

УДК 581.174.1.035.7

**Д. В. Кравченко, В. С. Зотов**

ФГУ «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук», г. Москва, Россия  
E-mail: dima1826@ya.ru

## **ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ УСТАНОВОК С КОНТРОЛИРУЕМЫМ СВЕТОДИОДНЫМ ОСВЕЩЕНИЕМ В ТЕХНОЛОГИЯХ МИКРОКЛОНАЛЬНОГО РАЗМНОЖЕНИЯ КАРТОФЕЛЯ**

### **РЕЗЮМЕ**

*Оценивалась возможность выращивания оздоровленных растений картофеля сорта Инноватор в светодиодных установках с контролируемыми световыми условиями. Сравнивались режимы культивирования, различающиеся по спектрально-временным характеристикам. Определены эффекты различных спектров на морфогенетические процессы растений *in vitro*. Установлено, что световой режим, запрограммированный по схеме: 10 дней белый + синий, а затем 20 дней белый + красный, позволяет получить растения с оптимальными биометрическими показателями.*

*Ключевые слова:* картофель, культура *in vitro*, микроклональное размножение, светодиодное освещение, спектральный состав.

### **ВВЕДЕНИЕ**

Основная задача оригинального семеноводства картофеля – ускоренное размножение оздоровленного исходного материала в объемах, необходимых для ведения элитного семеноводства. Метод микроклонального размножения сортов картофеля в культуре *in vitro* в настоящее время является основным в нашей стране и во многих странах мира [1–3].

Световой режим – один из важнейших факторов, определяющих рост, развитие и продуктивность оздоровленных растений картофеля, как в условиях *in vitro*, так и при дальнейшем получении оригинального семенного материала. Влияние естественной освещенности на физиологические процессы, протекающие в растениях картофеля, показаны в работах сотрудников Казанского института биохимии и биофизики и Татарского НИИСХ [4].

Культура *in vitro*, требующая применения искусственных источников света, является оптимальным объектом для исследований различных параметров светового режима, а также использования современных технических средств для управления световым режимом и, как следствие, ростовыми процессами растений картофеля. В ряде работ [5, 6] показано, как свет различного спектра регулирует ростовые процессы.

Настоящая работа выполнена с использованием светодиодных установок производства ООО «Альгоконсорциум», позволяющих регулировать такие параметры светового режима, как фотопериод, спектральный состав освещения, интенсивность облучения. Результаты первых наших исследований в данном направлении были представлены ранее [7]. Программное обеспечение, являющееся неотъемлемой частью данных установок, позволяет разрабатывать методические протоколы, включающие изменение спектрального состава освещения, и программировать «спектрально-временные»

циклы, что является актуальным для обеспечения максимально эффективного процесса получения оздоровленных исходных растений картофеля.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА

Исследования проводились на базе группы альгобиотехнологии ФГУ «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук». Объектом исследований были оздоровленные растения картофеля сорта Инноватор, расчерекованные в стерильных условиях и помещенные в пробирки со средой Мурасиге-Скуга. Растения размещали в установки с регулируемым световым режимом (рис. 1).

Программирование светового режима было осуществлено по семи вариантам освещения:

1. Только белым светом – 30 дней;
2. Белым + синим – 30 дней;
3. Белым + красным – 30 дней;
4. Белым светом – 10 дней, затем белым + синим – 20 дней;
5. Белым светом – 10 дней, затем белым + красным – 20 дней;
6. Белым + синим – 10 дней, затем белым + красным – 20 дней;
7. Белым + красным – 10 дней, затем белым + синим – 20 дней.

Количество растений на вариант – 40 шт. Повторность опыта 3-кратная. Длина фотопериода – 16 ч. Первые 10 дней растения культивировались при первых трех вариантах светового режима. Затем на варианте, соответствующем схеме опыта, световой режим изменяли и культивировали растения до окончания эксперимента. Замеры биометрических показателей, таких как высота и число междоузлий, проводили через 10, 20 и 30 дней пассирования. После 30 дней культивирования растения извлекались из пробирок, отмывались от остатков питательной среды, подсушивались. Проводилось измерение высоты стебля, длины корней, массы зеленой части и корневой системы путем взвешивания.



Рисунок 1 – Светодиодная установка с контролируемым освещением

## РАЗДЕЛ 5. СЕМЕНОВОДСТВО КАРТОФЕЛЯ

Источником света было трехканальное (белый, синий и красный) светодиодное освещение на основе светодиодов Edison высокой мощности (уровень технологии 2018 г.). Освещенность во всех вариантах была выравнена и составляла 6000 лк, при этом в варианте с добавлением красного спектра энергетическая освещенность (ФАР) была выше на 67 %, а плотность фотосинтетического фотонного потока PPFD – выше на 89 % (табл. 1). Как видно из таблицы, добавление красного спектра требует на 45 % больше дополнительных энергозатрат, однако обеспечивает в 1,9 раза большую плотность фотосинтетического фотонного потока, чем в варианте только с белыми светодиодами.

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Произведенные через 10 дней культивирования замеры продемонстрировали существенное влияние различных световых режимов на рост и развитие *in vitro* растений картофеля (табл. 2). Из таблицы видно, что наибольшей высотой и числом междоузлий в первый период роста обладали растения, культивируемые при сочетании белого и красного спектров. Данный вариант превосходил контроль (2 × Б) на 6 % по высоте и на 9 % по числу междоузлий. Добавление к белому синего спектра напротив замедлило линейный рост растений: отставание по высоте от варианта № 1 составило 30 %, от варианта № 3 – 34 %. Также наблюдалось и снижение числа междоузлий на растениях данного варианта: сформировались на 13 и 20 % по сравнению с вариантами № 1 и 3 соответственно. Однако растения варианта № 2 имели мощный, хорошо облиственный фенотип с насыщенной окраской листьев, в то время как остальные варианты, особенно вариант с белым освещением, имели более бледную окраску и мелкие листья.

После изменения световых режимов согласно схеме опыта по всем семи вариантам наблюдения проводили через 20 и 30 дней от начала пассирования (табл. 3). Через 20 дней сохранилась тенденция, наблюдаемая в первую фазу развития растений, выращиваемых по вариантам 1–3. Красный свет стимулировал вытягивание стебля растений, синий – тормозил рост стебля в высоту на 27 % по сравнению с вариантом № 1. Вариант № 3 после 20 дней культивирования был лучшим по высоте растений, однако через 30 дней несколько уступил варианту № 5. У растений с переменным световым режимом (варианты № 4–7) данные эффекты света разного спектра также подтвердились. Так,

Таблица 1 – Энергетические и световые характеристики вариантов светодиодного освещения

Вариант освещения	Характеристика облучения на расстоянии 18 см от светильника			Суммарная мощность, Вт
	Освещенность, лк	Е(ФАР), Вт/м <sup>2</sup>	PPFD, мкмоль/сек/м <sup>2</sup>	
Белый (2 × Б)	6000	18,4	85,3	40,8
Белый + синий (Б + С)	3000 + 3000	19,1 (+4 %)	80,4 (–6 %)	44,4 (+9 %)
Белый + красный (Б + К)	3000 + 3000	30,8 (+67 %)	161,5 (+89 %)	59,4 (+45 %)

Таблица 2 – Биометрические показатели микрорастений картофеля через 10 дней культивирования

№ варианта	Вариант освещения	Средняя высота растений, мм	Среднее число междоузлий, шт.
1	Белый (2 × Б)	82,0	4,7
2	Белый + синий (Б + С)	57,2	4,1
3	Белый + красный (Б + К)	87,3	5,1
	НСР <sub>05</sub>	4,5	0,7

РАЗДЕЛ 5. СЕМЕНОВОДСТВО КАРТОФЕЛЯ

Таблица 3 – Влияние светового режима на рост и развитие микрорастений картофеля

№ варианта	Вариант освещения	Средняя высота растений, мм		Среднее число междоузлий, шт.	
		через 20 дней	через 30 дней	через 20 дней	через 30 дней
1	Белый (2 × Б)	104,8	132,1	6,3	7,4
2	Белый + синий (Б + С)	76,0	95,9	6,1	7,5
3	Белый + красный (Б + К)	106,2	127,5	6,4	7,6
4	(2 × Б) → (Б + С)	97,8	109,4	6,4	7,8
5	(2 × Б) → (Б + К)	104,6	131,1	6,5	7,3
6	(Б + С) → (Б + К)	98,0	123,1	6,6	8,0
7	(Б + К) → (Б + С)	96,6	113,8	6,4	7,5
	НСР <sub>05</sub>	3,7	4,2	0,4	0,4

изменение светового режима с 2 × Б на Б + С через 20 дней затормозило вытягивание стебля в высоту на 7 % по сравнению с исходным вариантом, через 30 дней разница составила уже 17 %. Число междоузлий через 20 дней практически не отличалось от исходного варианта, а через 30 дней разница с исходным вариантом составила 5 %.

Изменение же светового режима с 2 × Б на Б + К практически никак не сказалось на высоте растений и в конце исследования даже немного негативно повлияло на количество междоузлий.

Явно прослеживается влияние красного света при смене спектров с Б + С на Б + К – превышение по высоте исходного варианта составило 29 % через 20 дней и 28 % через 30 дней. Также значительно увеличилось число междоузлий на 0,5 шт. через 20 дней и на 0,5 шт. через 30 дней.

Обратная смена спектров с Б + К на Б + С затормозила рост стебля в высоту на 9 % в период с 10 по 20-й день культивирования и на 11 % в последующий период до 30 дней культивирования. На количество междоузлий смена спектра практически не повлияла.

Таким образом, можно сделать вывод, что красный свет играет значительную роль в вытягивании стебля в высоту. Синий свет выполняет обратную функцию – тормозит рост стебля. На облиственность растений в наибольшей степени влияет смена синего спектра на красный.

Результующими в данном опыте являлись показатели сырой биомассы вегетативной и корневой части оздоровленных микрорастений картофеля, а также длина корневой системы (табл. 4). Наибольшую высоту имели растения в вариантах № 1 и

Таблица 4 – Развитие вегетативной массы и корневой системы оздоровленных растений картофеля в зависимости от светового режима

№ варианта	Вариант	Средняя длина корней, мм	Масса корневой части одного растения, мг	Масса стеблевой части одного растения, мг	Общая масса одного растения, мг
1	Белый (2 × Б)	52,4	75,4	262,8	338,2
2	Белый + синий (Б + С)	115,0	104,3	225,7	330,0
3	Белый + красный (Б + К)	83,0	133,5	382,6	516,1
4	(2 × Б) → (Б + С)	111,3	93,4	197,9	291,3
5	(2 × Б) → (Б + К)	82,7	107,2	263,2	370,4
6	(Б + С) → (Б + К)	116,8	145,5	328,8	474,3
7	(Б + К) → (Б + С)	112,4	126,2	286,3	412,5
	НСР <sub>05</sub>	6,7	10,4	18,5	–

№ 5, а наибольшую длину корневой системы – в вариантах № 2 (Б + С) и № 6 (10 дней синий – 20 дней красный). Превышение варианта № 1 здесь составило в 2,2 раза. Вариант № 6 по данному показателю не существенно превышал свой исходный вариант № 2, но значительно превышал варианты с присутствием красного спектра в отсутствии синего (варианты № 3 и 5) – на 41 %. Варианты же с присутствием синего света постоянно либо на первой, либо на последующих фазах роста микрорастения картофеля стимулировали развитие корневой системы независимо от светового режима в другие фазы роста. Наибольшую биомассу сформировали растения в варианте № 3 (постоянный красный, самый энергонасыщенный вариант) – на 53 % превышение варианта № 1, немного уступил ему вариант № 6 – на 40 % превышение контроля. Однако по массе корневой системы вариант № 6 был лучшим – почти 2-кратное превышение контроля.

Очевидно, что в спектрально и энергетически бедном варианте 2 × Б сформировался негативный фенотип оздоровленного микрорастения картофеля: вытянутый стебель с небольшим количеством мелких бледно-зеленых листиков, слабо развитая корневая система с наименьшей длиной и массой среди всех вариантов. Вариант с постоянным синим спектром обладал меньшей массой стеблевой части, но она была хорошо облиственна и отличалась насыщенной зеленой окраской. Корневая система хорошо развита.

Вариант № 3 с наивысшими затратами световой энергии сформировал растения с оптимальной высотой среди первых трех вариантов, а также с наибольшей массой стеблевой части и общей биомассой во всем опыте. По массе корней данный вариант также превышал все варианты опыта, но существенно уступил варианту № 6. Очевидно, что столь высоких показателей данный вариант достиг за счет большей плотности фотосинтетического фотонного потока. Вариант № 4 обладал самыми низкими показателями по биомассе стеблевой части и общей биомассе растения.

Максимально использовали все возможности контролируемого светового режима микрорастения картофеля в варианте № 6 (Б + С) → (Б + К). Наличие синего спектра в первую фазу вегетации стимулировало развитие корневой системы и хорошо облиственной приземистой стеблевой части растения. Запрограммированное изменение синего на красный спектр в последующие 20 дней культивирования картофеля позволило ему нарастить массу корневой системы и стеблевой части, сформировало большое число междоузлий, а следовательно, и коэффициент размножения в культуре *in vitro*.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Добавление синего спектра в световой режим культивирования микрорастений картофеля стимулирует развитие корневой системы. Синий спектр в течение первых 10 дней развития практически не отличается по действию на рост корней в длину от постоянного синего облучения и облучения синим светом в течение последних 20 дней вегетации.

Красный спектр способствует вытягиванию стебля в длину, нарастанию биомассы вегетативной части растения и в меньшей степени корневой системы.

На основании проведенных исследований оптимальным световым режимом для формирования микрорастений сорта Инноватор, пригодных как к последующим черенкованиям, так и к посадке в нестерильные условия для получения безвирусных мини-клубней является сочетание белого и синего спектров (3000 лк + 3000 лк) в первые 10 дней культивирования с переходом на сочетание белого и красного спектров (3000 лк + 3000 лк) в последующие 20 дней вегетации.

Таким образом, светодиодные установки с контролируемым световым режимом производства ООО «Альгоконсорциум» могут с успехом применяться как в научных исследованиях, так и в промышленных технологиях микроклонального размножения картофеля. Полученные результаты являются основой для программирования спектрально-временных циклов оборудования для обеспечения максимально эффективно-го производственного цикла в зависимости от разных стадий развития растений, в том числе сортовой специфичности.

#### Список литературы

1. Анисимов, Б. В. Инновационная схема оригинального семеноводства картофеля / Б. В. Анисимов, В. С. Чугунов // Картофель и овощи. – 2014. – № 6. – С. 25–27.
2. Трускинов, Э. В. Поддержание коллекционных образцов в культуре *in vitro* / Э. В. Трускинов, Н. С. Оглуздин // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. – 1982. – Т. 73. – Вып. 2. – С. 3–19.
3. Blackbeard, J. Micropropagation speed up multiplication / J. Blackbeard // Arable Farming. – 1987. – Vol. 14. – № 3. – P. 59–61.
4. Фотосинтез, транспорт ассимилятов и продуктивность у растений картофеля, выращенных при разной освещенности / В. И. Чиков [и др.] // Сельскохозяйственная биология. – 2012. – № 1. – С. 72–77.
5. Карначук, Р. А. Гормональный статус, рост и фотосинтез растений, выращенных на свету разного спектрального состава / Р. А. Карначук, Е. С. Гвоздева // Физиология растений. – 1998. – Т. 45. – Вып. 6. – С. 925–934.
6. Дорофеев, В. Ю. Оптимизация светового режима при культивировании оздоровленных растений картофеля *in vitro* с целью повышения продукционного процесса / В. Ю. Дорофеев, Ю. В. Медведева, Р. А. Карначук // Материалы VI Московского междунар. конгресса «Экспо-биохим-технологии». – М., 2011. – С. 238–239.
7. Кравченко, Д. В. Рост и развитие под контролем: возможности биотехнологии картофеля *in vitro* / Д. В. Кравченко // Селекция, семеноводство и генетика. – 2017. – № 5 (17). – С. 50–52.

Поступила в редакцию 20.08.2018 г.

D. V. KRAVCHENKO, V. S. ZOTOV

### APPLICATION POSSIBILITIES OF INSTALLATIONS WITH CONTROLLED LED LIGHTING IN MICROPROPAGATION TECHNOLOGIES OF POTATOES

#### SUMMARY

*The cultivation possibility of the revitalized potato plants the variety «Innovator» in LED installations with controlled light conditions was estimated. The cultivation modes differing according to spectral and time characteristics were compared. Effects of various light spectrums on morphogenetic processes of plants in vitro are defined. It is established that the following light status allows to receive plants with optimum biometric indicators: 10 days white + blue, and then 20 days – white + red.*

*Key words:* potatoes, *in vitro* culture, micropropagation, led light sources, spectral composition.