

ЛЮБОВЬ ПАВЛОВНА ЕВСТРАТОВА

доктор сельскохозяйственных наук, профессор, врио директора, Карельская государственная сельскохозяйственная опытная станция (Петрозаводск, Российская Федерация)
levstratova@yandex.ru

ЛАРИСА АНАТОЛЬЕВНА КУЗНЕЦОВА

кандидат сельскохозяйственных наук, доцент кафедры зоотехнии, рыбоводства, агрономии и землеустройства Института биологии, экологии и агротехнологий, Петрозаводский государственный университет; заведующий отделом семеноводства картофеля, Карельская государственная сельскохозяйственная опытная станция (Петрозаводск, Российская Федерация)
lar814@yandex.ru

ЕЛЕНА ВАЛЕНТИНОВНА НИКОЛАЕВА

кандидат сельскохозяйственных наук, доцент кафедры зоотехнии, рыбоводства, агрономии и землеустройства Института биологии, экологии и агротехнологий, Петрозаводский государственный университет (Петрозаводск, Российская Федерация)
ln21@mail.ru

ИВАН ВАЛЕРЬЕВИЧ ЕВСТРАТОВ

агроном, Карельская государственная сельскохозяйственная опытная станция (Петрозаводск, Российская Федерация)
ivevstratov@ya.ru

СОЧЕТАНИЕ МЕТОДОВ АПИКАЛЬНОЙ МЕРИСТЕМЫ И КЛОНОВОГО ОТБОРА В ОРИГИНАЛЬНОМ СЕМЕНОВОДСТВЕ *SOLANUM TUBEROSUM* L.

Представлены результаты эффективности сочетания двух основных методов освобождения растений от инфекций в оригинальном семеноводстве картофеля для получения высококачественного посадочного материала в условиях Республики Карелия. В защищенном грунте на основе визуальной оценки миниклубней (полученных от оздоровленных методом апикальной меристемы растений) по показателям их числа и размера проведен клоновый отбор наиболее продуктивных потомств сортов Ладожский и Чародей. Корректность проведения этого отбора подтверждена с использованием кластерного, факторного и пошагового дискриминантного анализов. В открытом грунте при получении первого полевого поколения оценивали продуктивность выделенных клонов и вегетативных потомств без отбора. При этом у отобранных клонов сорта Ладожский продуктивность увеличилась на 33, а сорта Чародей – на 26 %. Таким образом, с помощью математических методов можно повысить результативность отбора лучших клонов на этапе получения миниклубней.

Ключевые слова: картофель, апикальная меристема, клоновый отбор, вегетативное потомство, миниклубни

ВВЕДЕНИЕ

Картофель (*S. tuberosum*) – одна из основных полевых культур, используемых в продовольственных, технических и кормовых целях. Эффективность его выращивания зависит в первую очередь от реализации потенциальных возможностей того или иного сорта, которые поддерживаются в процессе семеноводства культуры. Переход на безвирусное семеноводство обеспечивает повышение урожая картофеля на 20 % и более [1], [7]. Однако при массовом размножении высококачественного посадочного материала с каждым последующим поколением происходят снижение продуктивности и ухудшение других хозяйственно ценных признаков и свойств сорта из-за накопления вирусов и других инфекций [2]. Наиболее распространенными методами освобождения картофельных растений от инфекций являются метод апикальной меристемы

и клоновый отбор. Каждый из них имеет свои преимущества и недостатки. Первый, широко используемый в оригинальном семеноводстве картофеля, обеспечивает быстрое получение качественного семенного материала. Вместе с тем в культуре тканей возможно изменение сортовых признаков, связанных с накоплением спонтанных соматических мутаций [10]. При последующем вегетативном размножении наблюдаются отклонения от исходного сорта по морфобиологическим признакам и свойствам, теряется сортовая оригинальность [1]. У ряда сортов вирусы являются частью генома растения, и по этой причине их нельзя удалить из живой клетки [6]. Когда возникают проблемы с получением безвирусного материала на основе апикальной меристемы, используют клоновый отбор, позволяющий выделить фенотипически «здоровые» растения [9]. При этом в полевых условиях выбраковывают

растения с симптомами поражения вредоносными штаммами вирусов, а также их комбинациями и отбирают растения, толерантные к слабопатогенным штаммам, действующим по принципу «перекрестной защиты» [8]. Наряду с этим визуальный клоновый отбор характеризуется высокой трудоемкостью. Эффективность его использования можно повысить путем предварительного освобождения растений от инфекций методом апикальной меристемы [5].

Цель настоящей работы – изучить результативность проведения клонового отбора на этапе получения миниклубней из меристемного оздоровленного материала картофеля в условиях Республики Карелия.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводили в Южной агроклиматической зоне Карелии на протяжении трех вегетационных сезонов, отличающихся неоднородностью метеорологических показателей. Особенностью первого сезона явились повышенные среднемесячные температуры воздуха и дефицит осадков в период клубнеобразования *S. tuberosum*. Во второй год теплообеспеченность на уровне среднемноголетних данных сочеталась с избыточным увлажнением растений в июле и, наоборот, недостаточным – в июне и августе. Третий сезон характеризовался пониженной теплообеспеченностью в июле и августе на фоне избыточного количества осадков в течение всего летнего периода. В целом вариабельность метеорологических показателей явилась одной из причин колебания продуктивности растений картофеля.

Почва участка, на котором закладывали опыт, дерново-подзолистая, хорошо окультуренная, на песчаных древнеаллювиальных отложениях. По гранулометрическому составу – легкосуглинистая. По данным агрохимического анализа содержание в почве гумуса (5,7 %) и подвижных форм фосфора (23,4 мг/100 г почвы) – высокое, калия (18,0 мг/100 г почвы) – среднее, кислотность почвенного раствора (рН 5,4) – слабокислая. Таким образом, эдафические условия соответствовали биологическим требованиям культуры.

В опыте использовали сорта картофеля – среднеранний Чародей и среднеспелый Ладожский. Согласно методике исследований ВНИИКС¹, в лабораторных условиях размножали свободные от инфекций пробирочные растения, которые в дальнейшем выращивали в защищенном грунте для получения миниклубней. Семенной материал разделяли по фракциям: крупная (более 60 мм), средняя (в соответствии с ГОСТ 33996-2016² стандартный размер – по наибольшему поперечному диаметру 9...60 мм), мелкая (менее 9 мм). Основанием для отбора лучших клонов явилось максимальное число миниклубней стандартного размера, приходящееся на одно растение.

Выделенные вегетативные потомства на следующий год выращивали в полевых условиях. Опыт был заложен в 4-кратной повторности, в качестве контроля использовали миниклубни вышеуказанных сортов без отбора.

Корректность отбора потомств по результатам визуальной оценки миниклубней устанавливали с привлечением методов многомерного статистического анализа³: факторного (метод главных компонент), кластерного (метод Варде, Евклидово расстояние) и пошагового дискриминантного (метод включения) [4]. Статистическую обработку экспериментальных данных, построение таблиц и графиков проводили на персональном компьютере с использованием программного пакета Excel и компьютерной программы StatGraphics Centurion XV.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В защищенном грунте, несмотря на один и тот же генотип сорта, выявлено варьирование продуктивности свободных от инфекций пробирочных растений (табл. 1). Так, у семи отобранных (из 56 изученных) клонов сорта Ладожский общее число миниклубней на одно растение соответствовало 4...8 шт., а у десяти клонов (из 106) сорта Чародей – 5...17 шт. Выделенные клоны картофеля в основном имели миниклубни крупной и средней фракций.

Таблица 1
Распределение миниклубней отобранных клонов по фракциям (шт.)

№ клона	Крупные	Средние	Мелкие	Всего
Сорт Ладожский				
13	4	2	0	6
14	0	4	0	4
18	2	5	0	7
25	2	3	2	7
27	4	4	0	8
38	6	2	0	8
56	2	3	0	5
Сорт Чародей				
16	0	6	1	7
22	0	7	0	7
35	9	5	3	17
44	3	5	0	8
47	2	4	0	6
49	5	7	0	12
58	2	4	0	6
69	4	2	0	6
71	4	5	3	12
72	4	1	0	5

Одной из причин неодинаковой продуктивности свободных от инфекций линий могут быть фитогормоны (ауксины, цитокинины и гиббереллины), которые регулируют многие процессы жизнедеятельности растений: прорастание семян, рост, дифференциацию тканей и органов, цветение, созревание плодов и т. п. Так, ауксинами богаче всего верхушечные меристемы стебля, гиббереллинами и флоригеном – листья, цитокининами – корни и созревающие семена. Образуясь в одном органе (или его части) растения, фитогормоны обычно транспортируются в другой (или его часть) [3].

При классификации (с использованием кластерного анализа) вегетативных потомств сорта Ладожский были выделены три группы клонов (рис. 1), корректность распределения которых на 92 % подержана дискриминантным анализом. Основными дискриминаторами, достоверно разделяющими клоны на группы, явились показатели числа миниклубней средней и крупной фракций. Для первой группы свойственно наибольшее число миниклубней средней фракции, второй – средней и мелкой, третьей – средней и крупной фракций. При визуальной оценке для последующего размножения картофеля были отобраны лучшие потомства из трех групп.

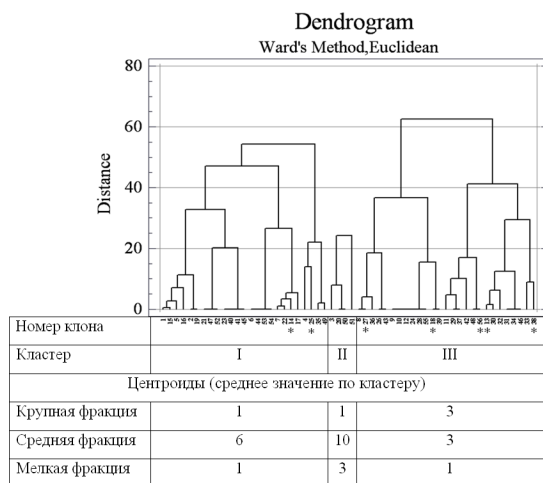


Рис. 1. Группировка клонов сорта Ладожский по числу миниклубней. * – потомства, отобранные в результате клонового отбора

Путем сопоставления данных математической классификации с результатами клонового отбора выявлено их несовпадение. Согласно статистическому анализу, предпочтительнее осуществлять отбор из I и II групп клонов.

С привлечением факторного анализа установлена структура взаимосвязей между переменными: $F_1 = -0,90 K + 0,86 C + 0,29 M$, где K, C, M – число клубней крупной, средней, мелкой фракций соответственно. По нагрузкам на переменные можно сделать следующее предположение: с формированием большего числа миниклубней крупной фракции уменьшается доля таковых средней и мелкой фракций. Между образованием средних и мелких по размеру миниклубней выявлена положительная связь.

Группировка вегетативных потомств сорта Чародей, представленная на рис. 2, выявила наличие двух групп клонов. Корректность выделения этих групп поддержана на 93 % дискриминантным анализом. Были выделены три дискриминатора – число миниклубней крупной, мелкой и средней фракций. К первой группе отнесены клоны с наибольшим числом миниклубней средней и крупной фракций, а ко второй – в основном средней фракции.

Для целей оригинального семеноводства представляет интерес отбор миниклубней стандартного размера из второй группы клонов, однако при визуальной оценке были отобраны отдельные клоны из каждой группы.

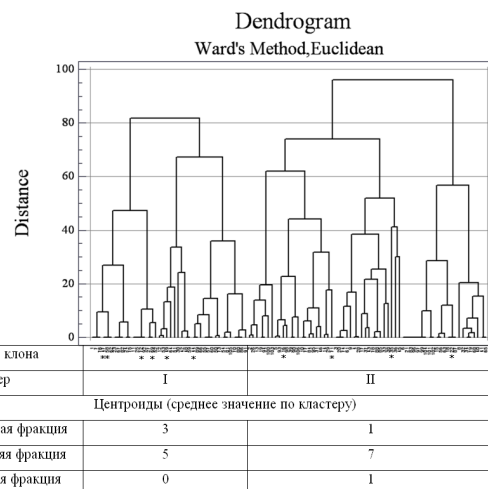


Рис. 2. Группировка клонов сорта Чародей по числу миниклубней. * – потомства, отобранные в результате клонового отбора

С привлечением факторного анализа установлена структура взаимосвязей между переменными: $F_1 = -0,75 K + 0,65 C + 0,52 M$, где K, C, M – число клубней крупной, средней, мелкой фракций соответственно. По нагрузкам на переменные выявлена аналогичная, но более тесная связь между переменными.

В полевых условиях сравнительный анализ продуктивности картофеля (табл. 2) показал, что однократный клоновый отбор обеспечил увеличение продуктивности свободных от инфекций растений, полученных из миниклубней: у сорта Ладожский – на 33 %, у сорта Чародей – на 26 %.

В целом результаты клонового отбора на основе визуальной оценки миниклубней частично соответствуют данным выделения более продуктивных клонов с привлечением методов многомерного статистического анализа: у сорта Ладожский – на 50 %, у сорта Чародей – на 72 %.

Таблица 2

Продуктивность растений из миниклубней в полевых условиях, шт. (г) / растение

Название сорта	Отобранные клоны		Клоны без отбора	
	число, шт.	масса, г	число, шт.	масса, г
Ладожский	9	526	6	352
Чародей	12	767	10	564

ВЫВОДЫ

Установлено, что при вегетативном размножении свободных от инфекций растений картофеля число (масса) сформировавшихся миниклубней на растение сильно варьирует. Клоновый отбор лучших потомств с максимальным числом миниклубней стандартного размера повышает эффективность оригинального семеноводства картофеля: в первом полевом поколении продуктивность свободных от инфекций растений увеличивается до 30 % и более. Для повышения результативности отбора целесообразно привлекать методы статистического анализа, позволяющие достоверно выделять лучшие клоны.

ПРИМЕЧАНИЯ

- ¹ Биотехнологические методы получения и оценки оздоровленного картофеля. М.: Агропромиздат, 1988. 34 с.
- ² ГОСТ 33996-2016 Картофель семенной. Технические условия и методы определения качества. М.: Стандартинформ, 2017.
- ³ Факторный анализ (подход с использованием ЭВМ): Методическое пособие / Сост. В. Н. Харин. Петрозаводск: КарНЦ РАН, 1992. 190 с.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Агур М. О. О повторной вирусной инфекции семенного картофеля, оздоровленного методом апикальной меристемы // Селекция и семеноводство. 1992. № 4–5. С. 59–64.
2. Анисимов Б. В., Усков А. И., Юрлова С. М., Варицев Ю. А. Семеноводство картофеля в России: состояние, проблемы и перспективные направления // Картофелеводство России: актуальные проблемы науки и практики. М.: ФГНУ «Росинформагротех», 2007. С. 41–50.
3. Третьяков Н. Н., Овчинникова В. Н., Лузина Т. И., Сувд Ч. Влияние электростатических полей на регенерационные процессы и гормональную систему картофеля в условиях *in vitro* // Известия ТСХА. 2006. № 2 [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://cyberleninka.ru/article/n/vliyanie-elektrostaticheskikh-poley-na-regeneratsionnye-protsessy-i-gormonalnuyu-sistemu-kartofelya-v-usloviyah-in-vitro> (дата обращения 15.10.2017).
4. Ким Дж.-О., Мьюллер Ч. У., Клекка У. Р., Оледендерфер М. С., Блэшфилд Р. К. Факторный, дискриминантный и кластерный анализ. М.: Финансы и статистика, 1989. 215 с.
5. Тарануха Г. И. Селекция и семеноводство сельскохозяйственных культур [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://agrosbornik.ru/selekcija-i-semenovodstvo/65-2012-06-01-15-45-52/922-2012-06-02-17-21-08.html> (дата обращения 01.06.2018).
6. Нурмисте Б. Х. Метод меристемотканевой культуры в семеноводстве картофеля с точки зрения наследственной вирусной инфекции // Современные проблемы семеноводства картофеля на безвирусной основе / Тр. ДВНЦ АН СССР. Владивосток, 1985. С. 18–23.
7. Гнутова Р. В., Можаяева К. А. Вирусные и виroidные болезни картофеля на Дальнем Востоке и методы их диагностики в семеноводстве // Известия ТСХА. 2010. № 2. С. 35–43.
8. Трускинов Э. В. Стратегия и тактика борьбы с вирусными болезнями растений на примере картофеля // Живые и биокосные системы. 2014. № 9 [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://www.jbks.ru/archive/issue-9/article-4> (дата обращения 01.06.2018).
9. Ханс Росс. Селекция картофеля. Проблемы и перспективы / Пер. с англ. В. А. Лебедева. М.: Агропромиздат, 1989. 142 с.
10. Шмыгля В. А. и др. Оздоровленный картофель: а безвирусный ли он? // Картофель и овощи. 1991. № 6. С. 41–42.

Evstratova L. P., Karelian State Agricultural Experimental Station (Petrozavodsk, Russian Federation)

Kuznetsova L. A., Petrozavodsk State University, Karelian State Agricultural Experimental Station (Petrozavodsk, Russian Federation)

Nikolaeva E. V., Petrozavodsk State University (Petrozavodsk, Russian Federation)

Evstratov I. V., Karelian State Agricultural Experimental Station (Petrozavodsk, Russian Federation)

COMBINATION OF APICAL MERISTEM AND CLONAL SELECTION IN ORIGINAL POTATO SEED PRODUCTION

The paper presents the results of studying two main methods of healing plants from infections during original potato seed production for obtaining high-quality planting material in the Republic of Karelia. Clonal selection of the most productive generations of the Ladojsky and Charodey potato varieties was conducted in protected ground on the basis of the visual assessment of mini-tubers (obtained from apical meristem-improved plants) in terms of their number and size. The correctness of this selection was confirmed by using specific methods of multivariate statistical analysis. While obtaining the first field generation in open ground the productivity of selected clones and vegetative generation was evaluated without selection. The productivity of the Ladojsky and Charodey variety selected clones increased by 33 % and 26 %, respectively. Thus, with the help of mathematical methods it is possible to increase the efficiency of the best clones selection at the stage of obtaining mini-tubers.

Key words: potato, apical meristem, clonal selection, vegetative reproduction, mini-tubers

REFERENCES

1. Agur M. O. Recurrent viral infections of potato plants treated by the apical meristem method. *Seleksiya i semenovodstvo*. 1992. No 4–5. P. 59–64. (In Russ.)
2. Anisimov B. V., Uskov A. I., Yurlova S. M., Varitsev Y. A. Potato seed production in Russia: current state, problems, and future directions. *Kartofelevodstvo Rossii: aktual'nye problemy nauki i praktiki*. Moscow, 2007. P. 41–50. (In Russ.)
3. Tretyakov N. N., Ovchinnikov V. N., Luzina T. I., Suvd Ch. In vitro impact of electrostatic fields on regenerative processes and potato hormonal system. *Proceedings of Moscow Timiryazev Agricultural Academy*. 2006. No 2. Available at: <https://cyberleninka.ru/article/n/vliyanie-elektrostaticheskikh-poley-na-regeneratsionnye-protsessy-i-gormonalnuyu-sistemu-kartofelya-v-usloviyah-in-vitro> (accessed 15.10.2017). (In Russ.)
4. Kim Dzh.-O., M'juller Ch. U., Klekka U. R., Oledenderfer M. S., Bljeshfild R. K. Factor, discriminant, and cluster analysis. Moscow, 1989. 215 p. (In Russ.)
5. Taranukho G. I. Selection and seed-growing of agricultural crops. Available at: <http://agrosbornik.ru/selekcija-i-semenovodstvo/65-2012-06-01-15-45-52/922-2012-06-02-17-21-08.html> (accessed 01.06.2018). (In Russ.)
6. Nurmiste B. H. Meristematic culture method in potato seed production and hereditary viral infections. *Sovremennye problemy semenovodstva kartofelya na bezvirusnoy osnove. Proceedings of the Far East Branch of the Russian Academy of Sciences*. Vladivostok, 1985. P. 18–23. (In Russ.)
7. Gnutova R. V., Mozhaeva K. A. Viral and viroid diseases of potatoes in the Far East and methods of their diagnostics in seed production. *Proceedings of Moscow Timiryazev Agricultural Academy*. 2010. No 2. P. 35–43. (In Russ.)
8. Truskinov E. V. Strategy and tactics of combating viral diseases of plants: the case of potatoes. *Zhyvye i biokosnyye sistemy*. 2014. № 9. Available at: <http://www.jbks.ru/archive/issue-9/article-4> (accessed 01.06.2018). (In Russ.)
9. Ross H. Breeding potatoes. Problems and prospects. Moscow, 1989. 142 p. (In Russ.)
10. Shmyglya V. A., Kinyakin N. F., Postnikov D. A., Nikolayeva O. I., Salsedo-Kardeas L. V. Improved potato varieties: are they virus-free? *Kartofel' i ovoshchi*. 1991. No 6. P. 41–42. (In Russ.)

Поступила в редакцию 01.10.2018