяк          | 4               | 1150                    | 21                      | 2                     | 15       | 4       |
| Тулеевский    | 5               | 1150                    | 21                      | 3                     | 13       | 5       |
| Наяда         | 5               | 1100                    | 20                      | 0                     | 16       | 4       |
| Петербургский | 5               | 1100                    | 25                      | 3                     | 18       | 4       |
| Фиолетовый    | 5               | 1100                    | 16                      | 2                     | 14       | 2       |
| Голубизна     | 5               | 1000                    | 15                      | 3                     | 10       | 2       |
| Великан       | 6               | 1300                    | 25                      | 4                     | 17       | 4       |
| Никулинский   | 6               | 1100                    | 19                      | 2                     | 17       | 0       |
| Лорх          | 7               | 1100                    | 21                      | 2                     | 15       | 4       |

Примечание: 3- ранние; 4- среднеранние; 5- среднеспелые; 6- среднепоздние; 7 – поздние



Рис. 3. Фаза интенсивного роста: а) прорастание; б) формирование 2–3 междоузлий

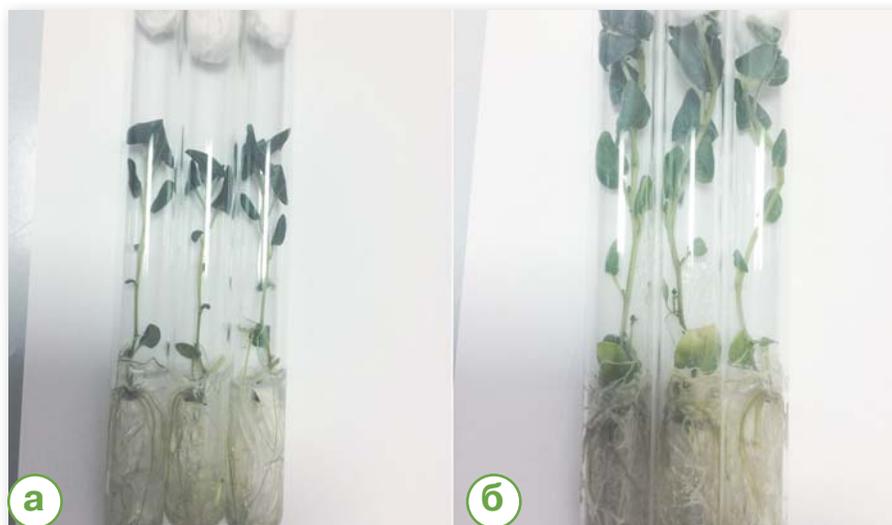


Рис. 4. Фаза замедленного роста: а) формирование 4–6 междоузлий; б) более 7 междоузлий

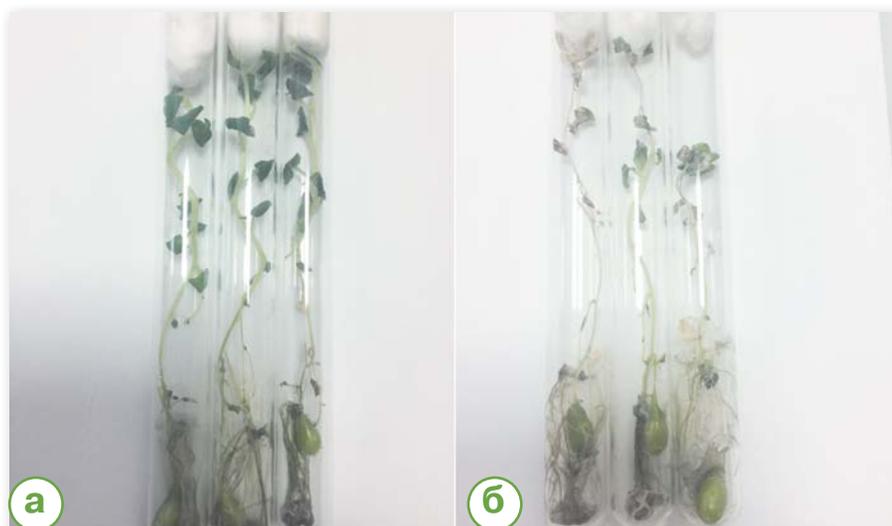


Рис. 5. Фаза физиологического старения: а) образование *in vitro* микроклубней; б) естественное отмирание растений

узлий) не рекомендуется использовать для высадки на субстрат, но они вполне пригодны для последующего черенкования. Диапазон варьирования продолжительности фазы замедленного роста во многом зависит от сортовых особенностей и условий выращивания в фитотроне (рис. 4).

Физиологическое старение *in vitro* материала может сопровождаться образованием *in vitro* микроклубней в стерильном сосуде, которое обычно наблюдается с момента полного расхода питательной среды, и заканчивается естественным отмиранием растений (рис. 5).

В современной практике применяется большое разнообразие питательных сред для регенерации экплантов и ускоренного *in vitro* тиражирования. Использование различных видов росторегулирующих веществ, особенно в повышенных концентрациях, может способствовать возникновению модификаций отдельных хозяйственно ценных признаков у сортов картофеля (смещение фаз роста и развития, изменение сроков созревания, биометрических показателей растений, морфологических характеристик клубней, продуктивности и др.). Поддержание *in vitro* коллекции в качестве исходного материала для оригинального семеноводства картофеля должно включать обязательную фенотипическую идентификацию сортовых признаков с целью подтверждения подлинности сорта [4, 5].

**Заключение.** Размещение сортообразцов в полевом питомнике в чистых фитосанитарных условиях – эффективный способ поддержания коллекции биоресурсов картофеля в здоровом состоянии. Только биоматериал, прошедший тщательную оценку по основным сортоотличительным признакам в полевой коллекции, проверенный на отсутствие вирусных и бактериальных патогенов с применением высокоточных методов диагностики, может стать основой для получения высокопродуктивных линий *in vitro*. Введение в культуру базовых клонов из БЗСК обеспечивает сохранение сортовой типичности в процессе тиражирования и ускоренного размножения *in vitro* материала для оригинального семеноводства. При тиражировании исходного материала и выращивании микрорастений для оригинального семеноводства рекомендуется проводить оценку по основным фенофазам (прорастание, интенсивный рост, замедленный рост, естественное от-

мирание). Такой способ оценки позволяет дифференцированно с учетом сортовых особенностей подходить к формированию программы клонального микроразмножения и в назначенные сроки произвести запланированный объем микрораспений для высадки на субстрат и выращивания мини-клубней.

**Библиографический список**

1. Анисимов Б.В., Овэс Е.В. Банк здоровых сортов картофеля – важнейший элемент в системе оригинального семеноводства // Картофель и овощи. 2011. № 6. С. 5–7.
2. Методические рекомендации по тиражированию in vitro материала на основе БЗСК для оригинального семеноводства картофеля / Е.В. Овэс, Б.В. Анисимов, А.И. Усков и др. М.: ВНИИХ. 2017. 25 с.
3. Современные технологии производства оздоровленных мини-клубней картофеля / Б.В. Анисимов, Е.А. Симаков, С.М. Юрлова, Е.В. Овэс, А.В. Митюшкин. Пособие для специалистов по семеноводству картофеля. ФГБНУ ВНИИХ. Чебоксары: КУП ЧР «Агро-Инновации», 2015. 23 с.
4. Современные технологии производства семенного картофеля: практическое руководство. / Б.В. Анисимов, Е.А. Симаков, С.В. Жевора, Е.В. Овэс. Чебоксары, 2018. 45 с.
5. Технологический процесс производства оригинального, элитного и репродукционного семенного картофеля. Практическое руководство. Под общей редакцией А.М. Моляко, Б.В. Анисимов / ФГБУ «Россельхозцентр», ФГБНУ ВНИИХ. М., 2017. 64 с.

**Об авторах**

**Овэс Елена Васильевна**, канд. с.-х. наук, зам. директора по научной работе, зав. отделом меристемно-тканевых технологий и БЗСК, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт картофельного хозяйства имени А.Г. Лорха» (ФГБНУ ВНИИХ). Тел. раб.: 8 (498) 645-03-03, моб.: 8 (926) 153-73-08. E-mail: e\_oves@bk.ru

**Анисимов Борис Васильевич**, канд. биол. наук, советник-заведующий отдела стандартов и сертификации, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт картофельного хозяйства имени А.Г. Лорха» (ФГБНУ ВНИИХ). Тел. раб.: 8 (498) 557-10-18, моб. 8 (905) 744-04-94. E-mail: anisimovbv@gmail.com

**Симаков Евгений Алексеевич**, доктор с.-х. наук, руководитель Селекцентра, заведующий отделом экспериментального генофонда картофеля, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт картофельного хозяйства имени А.Г. Лорха» (ФГБНУ ВНИИХ). Тел. раб.: 8 (498) 645-03-03, моб.: 8 (903) 580-06-89. E-mail: vniikh@mail.ru

**Жевора Сергей Валентинович**, канд. с.-х. наук, директор Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт картофельного хозяйства имени А.Г. Лорха» (ФГБНУ ВНИИХ). Тел. раб.: 8 (498) 645-03-03, моб.: 8 (926) 289-85-75. E-mail: zhevorserg@yandex.ru

**Гаитова Наталья Александровна**, канд. с.-х. наук, с.н.с. отдела меристемно-тканевых технологий и БЗСК, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт картофельного хозяйства имени А.Г. Лорха» (ФГБНУ ВНИИХ). Тел. раб.: 8 (498) 645-03-03, 8 (926) 857-32-33.

**Peculiarities of morphogenesis in vitro and evaluation of potato cultivars for compliance**

**E.V. Oves, PhD**, head of the department of meristem tissue culture technology. Lorch Potato Research Institute. Phone: 8 (498) 645-03-03, mob.: 8 (926) 153-73-08. E-mail: e\_oves@bk.ru

**B.V. Anisimov, PhD**, adviser – head of department of standards and certification. Lorch Potato Research Institute. Phone: 8 (498) 557-10-18, mob.: 8 (905) 744-04-94. E-mail: anisimovbv@gmail.com

**E.A. Simakov, DSc**, head of Breeding Centre of Lorch Potato Research Institute. Phone: 8 (498) 645-03-03, mob.: 8 (903) 580-06-89. E-mail: vniikh@mail.ru

**C.V. Zhevorra, PhD**, director of Lorch Potato Research Institute. Phone: 8 (498) 645-03-03, mob.: 8 (926) 289-85-75. E-mail: zhevorserg@yandex.ru

**N.A. Gaitova**, senior research fellow of the department of meristem tissue culture technology. Lorch Potato Research Institute. Phone: 8 (498) 645-03-03, mob.: 8 (926) 857-32-33.

**Summary.** The article presents the results of evaluation of potato varieties in the field collection located in the clean climatic zone and selection of plants for introduction into the culture in vitro. Recommended new methodological approaches of evaluation of microplants in phases of growth and development in vitro. It is shown that the introduction of biomaterial into the tissue culture, evaluated for varietal identity in the field, eliminates the risks of modifications and ensures the preservation of the phenotypic identity of potato varieties with the subsequent replication of the source material for basic seed production.

**Keywords:** potato, in vitro culture, microplants, propagation, morphogenesis, regeneration, varietal identity.

**Александр Васильевич Коршунов**



Исполнилось 80 лет выдающемуся ученому в области разработки экологически безопасных адаптивных технологий возделывания картофеля, доктору с.-х. наук, профессору, члену-корреспонденту РАН Александру Васильевичу Коршунову.

Александр Васильевич родился в с. Шувары Кадошкинского района Мордовской АССР, окончил Пензенский СХИ. Почти вся его дальнейшая его жизнь оказалась связана с Всероссийским научно-исследовательским институтом картофельного хозяйства имени А. Г. Лорха, где он прошел путь от аспиранта до директора.

Имя ученого хорошо известно в научных кругах, среди специалистов-аграриев, всех тех, кто занимается вопросами повышения продуктивности и качества картофеля, он опубликовал более 300 работ, подготовил целую плеяду талантливых исследователей. Благодаря колоссальной работоспособности, высокому профессионализму, воле и годам неустанного труда имя А. В. Коршунова известно не только в России, но и во всем мире.

Коллеги и друзья сердечно поздравляют юбиляра и желают ему здоровья на долгие годы, благополучия, дальнейшего личностного роста, неиссякаемого желания жить и работать! Пусть в Вашей жизни, уважаемый Александр Васильевич, будет много светлых и радостных дней, удача и успех сопутствуют во всем, а профессионализм и жизненный опыт помогают достичь новых высот!