

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГИББЕРЕЛЛИНОВОЙ КИСЛОТЫ ПРИ МИКРОКЛОНАЛЬНОМ РАЗМНОЖЕНИИ  
КАРТОФЕЛЯ (*SOLANUM TUBEROSUM L.*) В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO*

Научная статья

Булдаков С.А.<sup>1,\*</sup>, Ким К.Е.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ORCID : 0000-0003-1566-1402;

<sup>2</sup> ORCID : 0009-0008-8474-458X;

<sup>1,2</sup> Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова, Южно-Сахалинск, Российская Федерация

\* Корреспондирующий автор (sarsarsar88[at]mail.ru)

**Аннотация**

Исследовано влияние регулятора роста Гибберелон (состоящий из гиббереллиновой кислоты в концентрации 40 г/кг) при добавлении в питательную среду Мурасиге-Скуга для микроклонального размножения картофеля в культуре *in vitro*. Были изучены дозы препарата Гибберелон в диапазоне от 0,05 до 0,40 г/л. Опыт заложен на среднеранних сортах картофеля Зекура и Ред Скарлетт. Установлено достоверное увеличение высоты растений от 28,8 до 61,5%, количества междоузлий от 11,6 до 17,0% на 21 день. Препарат усиливал ризогенез микрорастений – возросла как длина корней до 31,8%, так и их количество до 35,4%. Получены модифицированные питательные среды на основе Мурасиге-Скуга. При добавлении Гибберелона в количестве 0,1 г на литр (или 4 мг/л гиббереллиновой кислоты) увеличивается коэффициент размножения до 17%. В случае использования Гибберелона 0,2 г/л на литр питательной среды (или 8 мг/л гиббереллиновой кислоты) возможно сократить время между циклами пассажей до 19%.

**Ключевые слова:** картофель, *in vitro*, микрорастения, регулятор роста, Гибберелон.

THE USE OF GIBBERELIC ACID IN THE MICROCLONAL REPRODUCTION OF POTATOES (*SOLANUM TUBEROSUM L.*) IN VITRO CULTURE

Research article

Buldakov S.A.<sup>1,\*</sup>, Kim K.Y.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ORCID : 0000-0003-1566-1402;

<sup>2</sup> ORCID : 0009-0008-8474-458X;

<sup>1,2</sup> All-Russian Institute of Plant Genetic Resources named after N.I. Vavilov, Yuzhno-Sakhalinsk, Russian Federation

\* Corresponding author (sarsarsar88[at]mail.ru)

**Abstract**

The effect of the growth regulator Gibberelon (consisting of gibberellic acid at a concentration of 40 g/kg) was studied when added to the Murashige-Skuga nutrient medium for microclonal reproduction of potatoes in *in vitro* culture. Doses of the drug Gibberelon in the range from 0.05 to 0.40 g/l were studied. The experience is based on the medium-early varieties of Zekura and Red Scarlett potatoes. A significant increase in plant height from 28.8 to 61.5%, the number of internodes from 11.6 to 17.0% for 21 days was found. The drug enhanced the rhizogenesis of micro-plants, increased both the length of the roots to 31.8% and their number to 35.4%. Modified nutrient media based on Murashige-Skuga were obtained. When Gibberellon is added in an amount of 0.1 g per liter (or 4 mg/l gibberellic acid), the reproduction coefficient increases to 17%. If Gibberelon is used, 0.2 g/l per liter of nutrient medium (or 8 mg/l gibberellic acid), it is possible to reduce the time between passage cycles by up to 19%.

**Keywords:** potato, *in vitro*, micro-plants, growth regulator Gibberelon.

**Введение**

Современное сельскохозяйственное производство нацелено на увеличение урожайности с единицы площади. В связи с этим повысить продуктивность возможно с помощью агротехнологических приёмов направленных на интенсивный путь. В основном это использование новых препаратов как химических, так и биологических. Среди широкого ассортимента фиторегуляторов в последние годы хорошо себя зарекомендовал регулятор роста Гибберелон. Данный препарат зарегистрирован на территории России с 2018 года, и состоит из гиббереллиновых кислот в концентрации в 40 г/кг. Согласно информации от производителя его можно применять среди ягодных, плодовых, полевых и овощных культур [1].

По ранее опубликованным статьям эффективность Гибберелона была проверена на зерновых и кормовых культурах. Под действием регулятора роста существенно возрастала энергия всхожести, увеличивалась адаптация к неблагоприятным факторам среды и продуктивность [2]. Учитывая полученные результаты во многих научных учреждениях, были предприняты попытки по внедрению гиббереллиновых кислот в процесс микроклонального размножения разных культур, в том числе и картофеля [3], [4].

Совершенствование первого этапа размножения в культуре *in vitro* является важным для начала семеноводства. Поэтому при модификации классической питательной среды на основе Мурасиге-Скуга посредством добавления регуляторов роста, необходимо получить максимальный коэффициент размножения за короткий промежуток времени [5], [6], [7]. В ранее проведённых исследованиях по изучению смеси ИУК и гиббереллиновой кислоты установлено, что при соотношении веществ один к двум количество междоузлий возросло до 20% [8]. При этом необходимо учитывать сортовую специфичность разных сортов картофеля на регулятор роста, процессе повторения не всегда

удаётся получить развитые и крепкие черенки или готовые микрорастения для высадки в грунт в достаточном количестве. Поэтому есть необходимость в уточнении дозы нового препарата на современных востребованных сортах картофеля [9].

Цель работы – уточнить оптимальные дозы для микроклонального размножения картофеля и определить эффективность регулятора роста Гиберелон.

### Методы и принципы исследования

Опыт проведен в Сахалинском научно-исследовательском институте сельского хозяйства филиале Всероссийского института генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова. Серия опытов была заложена в период с 2023-2024 годы на микрорастениях картофеля среднеранних сортов Зекура и Ред Скарлетт. Исследуемый препарат добавляли в питательную среду Мурасиге-Скуга перед автоклавированием по схеме опыта:

- 1) Контроль – классический рецепт питательной среды Мурасиге-Скуга (МС);
- 2) МС + Гиберелон 0,4 г/л;
- 3) МС + Гиберелон 0,2 г/л;
- 4) МС + Гиберелон 0,1 г/л;
- 5) МС + Гиберелон 0,05 г/л.

В условиях стерильного помещения проводили черенкование. Для получения выравненного материала в эксперименте при черенковании выбиралась средняя часть микрорастений. После растения помещались в фитотрон с температурой воздуха 22-25°C, влажностью воздуха 50-60% фотопериод 16 часов. Повторность опыта трехкратная. Наблюдения и измерения проводили на 7, 14 и 21 день. Статистическая обработка данных сделана с использованием пакета анализа в программе Microsoft Excel.

### Основные результаты

Исследования показали, что применение Гиберелона в качестве дополнительного компонента в питательной среде оказало значительное воздействие на биометрические показатели у микрорастений всех изучаемых сортов в течение всего периода наблюдений.

Увеличение биометрических показателей наблюдалось с первых дней после пассажа микрочеренков на обоих сортах картофеля с максимальным стимулирующим эффектом в высокой концентрации. На 7 день сорт Ред Скарлетт оказался более отзывчив на препарат в дозах 0,1-0,4 г/л, его высота была больше контроля (0,64 см) на 48,1-85,2%. Менее выраженное влияние на сорте Зекура – 20,5-39,1%, при высоте в контроле 1,61 см.

На 14 день высота микрорастений увеличилась у сорта Зекура 3 раза и составляла 4,94 см, у Ред Скарлетт в 4,5 раза, что соответствует 3,63 см. Также наблюдается смещение эффективных концентраций к 0,2 г/л со средними прибавками 36-46%.

В третью неделю прирост микрорастений замедляется и составляет 1,3 и 1,4 раза по сравнению с 14 днями. При этом гиббереллиновые кислоты в концентрациях препарата от 0,1-0,4 г/л существенно увеличивали высоту пробирочных растений от 28,8 до 61,5% в сравнении с контрольным вариантом. Максимальный эффект наблюдался при дозе в 0,1 г/л на сорте Зекура прибавка составляла 42,7% (2,82 см), на сорте Ред Скарлетт 61,5% (3,12 см). Дальнейшее двукратное и четырёхкратное увеличение действующего вещества дает меньшую прибавку, чем в дозе 0,1, что соответствует 36,4-43,6 и 28,8-40,0%. При этом пониженная доза (0,05 г/л) вещества на обоих сортах картофеля показывает тенденцию к незначительному увеличению высоты растения в пределах 3,9 и 8,3% (таблица 1).

Таблица 1 - Влияние регуляторов роста на биометрические показатели микрорастений картофеля в культуре in vitro, на 21-й день наблюдения

Вариант	Зекура				Ред Скарлетт			
	высота		число междоузлий		высота		число междоузлий	
	см	± к контролю, %	шт.	± к контролю, %	см	± к контролю, %	шт.	± к контролю, %
Контроль (МС)	6,60	0	3,70	0	5,07	0	3,42	0
МС + Гиберелон 0,4 г/л	8,50	+28,8	3,80	+2,7	7,10	+40,0	3,70	+8,2
МС + Гиберелон 0,2 г/л	9,00	+36,4	4,20	+13,5	7,28	+43,6	3,83	+12,0
МС + Гиберелон 0,1 г/л	9,42	+42,7	4,13	+11,6	8,19	+61,5	4,00	+17,0
МС + Гиберелон 0,05	7,15	+8,3	3,79	+2,4	5,27	+3,9	3,65	+6,7

г/л								
НСР <sub>05</sub>	0,56	-	0,35	-	0,48	-	0,34	-

В первичном производстве исходного материала, важным является показатель коэффициента размножения, который у картофеля в условиях *in vitro* имеет прямую зависимость от числа междоузлий. Отклик от препарата более мощный в первую неделю роста во всех вариантах формируется большее количество междоузлий от 33 до 94% с максимальным показателем на сорте Ред Скарлетт в дозе 0,4 г/л.

На вторую неделю происходит аналогичная тенденция, как и в высоте растений – идёт уменьшение прибавки в сравнении с контролем и понижение эффективной дозы к 0,2 г/л. В целом к этому периоду было сформировано междоузлий на сорте Ред Скарлетт 2,0 шт., на сорте Зекура 2,7 шт., что выше в 2,8 и 4,5 раза в сравнении с 7 днями ранее. Также уменьшается общее влияние регулятора роста на показатель в пределах прибавки от 22 до 48%.

В последнюю дату учета результаты исследований показали, что в дозах Гибберелона 0,1-0,2 г/л получено существенное увеличение количества междоузлий от 11,6 до 17,0% (0,43-0,58 шт.) от контроля. При этом для сорта Зекура наибольшая прибавка получена в дозе 0,2 г/л – 13,5%, на сорте Ред Скарлетт в дозе 0,1 г/л – 17,0%, соответственно.

Подсчет показателей облиственности подтверждают положительное действие фиторегулятора на растениях картофеля. Наибольшее число листьев было на сорте Ред Скарлетт – 2,22 шт., меньшее на Зекура – 1,73; на 14 день прирост составлял в 2,1 и 3,2 раза; в 21 день в 1,26 и 1,36 раза. Препарат в дозе 0,2 г/л показал существенную прибавку в облиственности на сортах от 23 до 34%, наибольшая на сорте Ред Скарлетт.

Разные концентрации стимулятора роста обладали разнонаправленным действием на формирование корневой системы у пробирочных растений (таблица 2).

Таблица 2 - Действие регуляторов роста на длину и количество корней микрорастений картофеля в культуре *in vitro*, на 21-й день наблюдения

Вариант	Зекура				Ред Скарлетт			
	длина корней		количество, корней		длина корней		количество, корней	
	см	± к контролю, %	шт.	± к контролю, %	см	± к контролю, %	шт.	± к контролю, %
Контроль (МС)	4,59	0	9,9	0	4,47	0	14,9	0
МС + Гибберелон 0,4 г/л	5,55	+20,9	7,9	-20,2	5,03	+12,5	13,5	-9,5
МС + Гибберелон 0,2 г/л	6,05	+31,8	8,5	-14,1	5,19	+16,1	15,7	+5,3
МС + Гибберелон 0,1 г/л	5,65	+23,1	13,4	+35,4	4,76	+6,5	18,0	+21,0
МС + Гибберелон 0,05 г/л	4,97	+8,3	11,8	+19,2	4,57	+2,2	16,0	+7,5
НСР <sub>05</sub>	0,60	-	1,1	-	0,55	-	1,5	-

Стимулятор роста с первых дней индуцировал образование корней у микрочеренков на всех сортах картофеля. В первую неделю существенно увеличивалась длина корней в 1,8-2,5 раза в дозе 0,2 г/л, на 14 день прирост замедлился до 1,2-1,4 раза, на 21 день показатели достигают в 1,2-1,3 раза в сравнении с контрольным вариантом. При этом во всех наблюдениях на обоих сортах наибольшая средняя длина корней была получена в варианте с Гибберелоном 0,2 г/л. Также сорт Зекура по этому признаку более отзывчив прибавка составляла 31,8% (1,46 см), чем у Ред Скарлетт – 16,1% (0,72 см).

По некоторым данным количество корней более важно, чем их длина, так как при пересадке в грунт денные корни могут повредиться, а мелкие лучше начинают адаптироваться к почвенным условиям. Сорт Ред Скарлетт по данному показателю имеет большее их число (14,88 шт.), в сравнении с Зекурой (9,93 шт.). От препарата в первую неделю в высоких дозах (0,4 г/л) снижается количество корней в двух сортах на 37,5-38,9%. После эффект снижается на 14 день до 24,5-33,5% и к 21 дню достигает от 9,5 до 20,2%. Последующее снижение действующего вещества стимулировало ризогинез пробирочных растений с максимальными значениями в дозе препарата 0,1 г/л на сорте Зекура на 35,4% (3,5 шт.), на сорте Ред Скарлетт 21,0% (3,1 шт.) от варианта с МС.

По внешнему виду Гибберелон в исследуемых концентрациях не повлиял на морфологические признаки растений *in vitro* – цвет, форма листовой пластинки оставались такими же, как и на контрольных растениях. Также необходимо отметить, что на 21 день не наблюдалось образование микроклубней.

### Обсуждение

Полученные данные подтверждают основные свойства гиббереллиновой кислоты, которая является гормоном регулирующего деление и вытягивание клеток в длину, тем самым усиливая рост растений [10]. При этом также получена достоверная прибавка в количестве междоузлий, от которого зависит коэффициент размножения. В свою очередь, этот показатель важен при первых этапах черенкований, когда необходимо быстро размножить ценный генетический материал. Для современных биотехнологических лабораторий значимо получать качественные черенки при микроклональном размножении, которые легко и быстро можно пересаживать в питательные среды [11].

Поэтому для сортов с укороченными междоузлиями, ставится задача, получить повышенное их количество с увеличенной длиной. Учитывая это в условиях разных задач возможно применение разных доз. Например, концентрацию в Гибберелона 0,2 г/л лучше использовать в период интенсивного размножения исходного материала, чтобы сократить время между циклами пассажей на 3-4 дня (14-19%), без потери количества и качества получаемых междоузлий.

На последнем этапе черенкования перед высадкой в субстрат перспективно применять Гибберелон в концентрации 0,1 г/л, так как в данной дозе на обоих сортах усиливается процесс корнеобразования, а именно появляются новые корни с достаточной длиной, что благоприятно влияет на приживаемость и адаптацию микрорастений.

### Заключение

Таким образом, на основании результатов лабораторных опытов изучено влияние разных концентраций регулятора роста Гибберелон на микрорастения картофеля. В целом, найдена универсальная концентрация препарата 0,1 г на литр питательной среды, что соответствует гиббереллиновой кислоте в количестве 4 мг/л, которая ускоряет роста растений, формирует развитую корневую систему и увеличивает количество удлинённых междоузлий.

Для периода интенсивного черенкования в биотехнологической лаборатории, возможно, применять Гибберелон 0,2 г/л на литр питательной среды Мурасиге-Скуга, что соответствует гиббереллиновой кислоте в количестве 8 мг/л. Данная модификация позволяет сократить время между циклами пассажей до 19%.

### Благодарности

Авторы выражают благодарность Правительству Сахалинской области за оказанную финансовую поддержку молодых ученых в проведении и обнародовании исследований.

### Конфликт интересов

Не указан.

### Рецензия

Все статьи проходят рецензирование. Но рецензент или автор статьи предпочли не публиковать рецензию к этой статье в открытом доступе. Рецензия может быть предоставлена компетентным органам по запросу.

### Acknowledgement

The authors express their gratitude to the Government of Sakhalin Oblast for the financial support of young scientists in conducting and publicizing the research.

### Conflict of Interest

None declared.

### Review

All articles are peer-reviewed. But the reviewer or the author of the article chose not to publish a review of this article in the public domain. The review can be provided to the competent authorities upon request.

### Список литературы / References

1. Шаповал О.А. Эффективность применения синтетических регуляторов роста класса цитокининов на сельскохозяйственных культурах / О.А. Шаповал, И.П. Можарова, А.А. Коршунов // Плодородие. — 2023. — № 6(135). — С. 38-42.
2. Ламмас М.Е. Влияние биостимуляторов роста на энергию прорастания, всхожесть и интенсивность прорастания семян ярового ячменя / М.Е. Ламмас, А.В. Шитикова // Плодородие. — 2021. — №5 (122). — С. 61-64.
3. Hajare A. Effect of growth regulators and colchicine on regeneration of two potato cultivars *in vitro* / A. Hajare, B. Baker, S. Munqez // Research on Crops. — 2023. — № 24 (3). — P. 548-554.
4. Лекунович С.Н. Использование регуляторов роста в клональном микроразмножении картофеля / С.Н. Лекунович, Н.Н. Безрученок, Ю.В. Шевчук // Вестник Полесского государственного университета. — 2023. — № 1. — С. 31-38.
5. Kumlay A.M. Different plant growth regulators on improvement of potato (*Solanum tuberosum* L.) micropropagation / A.M. Kumlay, C. Kaya, B. Yildirim // BioMed Research International. — 2021. — №11. — P.1603-1615.
6. Qureshi M.A. Effect of growth regulators on callus induction and plant regeneration in potato (*Solanum tuberosum* L.) explants / M.A. Qureshi, R. Ahmed, B. Ahme et al // Sarhad Journal of Agriculture. — 2023. — № 1 (39). — P. 140-146.
7. Priyadarshani P.M. Tissue culture of potato (*Solanum tuberosum* L.): A review / P.M. Priyadarshani, V.K. Batra // Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci. — 2017. — № 6. — P. 489-495.
8. Луговцова С.Ю. Концентрация и соотношение ИУК и гиббереллиновой кислоты как факторы эффективности микроклонального размножения картофеля / С.Ю. Луговцова, В.Ю. Ступко // Аграрный научный журнал. — 2024. — № 1. — С. 32-38.
9. Zhang X. Transcriptomic analyses reveal the role of cytokinin and the nodal stem in microtuber sprouting in potato (*Solanum tuberosum* L.) / X. Zhang, K. Fujino, H. Shimura // International Journal of Molecular Sciences. — 2023. — № 24. — P. 17534.
10. Ходаева В.П. Размножение сортов картофеля в культуре *in vitro* на различных питательных средах / В.П. Ходаева, В.И. Куликова // Достижения науки и техники АПК. — 2016. — № 10. — С. 66-68.

11. Babadjanova F.I. Effects of plant growth regulators on callogenesis and embryogenesis in sarnav and desiree potato (*Solanum tuberosum* L.) varieties / F.I. Babadjanova, Kh.A. Ubaydullaeva, A.M. Asrorov et al // *Plant Science Today*. — 2023. — №1 (11). — P. 215-222.

### Список литературы на английском языке / References in English

1. Shapoval O.A. Jefferktivnost' primeneniya sinteticheskikh reguljatorov rosta klassa citokininov na sel'skohozjajstvennyh kul'turah [The effectiveness of the use of synthetic growth regulators of the cytokinin class in agricultural crops] / O.A. Shapoval, I.P. Mozharova, A.A. Korshunov // *Plodorodie [Fertility]*. — 2023. — № 6 (135). — P. 38-42. [in Russian]
2. Lammas M.E. Vlijanie biostimuljatorov rosta na jenergiju prorastanija, vshozhest' i intensivnost' prorastanija semjan jarovogo jachmenj [Influence of biostimulants of growth on germination energy, germination and intensity of germination of spring barley seeds] / M.E. Lammas, A.V. Shitikova // *Plodorodie [Fertility]*. — 2021. — № 5 (122). — P. 61-64. [in Russian]
3. Hajare A. Effect of growth regulators and colchicine on regeneration of two potato cultivars in vitro / A. Hajare, B. Baker, S. Munqez // *Research on Crops*. — 2023. — № 24 (3). — P. 548-554.
4. Lekunovich S.N. Ispol'zovanie reguljatorov rosta v klonal'nom mikrorazmnozhenii kartofelja [The use of growth regulators in clonal micro-reproduction of potatoes] / S.N. Lekunovich, N.N. Bezruchenok, Yu.V. Shevchuk // *Vestnik Polesskogo gosudarstvennogo universiteta [Bulletin of the Polesky State University]*. — 2023. — No. 1. — P. 31-38. [in Russian]
5. Kumlay A.M. Different plant growth regulators on improvement of potato (*Solanum tuberosum* L.) micropropagation / A.M. Kumlay, C. Kaya, B. Yildirim // *BioMed Research International*. — 2021. — №11. — P.1603-1615.
6. Qureshi M.A. Effect of growth regulators on callus induction and plant regeneration in potato (*Solanum tuberosum* L.) explants / M.A. Qureshi, R. Ahmed, B. Ahme et al // *Sarhad Journal of Agriculture*. — 2023. — № 1 (39). — P. 140-146.
7. Priyadarshani P.M. Tissue culture of potato (*Solanum tuberosum* L.): A review / P.M. Priyadarshani, V.K. Batra // *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* — 2017. — № 6. — P. 489-495.
8. Lugovtsova S.Yu. Koncentracija i sootnoshenie IUK i gibberellinovej kisloty kak faktory jefferktivnosti mikroklonal'nogo razmnozhenija kartofelja [Concentration and ratio of IUK and gibberellic acid as factors of effectiveness of microclonal reproduction of potatoes]. / S.Yu. Lugovtsova, V.Yu. Stupko // *Agrarnyj nauchnyj zhurnal [Agrarian Scientific Journal]* — 2024. — No. 1. — P. 32-38. [in Russian]
9. Zhang X. Transcriptomic analyses reveal the role of cytokinin and the nodal stem in microtuber sprouting in potato (*Solanum tuberosum* L.) / X. Zhang, K. Fujino, H. Shimura // *International Journal of Molecular Sciences*. — 2023. — № 24. — P. 17534.
10. Khodaeva V.P. Razmnozhenie sortov kartofelja v kul'ture in vitro na razlichnyh pitatel'nyh sredah [Reproduction of potato varieties in culture in vitro on various nutrient media] / V.P. Khodaeva, V.I. Kulikova // *Dostizhenija nauki i tehniki APK [Achievements of science and technology of the agro-industrial complex]*. — 2016. — No. 10. — P. 66-68. [in Russian]
11. Babadjanova F.I. Effects of plant growth regulators on callogenesis and embryogenesis in sarnav and desiree potato (*Solanum tuberosum* L.) varieties / F.I. Babadjanova, Kh.A. Ubaydullaeva, A.M. Asrorov et al // *Plant Science Today*. — 2023. — №1 (11). — P. 215-222.