

На правах рукописи

ГАЛУШКА ПАВЕЛ АНДРЕЕВИЧ

**СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА СПОСОБОВ ПОЛУЧЕНИЯ
ИСХОДНЫХ МИКРОРАСТЕНИЙ ПРИ ВЫРАЩИВАНИИ
ОЗДОРОВЛЕННОГО МАТЕРИАЛА КАРТОФЕЛЯ**

Специальность 06. 01. 05 - селекция и семеноводство
сельскохозяйственных растений

Автореферат

диссертации на соискание учёной степени кандидата
сельскохозяйственных наук

Москва 2012 г.

Работа выполнена в ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт картофельного хозяйства им. А.Г. Лорха Российской академии сельскохозяйственных наук в 2008 - 2010 гг.

Научный руководитель: кандидат биологических наук,
старший научный сотрудник *Усков А.И*

Официальные оппоненты: доктор биологических наук, профессор
Поляков Алексей Васильевич (ВНИИО);
доктор сельскохозяйственных наук, профессор
Мамонов Евгений Васильевич
(РГАУ – ТСХА им. К.А. Тимирязева)

Ведущее учреждение: Всероссийский НИИ растениеводства им. Н.И.
Вавилова

Защита состоится «__» _____ 2012 года в ___ часов на заседании диссертационного совета Д 006.022.01. при Всероссийском научно-исследовательском институте овощеводства Российской академии сельскохозяйственных наук по адресу: 140153, Московская область, раменский район, д.Верея, строение 500, ВНИИО.

Факс: (49646)2-43-64, E-mail: vniioh@yandex.ru Сайт: www.vniioh.ru

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Всероссийского научно-исследовательского института овощеводства Российской академии сельскохозяйственных наук.

Автореферат разослан «__» _____ 20__ г.

Учёный секретарь

диссертационного совета

Л.Н.Прянишникова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. За последние годы в практике российского картофелеводства утвердилась система воспроизводства оздоровленного исходного материала, сочетающая проведение полевых отборов базовых клонов с использованием высокоэффективных биотехнологических лабораторных методов диагностики и элиминации патогенов и клонирования микрорастений (Анисимов, Усков, Юрлова, 2007). В результате практического освоения данной системы создан новый оригинальный фонд сортов картофеля селекции ВНИИКХ и других российских и зарубежных селекционных учреждений (Анисимов, 2005).

Используемая в настоящее время схема получения исходных микрорастений предполагает проведение не менее 10 черенкований в культуре *in vitro* в течение двух календарных лет. В целях оптимизации процесса воспроизводства исходного материала во ВНИИКХ в 2005 г. были начаты исследования по совершенствованию схемы получения исходных микрорастений, сокращающей продолжительность их культивирования в условиях *in vitro*, что позволит ускорить использование полученных оздоровленных растений в производственных программах по размножению новых перспективных сортов картофеля (Усков, 2010).

Одним из лимитирующих факторов, сдерживающих процесс размножения в данном случае, является время регенерации микрорастений из эксплантов и черенков при введении базовых клонов в культуру *in vitro*. В целях сокращения продолжительности регенерации микрорастений перспективно использование биологически активных веществ, ускоряющих процессы морфогенеза. В предварительных опытах, проведенных во ВНИИКХ, использование ионов Скулачева повышало жизнеспособность меристематических эксплантов и значительно сокращало время регенерации микрорастений (Кравченко, Усков, Замятнин, 2008). В этой связи является актуальным изучение использования синтезированных в НИИ ФХБ им. А.Н.Белозерского (МГУ) специфических нанопродуктов SkQ (ионов Скулачева) при культивировании ростковых черенков картофеля в культуре *in vitro* и в полевой культуре.

Цели и задачи исследований. Цель настоящей работы - усовершенствовать процесс получения оздоровленных исходных микрорастений для оригинального семеноводства картофеля.

В задачи исследований входило:

- изучить влияние биологически активных веществ нового поколения (ионов Скулачева) на продолжительность регенерации, рост и развитие исходных микрорастений при культивировании ростковых черенков картофеля в условиях *in vitro*;
- - оценить в условиях открытого грунта рост, развитие и продуктивность микрорастений, полученных с использованием базовой двухлетней и

оптимизированной одногодичной схем воспроизводства исходного материала;

- провести сравнительную полевую оценку роста, развития и продуктивности первого и второго клубневого потомства микрорастений, полученных с использованием базовой двухлетней и оптимизированной одногодичной схем воспроизводства исходного материала;
- провести производственную проверку результатов опытов, дать их экономическую оценку.

Научная новизна. Выявлено преимущество в росте, развитии и продуктивности исходного материала, полученного с использованием оптимизированной одногодичной схемы воспроизводства по сравнению с двухлетней базовой схемой.

Впервые изучено влияние ионов Скулачева (SkQ1) на процессы морфо- и ризогенеза ростковых черенков картофеля в культуре *in vitro*.

Практическая значимость. Обоснована эффективность применения новой одногодичной схемы воспроизводства исходных микрорастений, сокращающей продолжительность культивирования растений *in vitro* до 3-4 пассажей и обеспечивающей повышение урожайности и количественного выхода стандартной семенной фракции клубней в оригинальном семеноводстве картофеля.

Определена оптимальная концентрация препарата SkQ1, стимулирующая процессы морфогенеза ростковых черенков картофеля и сокращающая время регенерации исходных микрорастений в культуре *in vitro*.

Апробация работы. Результаты работы доложены и обсуждены на IX Международной конференции «Биология клеток растений *in vitro* и биотехнология» (Звенигород, 8-12 сентября 2008 г.), Международной научно-методической конференции «Методы изучения продукционного процесса растений и фитоценозов» (Нальчик, 17-20 июня 2009 г.), Научно-практической конференции, посвященной 120-летию А.Г.Лорха (Коренево, 2009 г.), X Молодежной научной конференции «Биотехнология в растениеводстве, животноводстве и ветеринарии» (Москва, 7 апреля 2010 г.).

Публикации по материалам диссертации. Основное содержание диссертации полностью отражено в 7 опубликованных работах, в т.ч. в двух рецензируемых журналах, общим объемом 1,2 п.л. Доля авторского участия составляет более 80%.

Объем и структура диссертации: Диссертационная работа изложена на 101 странице машинописного текста, состоит из введения, семи глав, выводов, предложений производству, списка использованной литературы и приложений. В работе имеется 22 таблицы, 6 рисунков, 16 приложений. Список литературы включает 203 наименования, в том числе 31 – на иностранных языках.

УСЛОВИЯ, ОБЪЕКТЫ И МЕТОДИКА ПРОВЕДЕНИЯ ИССЛЕДОВАНИЙ.

Исследования проводили в 2008-2010 гг. во Всероссийском НИИ картофельного хозяйства (п.Коренёво, Люберецкого района Московской области). Базовые клоны для введения в культуру *in vitro* были отобраны в 2006-2009 гг. в питомниках оригинального семеноводства ООО «Агрофирма «КРиММ» Упоровского района Тюменской области (с. Жуковский ранний) и СПК «Агрофирма «Элитный картофель» Раменского района Московской области (с. Крепыш). Оздоровленные исходные микрорастения получали с использованием двух схем: базовой двухлетней (БС) и сокращенной одногодичной (СС).

Базовая схема включала следующие этапы:

- полевая оценка и отбор базовых клонов;
- хранение в течение 3 месяцев при 2-3⁰С;
- послеуборочное лабораторное тестирование клонов на патогены;
- введение базовых клонов в культуру *in vitro*;
- получение исходных микрорастений для первого черенкования;
- поддерживающее клонирование *in vitro*;
- повторная лабораторная оценка на патогены;
- 3-4 кратное черенкование *in vitro*;
- высадка микрорастений в защищенный грунт.

В соответствии с данной схемой получение оздоровленных микрорастений предполагает проведение не менее 10 черенкований в культуре *in vitro* в течение двух календарных лет. Микрорастения, полученные с использованием базовой схемы и их последующие клубневые генерации, использовали в качестве контрольного варианта.

Сокращенная схема включала следующие этапы:

- полевая оценка и покустный отбор базовых клонов с одновременной их лабораторной оценкой на патогены;
- хранение в течение 3 месяцев при 2-3⁰С;
- форсированное проращивание и введение базовых клонов в культуру *in vitro* с использованием специфических регуляторов роста;
- получение исходных микрорастений для первого черенкования;
- повторная лабораторная оценка линий микрорастений на патогены;
- 3-4 кратное черенкования *in vitro*;
- высадка микрорастений в грунт.

При использовании сокращенной схемы продолжительность культивирования микрорастений в условиях *in vitro* не превышает 4-5 месяцев, а количество черенкований – 3-4 цикла. Микрорастения, полученные с использованием одногодичной схемы, и их последующие клубневые генерации использовали в опытных вариантах.

Для исследований использовали оздоровленный материал ранних сортов картофеля селекции ВНИИКХ: Жуковский ранний и Крепыш.

Регуляторы роста, применяемые в опытах, были предоставлены разработчиками препаратов: фумар (диметиловый эфир аминифумаровой кислоты) – Институтом химической физики РАН (г. Москва), SkQ1 (соединения катионов трифенилдецилфосфония и аналогов плаستيхинона хлоропластов) - НИИ ФХБ имени А.Н.Белозерского (МГУ).

Схемы опытов:

Для изучения воздействия ионов Скулачева на рост и развитие ростковых черенков в условиях *in vitro* в 2008-2009 гг. закладывали лабораторный опыт по следующей схеме (**опыт 1**):

Варианты:

1. Контроль (без SkQ1);
2. SkQ1 - 0,25 нМ;
3. SkQ1 - 2,5 нМ.

Повторность опыта - 20 черенков на вариант. Препарат SkQ1 добавляли в питательную среду МС после автоклавирования.

Оценку роста и развития ростковых черенков проводили через 20 и 40 дней после введения в культуру *in vitro*. Определяли морфогенную и ризогенную активность черенков, высоту и облиственность микрорастений-регенерантов.

Сравнительную оценку роста, развития и продуктивности микрорастений, полученных с использованием двухлетней базовой и одногодичной сокращённой схем воспроизводства, проводили в 2008-2010 гг. в условиях открытого грунта на вегетационной площадке с использованием рассадной культуры по следующей схеме (**опыт 2**):

Варианты:

1. Микрорастения (БС) - контроль
2. Микрорастения (СС);
3. Микрорастения (СС) + фумар;
4. Микрорастения (СС) + фумар + SkQ1.

Повторность опыта четырёхкратная, по 20 растений в повторности.

Регулятор роста фумар добавляли в питательную среду перед последним черенкованием (0,1 мг/л). Опрыскивание вегетирующих растений раствором препарата SkQ1 (25 нМ) проводили в фазу бутонизации – начало цветения.

В 2009-2010 гг. для сравнительной оценки роста, развития и продуктивности первого (I) и второго (II) клубневого потомства микрорастений, полученных с использованием двухлетней базовой и одногодичной сокращённой схем воспроизводства, закладывали полевые опыты по следующим схемам (**опыт 3** и **опыт 4**):

Варианты:

1. I клубневое потомство микрорастений (БС) - контроль;
2. I клубневое потомство микрорастений (СС);

3. I клубневое потомство микрорастений (СС+фумар+SkQ1) – последствие;

4. I клубневое потомство микрорастений (СС+фумар+SkQ1) + SkQ1.

Варианты:

1. II клубневое потомство микрорастений (БС)- контроль;

2. II клубневое потомство микрорастений (СС);

3. II клубневое потомство микрорастений (СС+фумар+SkQ1+SkQ1) – последствие;

4. II клубневое потомство микрорастений (СС+фумар+SkQ1+SkQ1) + SkQ1.

Повторность опытов четырёхкратная, по 25 клубней в повторности. Препарат SkQ1 в концентрации 25 нМ использовали для предпосадочной обработки клубней и опрыскивания посадок в фазу бутонизации – начала цветения.

Полевые опыты закладывали на экспериментальной базе ВНИИКХ в п.Коренёво Люберецкого района Московской области на связнопесчаной по механическому составу почве, которая характеризовалась следующими агрохимическими показателями: pH_{KCl} – 4,7; гумус – 2,1%; P_2O_5 -41,1; K_2O – 7,1 мг/100 г. почвы.

Метеорологические условия в годы проведения опытов были различными. В 2008–2009 гг. величины сумм активных температур и выпавших осадков были близки к средним многолетним значениям. Метеорологические условия 2010 года, характеризовавшиеся аномально высокими температурами воздуха и почвы, и дефицитом влаги в июле – августе, оказали неблагоприятные воздействия на рост и развития растений картофеля и их продуктивность. В этих условиях растения не смогли реализовать свой потенциал продуктивности. Полное отмирание ботвы, независимо от варианта опыта наблюдали уже в первой декаде августа.

Учёт лёта тлей. Видовой состав векторных переносчиков во время проведения исследований включал бобовую (*Aphis fabae Scop*), крушинную (*Aphis nasturtii Kalt.*), обыкновенную картофельную (*Aulacothum solani Kalt.*) и персиковую (*Mezodes persicae*) тлю. Начало лёта тлей отмечено в начале первой декады июля. Массовый лёт тлей имел пиковый характер, принимая значения максимумов в конце второй декады июля. Наибольшее распространение среди отмеченных переносчиков имела крушинная тля, занимавшая около 40% от общей численности тлей. За весь период вегетации по данному виду было зафиксировано 35 особей на ловушку в пик массового лёта. «Критический порог» вредоносности – 50 баллов, не был достигнут за весь период наблюдений.

Фенологические наблюдения, измерения биометрических показателей и учет урожая проводили в соответствии с «Методикой исследований по культуре картофеля» (1967 г.). Степень пораженности растений вирусными болезнями в период вегетации определяли визуально в соответствии с

"Методами оценки оздоровленных сортов и меристемных линий в элитном семеноводстве картофеля" (1991 г.). Оценку скрытой зараженности материала вирусами проводили с использованием иммуноферментного анализа (сэндвич-вариант). Структуру урожая определяли в соответствии с ГОСТ 11856-89.

Производственную проверку результатов исследований проводили в 2009-2010 гг. на экспериментальной базе ВНИИКХ «Ильинское» Домодедовского района Московской области.

Для математической обработки экспериментальных данных использовали дисперсионный анализ (Доспехов, 1985).

Экономическую эффективность вариантов опытов определяли по методике ВНИИКХ (1991 г.).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

1. Изучение воздействия ионов Скулачёва на рост и развитие ростковых черенков в условиях *in vitro*

В наших исследованиях добавление в искусственную питательную среду ионов Скулачёва способствовало интенсификации процессов морфогенеза ростковых черенков в культуре *in vitro*. Причём наиболее выражено данное воздействие проявлялось в первые 2-3 недели после введения в культуру. В среднем за два года исследований общее количество ростковых черенков с признаками морфогенеза при использовании препарата SkQ1 в концентрации 2,5 нМ возрастало с 15% на контроле до 40% для сорта Жуковский ранний и с 17,5 до 27,5% для сорта Крепыш через 20 суток после введения в культуру, и с 55,0 до 67,5% для сорта Жуковский ранний и с 52,5 до 57,0% для сорта Крепыш через 40 суток после помещения черенков на искусственную питательную среду.

Следует отметить, что добавление в среду МС препарата SkQ1 в концентрации 0,25 нМ не оказывало влияния на изменение морфогенной активности ростковых черенков.

Для характеристики морфогенеза ростковых черенков в культуре *in vitro* важное практическое значение имеет интенсивность его протекания, выражаемая временем регенерации и количеством микрорастений, получаемых из исходных черенков. Через 40 суток культивирования на среде с SkQ1 (2,5 нМ) в среднем за два года исследований 59% регенерантов сорта Жуковский ранний и 43% сорта Крепыш были пригодны к первому черенкованию против соответственно 36 и 33 % в контроле (табл. 1).

В этом случае увеличение количества микрорастений, пригодных к первому черенкованию, позволило значительно повысить коэффициент размножения оздоровленных исходных растений. В среднем за два года исследований общий выход стеблевых черенков после первого черенкования микрорастений-регенерантов, при культивировании материала на питательной среде МС с добавлением препарата SkQ1 в концентрации

2,5нМ, возрастал в 2,7 раза для сорта Жуковский ранний и в 1,9 раза для сорта Крепыш. (Табл. 2.)

Таблица 1 - Количество регенерантов, пригодных к первому черенкованию через 40 суток после введения ростковых черенков в культуру *in vitro*

Вариант опыта	2008 г.		2009 г.		Среднее 2008-2009 г.г.	
	шт.	%	шт.	%	шт.	%
Жуковский ранний						
Среда МС-контроль	5/17	29	3/5	60	4,0/11,0	36
МС+SkQ1 (2,5 нМ)	8/17	47	8/10	80	8,0/13,5	59
Крепыш						
Среда МС-контроль	3/14	21	4/7	57	3,5/10,5	33
МС+SkQ1 (2,5 нМ)	8/13	62	2/10	20	5,0/11,5	43

Числитель – количество регенерантов, пригодных к первому черенкованию;
Знаменатель – общее количество регенерантов.

Таблица 2 - Выход стеблевых черенков при использовании препарата SkQ1 (после первого черенкования микрорастений – регенерантов)

Вариант опыта	Количество стеблевых черенков, шт.		
	2008 г.	2009 г.	Среднее 2008-2009 гг.
Жуковский ранний			
Среда МС-контроль	12	10	11,0
МС+SkQ1 (2,5 нМ)	25	34	29,5
Крепыш			
Среда МС-контроль	7	8	7,5
МС+SkQ1 (2,5 нМ)	18	10	14

Проведенные расчеты показали, что для обеспечения производства высаживаемых в грунт 1000 оздоровленных растений изучаемых сортов в рамках предлагаемой одногодичной схемы воспроизводства микрорастений достаточно получать при использовании ионов Скулачева 20-40 исходных ростковых черенков. В этом случае коэффициент размножения составляет 1:25–1:50, а время включения полученных оздоровленных растений в производственные программы по размножению перспективных сортов картофеля сокращается на один сезон.

2. Сравнительная оценка роста, развития и продуктивности микрорастений, полученных с использованием двухлетней базовой и одногодичной сокращённой схем воспроизводства исходного материала

Сравнительная биометрическая оценка кустов, сформированных микрорастениями при выращивании в открытом грунте, позволила выявить наличие некоторого преимущества по высоте у микрорастений, полученных с использованием сокращённой схемы воспроизводства. Наиболее выражены отмеченные особенности проявлялись в условиях 2008-2009 гг., благоприятных для возделывания культуры картофеля.

В среднем за три года исследований микрорастения сортов Жуковский ранний и Крепыш, полученные по одногодичной сокращенной схеме воспроизводства, при выращивании в условиях открытого грунта превышали по высоте микрорастения, полученные по двухлетней базовой схеме, соответственно на 22 и 43 мм, или на 5,4 и 11,4% (табл. 3).

Таблица 3 - Биометрическая оценка высоты растений

Вариант опыта	Высота растений, мм			
	2008 г.	2009 г.	2010 г.	Среднее 2008-2010 гг.
Жуковский ранний				
Микрорастения (БС)	335	419	467	407
Микрорастения (СС)	387	474	428	429
Микрорастения (СС) + фумар	365	446	470	427
Микрорастения (СС) + фумар + SkQ1	410	469	496	458
НСР ₀₉₅	12,4	7,6	8,5	-
Крепыш				
Микрорастения (БС)	340	488	300	376
Микрорастения (СС)	417	507	333	419
Микрорастения (СС) + фумар	420	484	324	409
Микрорастения (СС) + фумар + SkQ1	485	535	333	451
НСР ₀₉₅	15,3	7,0	12,0	-

Оценка продуктивности микрорастений, выявила достоверные прибавки урожая при возделывании материала, полученного с использованием сокращённой схемы воспроизводства. Прибавка урожая в этом случае была стабильна по годам исследований и в среднем за три года составила 23 % для сорта Жуковский ранний и 19% для сорта Крепыш (табл.4).

Таблица 4 - Продуктивность микрорастений, полученных с использованием базовой (БС) и сокращённой (СС) схем воспроизводства исходного материала

Вариант опыта	2008 г.		2009 г.		2010 г.		В среднем за 2008-2010 гг.	
	продук- тивность	прибавка урожаю	продук- тивность	прибавка урожаю	продук- тивность	прибавка урожаю	продук- тивность	прибавка урожаю
	г/куст		г/куст		г/куст		г/куст	%
Жуковский ранний								
Микрорастения (БС)	88	-	110	-	175	-	124	-
Микрорастения (СС)	110	22	147	37	201	26	153	23
Микрорастения (СС) + фумар	120	32	164	54	235	60	173	40
Микрорастения (СС) + фумар + SkQ1	116	28	160	50	191	16	156	26
НСР ₀₉₅	-	7,1	-	12,5	-	25,4	-	-
Крепыш								
Микрорастения (БС)	209	-	156	-	77	-	147	-
Микрорастения (СС)	251	42	182	26	92	15	175	19
Микрорастения (СС) + фумар	289	80	239	83	81	4	203	38
Микрорастения (СС) + фумар + SkQ1	275	66	218	62	89	12	194	32
НСР ₀₉₅	-	41,7	-	21,3	-	8,0	-	-

Таблица 5 - Структура урожая клубней, полученного при выращивании микрорастений в условиях открытого грунта

Вариант опыта	Количество клубней, шт./куст											
	2008 г.			2009 г.			2010 г.			В среднем за 2008-2010 гг.		
	всего	9-45 мм	>45мм	всего	9-45 мм	>45мм	всего	9-45 мм	>45мм	всего	9-45 мм	>45мм
Жуковский ранний												
Микрорастения (БС)	4,1	3,9	0,2	4,4	4,3	0,1	5,2	4,6	0,6	4,6	4,3	0,3
Микрорастения (СС)	4,0	3,7	0,3	5,1	4,9	0,2	6,4	5,8	0,6	5,2	4,8	0,4
Микрорастения (СС) + фумар	3,5	3,3	0,2	5,9	5,7	0,2	6,3	5,7	0,6	5,2	4,9	0,3
Микрорастения (СС) + фумар + SkQ1	3,5	3,3	0,2	4,5	4,3	0,2	5,6	5,3	0,3	4,5	4,3	0,2
НСР ₀₉₅	0,8	0,7	0,2	1	1,1	0,1	2,8	1,2	0,2	-	-	-
Крепыш												
Микрорастения (БС)	3,6	2,1	1,5	3,7	3,3	0,4	2,4	2,3	0,1	3,2	2,6	0,6
Микрорастения (СС)	4,0	2,6	1,4	3,3	3,1	0,2	3,7	3,6	0,1	3,7	3,1	0,6
Микрорастения (СС) + фумар	3,5	2,1	1,4	3,8	3,3	0,5	3,4	3,3	0,1	3,6	2,9	0,7
Микрорастения (СС) + фумар + SkQ1	3,6	2,1	1,5	3,0	2,7	0,3	4,0	3,6	0,4	3,5	2,8	0,7
НСР ₀₉₅	0,6	0,1	0,4	0,6	0,6	0,2	1,1	1,0	0,4	-	-	-

Использование регулятора роста фумар путём добавления в питательную среду МС (0,1 мг/л) перед последним черенкованием приводило к повышению продуктивности микрорастений, полученных с использованием сокращенной схемы воспроизводства, в 1,4 раза по сравнению с контролем. В этом случае были получены максимальные в опыте прибавки урожая – в среднем за три года на уровне 38-40 %.

При оценке структуры урожая выявлено увеличение общего количества клубней в среднем за три года исследований на 0,5-0,6 шт./куст при использовании материала, полученного по одногодичной сокращённой схеме воспроизводства. Отмеченные прибавки урожая обеспечивались, главным образом, за счет роста доли семенной фракции клубней размером 9-45 мм (табл. 5).

3. Сравнительная оценка роста, развития и продуктивности первого (I) и второго (II) клубневого потомства микрорастений, полученных с использованием двухлетней базовой и одногодичной сокращённой схем воспроизводства исходного материала

Биометрическая оценка посадок первого клубневого потомства микрорастений, полученных по сокращенной схеме воспроизводства, выявила формирование более мощной ботвы по сравнению с посадками первого клубневого потомства микрорастений, полученных по базовой схеме воспроизводства. Общая площадь листовой поверхности в данном случае в среднем за два года была выше на 15,4% для сорта Жуковский ранний и на 43,8 % для сорта Крепыш. При этом обработки посадок раствором препарата SkQ1 (25 нМ), способствовали дальнейшему увеличению площади листьев изучаемых сортов до 53,8-56,3 % (табл. 6).

Формирование более мощной ботвы на посадках опытных вариантов обеспечивало получение прибавки урожая первого клубневого потомства микрорастений лишь в благоприятных для возделывания картофеля условиях 2009 г. В этом году была получена прибавка урожая для сорта Жуковский ранний на уровне 2,9 т/га или 10% по отношению к урожаю полученному при оценке материала, произведенного с использованием базовой схемы воспроизводства исходных микрорастений. Одновременно, прибавка урожая по сорту Крепыш в данном случае не превышала величины ошибки опыта (табл. 7).

В условиях аномально высоких температур воздуха и почвы, а также засухи 2010 г. полное отмирание ботвы, независимо от варианта опыта наблюдали уже в первой декаде августа. В этом случае степень развития ботвы не оказывала воздействия на накопление урожая, который во всех вариантах опыта был на уровне 7-8 т/га.

При обработке клубней и растений препаратом SkQ1 (25 нМ) были получены прибавки урожая на уровне 8,1 т/га для сорта Жуковский ранний и 4,1 т/га для сорта Крепыш, что составляло соответственно 28,0 и 12,7% относительно урожая на контрольном варианте.

Таблица 6 - Биометрическая оценка посадок первого клубневого потомства микрорастений

Вариант опыта	Высота растений, мм			Количество стеблей, шт./куст			Площадь листьев, м ² /куст		
	2009 г.	2010 г.	среднее 2009-2010 гг.	2009 г.	2010 г.	среднее 2009-2010 гг.	2009 г.	2010 г.	среднее 2009-2010 гг.
Жуковский ранний									
1	504	415	459	3,0	3,2	3,1	1,3	1,2	1,3
2	475	438	456	3,7	3,9	3,8	1,6	1,4	1,5
3	483	409	446	3,4	3,1	3,3	1,6	1,5	1,5
4	513	418	465	3,6	3,3	3,5	2,5	1,5	2,0
НСР ₀₉₅	8,3	4,4	-	1,5	0,9	-	-	-	-
Крепыш									
1	523	439	481	3,6	3,5	3,6	1,5	1,7	1,6
2	473	468	471	3,2	3,2	3,2	2,0	2,6	2,3
3	552	461	506	3,5	3,8	3,7	2,0	2,0	2,0
4	515	452	483	3,9	3,2	3,6	2,6	2,5	2,5
НСР ₀₉₅	7,9	4,3	-	1,3	1,2	-	-	-	-

Таблица 7 - Урожайность первого клубневого потомства микрорастений

Вариант опыта	2009 г.				2010 г.			
	масса клубней г/куст	урожай т/га	прибавка урожая		масса клубней г/куст	урожай т/га	прибавка урожая	
			т/га	%			т/га	%
Жуковский ранний								
1	610	29,0	-	-	174	8,2	-	-
2	671	31,9	2,9	10	145	6,9	-1,3	-15,8
3	635	30,2	1,2	4,1	168	7,9	-0,3	-3,6
4	781	37,1	8,1	28	180	8,6	0,4	4,8
НСР ₀₉₅	63,9	3,1	-	-	84,7	2,5	-	-
Крепыш								
1	676	32,1	-	-	165	7,8	-	-
2	681	32,4	0,3	0,9	153	7,2	-0,6	-7,6
3	713	33,9	1,8	5,6	150	7,1	-0,7	-8,9
4	761	36,2	4,1	12,7	142	6,7	-1,1	-14,1
НСР ₀₉₅	40,9	2,5	-	-	48,2	2,2	-	-

- 1 – I клубневое потомство микрорастений (БС) – контроль;
 2 – I клубневое потомство микрорастений (СС);
 3 – I клубневое потомство микрорастений (СС+фумар+SkQ1) – последствие;
 4 – I клубневое потомство микрорастений (СС+фумар+SkQ1) + SkQ1.

В наших исследованиях выявлено увеличение высоты растений и площади листовой поверхности при выращивании второго клубневого потомства микрорастений сорта Жуковский ранний, полученных по сокращенной схеме воспроизводства, по сравнению с контрольным вариантом. В этом случае увеличение высоты растений и общей площади листьев составляло соответственно 39 мм и 0,4 м²/куст, или 8,6 и 25,0%. В то же время на посадках сорта Крепыш увеличение высоты растений и площади листьев для данных вариантов составляло не более 2-3% (табл. 8).

Обработка материала, полученного по сокращенной схеме воспроизводства, препаратом SkQ1 (25 нМ) увеличивала площадь листовой поверхности относительно контрольного варианта на посадках сорта Жуковский ранний до 37,5%, а на посадках сорта Крепыш – до 50,0%.

Таблица 8 - Биометрическая оценка посадок второго клубневого потомства микрорастений

Вариант опыта	Высота растений, мм	Количество стеблей, шт./куст	Площадь листьев, м ² /куст
Жуковский ранний			
1	456	5,6	1,6
2	495	6,2	2,0
3	473	5,6	1,2
4	478	5,4	2,2
НСР ₀₉₅	4,6	1,2	-
Крепыш			
1	504	5,7	3,0
2	517	5,7	3,1
3	491	5,6	1,2
4	523	5,8	4,5
НСР ₀₉₅	4,5	1,1	-

- 1 – II клубневое потомство микрорастений (БС) – контроль;
 2 – II клубневое потомство микрорастений (СС);
 3– II клубневое потомство микрорастений (СС+фумар+SkQ1+SkQ1) – последствие;
 4 – II клубневое потомство микрорастений (СС+фумар+SkQ1+SkQ1) + SkQ1.

Отмеченные преимущества в росте и развитии ботвы при выращивании второго клубневого потомства микрорастений, полученных по одногодичной сокращенной схеме воспроизводства, в условиях вегетационного периода 2010 года не смогли трансформироваться в прибавки урожая как по массе, так и по количеству клубней. Для обоих изучаемых сортов наблюдаемые отклонения величин урожайности между вариантами опыта в данном случае, как правило, находились в пределах наименьшей средней ошибки.

4. Производственная проверка

В результате производственной проверки, проведенной в 2009 г. на экспериментальной базе ВНИИКХ «Ильинское» Домодедовского района Московской области, была получена прибавка урожая первого клубневого потомства микрорастений сорта Жуковский ранний (СС) в размере 1,5 т/га, что составляло 7,6% по отношению к контролю.

5. Экономическая эффективность результатов исследований

При выращивании материала, полученного с использованием одногодичной схемы воспроизводства микрорастений (СС) условно чистый доход составлял 102181 руб/га для сорта Жуковский ранний и 10570 руб/га для сорта Крепыш. При этом окупаемость дополнительных затрат была на уровне 132 руб. на 1 руб. дополнительных вложений.

При ежегодных обработках материала (СС) регуляторами роста (фумар и SkQ1) условно чистый доход возрастал до 282403 руб/га для сорта Жуковский ранний и до 141463 руб/га для сорта Крепыш. Окупаемость дополнительных затрат в этом случае составляла 54,9 руб на 1 руб затрат для сорта Жуковский ранний и 34,6 руб на 1 руб затрат для сорта Крепыш.

ВЫВОДЫ

1. Использование ионов Скулачева в культуре *in vitro* стимулировало процессы морфо- и ризогенеза ростковых черенков и сокращало время регенерации исходных микрорастений. После первого черенкования регенерантов, проведенного через 40 суток культивирования ростковых черенков на среде МС с добавлением препарата SkQ1 в концентрации 2,5 нМ, наблюдали увеличение коэффициента их размножения в зависимости от сорта в 1,9-2,7 раза.

2. При выращивании в условиях открытого грунта микрорастения, полученные с использованием одногодичной сокращённой схемы воспроизводства, превосходили по развитию ботвы и продуктивности микрорастения картофеля, полученные с использованием двухлетней базовой схемы. В среднем за три года превышения в зависимости от сорта составляли 22-43 мм по высоте растений и 19-23% по урожайности. При этом прибавка урожая обеспечивалась за счет увеличения общего количества клубней и доли стандартной семенной фракции размером 9-45 мм.

3. Использование регулятора роста фумар путём добавления в питательную среду МС (0,1 мг/л) перед последним черенкованием способствовало увеличению прибавки урожая микрорастений, полученных по сокращенной схеме воспроизводства, до 38-40% по сравнению с контролем.

4. Полевая оценка первого клубневого потомства микрорастений выявила формирование более развитой ботвы при испытании материала, полученного с использованием сокращенной одногодичной схемы

воспроизводства. В среднем за два года увеличение площади листовой поверхности по сравнению с материалом, полученным по базовой схеме, достигало 15,4% для сорта Жуковский ранний и 43,8% для сорта Крепыш. В результате в благоприятном для культуры картофеля 2009г. прибавка урожая клубней сорта Жуковский ранний составила 10% или 2,9 т/га.

5. Предпосадочная обработка клубней первого клубневого поколения микрорастений и опрыскивание посадок в фазу бутонизации – начало цветения препаратом SkQ1 в концентрации 25 нМ приводили к увеличению площади листьев до 53,8-56,3 % и прибавок урожая до 8,1 т/га или 28,0% для сорта Жуковский ранний и 4,1 т/га или 12,7% для сорта Крепыш.

6. Полевая оценка второго клубневого потомства микрорастений выявила увеличение на 25% площади листовой поверхности на посадках сорта Жуковский ранний при выращивании материала, полученного с использованием сокращенной схемы воспроизводства. Обработка данного материала препаратом SkQ1 (25 нМ) приводила к увеличению площади листьев на посадках сорта Жуковский ранний до 37,5% и на посадках сорта Крепыш – до 50% относительно контроля.

7. В результате производственной проверки, проведенной в 2009 г. на экспериментальной базе ВНИИКХ «Ильинское» Домодедовского района Московской области, была получена прибавка урожая первого клубневого потомства микрорастений сорта Жуковский ранний (СС) в размере 1,5 т/га, что составляло 7,6% по отношению к контролю.

8. При выращивании материала, полученного с использованием сокращенной схемы воспроизводства микрорастений условно чистый доход составлял 102181 руб/га для сорта Жуковский ранний и 10570 руб/га для сорта Крепыш. При этом окупаемость дополнительных затрат была на уровне 132 руб. на 1 руб. вложений. При обработках материала регуляторами роста (фумар и SkQ1) условно чистый доход возрастал до 282403 руб/га для сорта Жуковский ранний и до 141463 руб/га для сорта Крепыш при окупаемости дополнительных затрат соответственно 54,9 и 34,6 руб. на 1 руб. дополнительных затрат.

ПРЕДЛОЖЕНИЯ ПРОИЗВОДСТВУ

1. В целях ускоренного размножения новых перспективных сортов картофеля оригинаторам сортов рекомендуется применять сокращённую одногодичную схему воспроизводства микрорастений, обеспечивающую их использование в производственных программах следующего сезона при не более чем 3-4 циклах черенкования *in vitro*.

2. Для интенсификации процессов морфогенеза и сокращения времени регенерации микрорастений при культивировании ростковых черенков картофеля в культуре *in vitro* рекомендуется добавлять в искусственную питательную среду Мурасиге-Скуга препарат SkQ1 в концентрации 2,5 нМ.

3. При полевом размножении исходного материала в рамках оригинального семеноводства картофеля для стимулирования роста, развития и продуктивности растений рекомендуется проводить предпосадочную обработку клубней и опрыскивание посадок в фазу бутонизации – начало цветения препаратом SkQ1 в концентрации 25 нМ.

По материалам диссертации опубликованы следующие работы:

1. Усков А.И., Кравченко Д.В., Галушка П.А. Влияние препарата SkQ1 на рост и развитие ростковых эксплантов картофеля в условиях *in vitro*.//Тезисы IX Международной конференции «Биология клеток растений *in vitro* и биотехнология», Звенигород, 2008. С.420-421.

2. Галушка П.А., Усков А.И., Кравченко Д.В. Продуктивность и качество оригинального семенного материала картофеля в зависимости от схемы получения исходных растений//Материалы координационного совещания и научно-практической конференции, посвящённой 120-летию со дня рождения А.Г. Лорха / Рос. акад. с.х. наук. ВНИИКХ. – М., 2009. – С.253-256.

3. Усков А.И., Кравченко Д.В., Галушка П.А. Возможности применения ионов Скулачёва для регуляции продуктивности картофеля // Материалы Международной научно-методической конференции «Методы изучения продукционного процесса растений и фитоцинозов» 17-20 июня 2009 г. – Нальчик, 2009. – С.106-109.

4. Галушка П.А. Изучение влияния препарата SkQ1 на время регенерации эксплантов, рост и развитие растений в условиях *in vitro* // X Молодёжная научная конференция «Биотехнология в растениеводстве, животноводстве и ветеринарии» 7 апреля 2010 г. Тезисы докл. - М., 2010. – С.17-19.

5. Усков А.И., Кравченко Д.В., Галушка П.А., Анисимов Б.В., Замятин А.А. мл., Скулачёв М.В. Совершенствование схемы воспроизводства оздоровленного исходного материала для оригинального семеноводства картофеля // Материалы научно-практической конференции «Современные тенденции и перспективы инновационного развития картофелеводства» 17-19 февраля 2011 г. – Чебоксары, 2011. – С.55-59.

6. Галушка П.А., Усков А.И., Кравченко Д.В. Изменение роста и развития ростковых черенков картофеля в условиях *in vitro* при использовании препарата SkQ1 // Достижения науки и техники АПК. – 2011. -№ 4. – С.40-41.

7. Галушка П.А., Усков А.И., Кравченко Д.В. Совершенствуем схему воспроизводства исходных микрорастений при выращивании оздоровленного картофеля // Картофель и овощи. - 2011. - №7. - С.29-30.