

КАЛЛУСООБРАЗОВАНИЕ В КУЛЬТУРЕ ОДНОУЗЛОВЫХ ЧЕРЕНКОВ КАРТОФЕЛЯ IN VITRO

В. Ю. Ступко, С. Ю. Луговцова, Н. С. Помыткин

Красноярский научно-исследовательский институт сельского хозяйства –
обособленное подразделение Федерального исследовательского центра «Красноярский научный
центр Сибирского отделения Российской академии наук», г. Красноярск, Россия
stupko@list.ru

АННОТАЦИЯ. С использованием бинарного метода логистической регрессии проведена оценка вероятности формирования каллуса в ходе микроклонального размножения картофеля. Использована среда МС с уровнем ИУК и ГКЗ от 1 до 2 мг/л. Максимальная частота каллусогенеза зафиксирована на средах с 1 мг/л ИУК. Повышение уровня ГКЗ в среде, имело большее влияние на вероятность каллусогенеза, чем ИУК. Образующиеся каллусы могут быть использованы в клеточной селекции картофеля.

Ключевые слова: микроклональное размножение, *Solanum tuberosum*, каллусогенез, *in vitro*.

Изменение климата требует создания новых сортов продовольственных культур, в частности картофеля, способных поддерживать высокую урожайность в условиях большого числа абиотических и биотических стрессоров. В последнее время отбор соматоклональных вариантов в каллусной культуре картофеля набирает обороты [1] ввиду сложностей, возникающих при традиционных методах селекции картофеля из-за тетраплоидности данной культуры. Образование каллуса при тиражировании микро-растений картофеля в программах получения семенного материала является нежелательным, однако, образующийся каллус может быть использован в работах по селекции картофеля. Badoni and Chauhan [2] показали, что низкие дозы ауксинов (нафталилукусная кислота 0,01 мг/л) с гиббереллиновой кислотой (ГКЗ) (0,25 мг/л) наилучшим образом подходят для получения проростков картофеля из апикальной меристемы, при этом избегая формирования каллуса. При этом, ранее нами показано, что увеличение гормонов в среде способствует повышению эффективности микроклонального размножения [3].

В настоящей работе проведено исследование влияния уровня индолилуксусной кислоты (ИУК) и ГКЗ в среде на базе комплекса солей Мурасиге-Скуга (МС) (таблица 1) на частоту и вероятность формирования каллусной массы.

Растения выращивались в пробирочной культуре по 20 растений на каждом варианте опыта (n=2) при освещенности 3 кЛк, 14 часо-

вом фотопериоде и температуре 22–26°C днем и 18–22°C ночью. Частоту формирования каллуса на разных вариантах сред фиксировали на 28е сутки. Достоверность различий по данному параметру оценивали с применением точного критерия Фишера для двупольных таблиц. Метод бинарной логистической регрессии использовали для анализа влияния уровня фитогормонов на вероятность формирования каллуса. Для построения модели использовали пакет R 4.0.4 в среде разработки RStudio 1.4.1103 (2009–2021 RStudio, PBC). Построенные на основании данных прогностические модели имели следующий вид:

$$P = \frac{1}{1 - e^{-z}}$$

$$z = \beta_0 + \beta_i x_i$$

где P – вероятность образования каллуса, x_i – значение факторов, измеренное в номинальной или количественной шкале (уровень гормона), β_0, β_i – коэффициенты регрессии.

На безгормональной среде МС не отмечено случаев формирования каллуса. Максимальная

Таблица 1. Состав сред для клонирования микро-растений картофеля

ИУК, мг/л	Гибберелловая кислота, мг/л		
	1	1,5	2
1	И1Г1	И1Г1,5	И1Г2
1,5	И15Г1	И15Г15	И15Г2
2	И2Г1	И2Г15	И2Г2

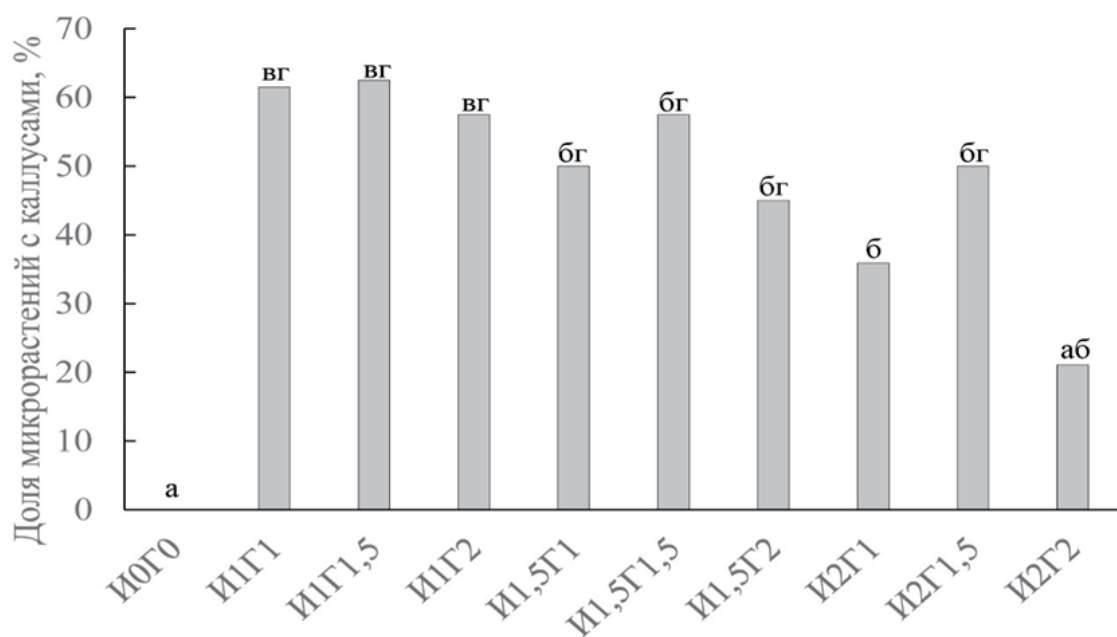


Рисунок. Частота формирования каллуса на микрорастениях картофеля *in vitro* при различных концентрациях ИУК и ГКЗ в среде МС. Данные на 28 сутки культивирования. Одинаковыми буквами отмечены варианты не различающиеся между собой согласно точному критерию Фишера при $p < 0,05$

Таблица 2. Параметры логистической регрессии как функции концентраций ИУК и ГКЗ, влияющих на вероятность формирования каллуса на нижних участках черенка картофеля к 28 дню культивирования

Переменная	β	ст.ош.	$\exp(\beta)$
Константа	-3,15	0,71	0,04
Концентрация ГКЗ	2,93	0,53	18,7
Концентрация ИУК	2,23	0,52	9,32
Концентрация ГКЗ и ИУК	-2,07	0,38	0,12

Примечание: все коэффициенты регрессии статистически значимо отличаются от нуля при $p < 0,01$.

частота дедифференцировки клеток наблюдалась на средах с минимальным уровнем ИУК: И1Г1, И1Г1,5, И1Г2. Наиболее редкими случаи обнаружения каллуса на основании черенков были на средах с 2 мг/л ИУК (И2Г1,5, И2Г2).

Для более точной характеристики влияния внесения фиторегуляторов в среду проведен логистический анализ данных частоты формирования каллусов в зависимости от уровня ИУК и ГКЗ. Также рассчитано экспонированное значение шансов (таблица 2.).

Увеличение уровня ГКЗ или ИУК приводило к повышению частоты формирования каллуса. В то время, как одновременное увеличение концентрации этих гормонов сопровождалось снижением вероятности их образования.

Из данных уравнения регрессии видно, что увеличение уровня ГКЗ и ИУК приводит к повышению вероятности формирования каллуса. Причем, при повышении концентрации ГКЗ на 1 мг/л при постоянном уровне ИУК шанс формирования каллуса увеличивается значительно больше, чем при аналогичном изменении концентрации ИУК на фоне стабильного уровня ГКЗ (в 18,7 и 9,32 раза, соответственно). В то время, как одновременное увеличение концентрации этих гормонов сопровождается снижением вероятности образования каллусов.

Проведенный ROC анализ логистической модели показал статистическую значимость на уровне $p < 0,01$. Площадь под ROC-кривой, характеризующая качество бинарного классификатора составила $AUC = 0,65 \pm 0,03$ с 95% доверительным интервалом 0,60–0,71. При чувствительности 96%, модель, однако имеет низкую специфичность (31%) и объясняет лишь 11% (коэффициент Найджелкерка) изменчивости показателя «вероятность формирования каллуса». В этих условиях необходим поиск других факторов, влияющих на этот процесс.

Несмотря на высокую частоту каллусогенеза на среде И1Г2, а также большое число образующихся на этой среде междоузлий [4] делает её предпочтительной для микроклонального размножения растений. В свою очередь, формируемый в этих условиях каллус может быть

использован в работе по соматклональной селекции картофеля *in vitro* [5].

CALLUSOGENESIS IN POTATO SINGLE NODE CUTTINGS CULTURE IN VITRO

V. Yu. Stupko, S. Yu. Lugovtsova, N. S. Pomytkin

Krasnoyarsk Research Institute of Agriculture, Federal Research Center «Krasnoyarsk Scientific Center, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences», Krasnoyarsk, Russia
stupko@list.ru

ABSTRACT. The evaluation of a probability of callus development within potato micropropagation process was conducted with a binary logistic regression method. Media of Murashige-Skoog with levels of IAA and GA3 from 1 up to 2 mg/l were involved. The maximum frequency of callusogenesis was recorded on the media with 1 mg/l IAA. Increasing the GA3 concentration in a medium had a greater effect on the probability of callusogenesis than IAA one. The resulting callus can be used in cell selection of potato.

Keywords: *micropropagation, Solanum tuberosum, callusogenesis, in vitro*

Литература

- 1 Adly W. M.R.M., Niedbala G., EL-Denary M.E., Mohamed M. A., Piekutowska M., Wojciechowski T., Abd El-Salam E.-S.T., Fouad A. S. Somaclonal variation for genetic improvement of starch accumulation in potato (*Solanum tuberosum*) tubers. *Plants*. 2023. Vol.12. Article number: 232. URL: <https://doi.org/10.3390/plants12020232> (дата обращения: 22.01.2024).
- 2 Badoni A., Chauhan J. S. Effect of growth regulators on meristem-tip development and *in vitro* multiplication of potato cultivar 'Kufri himalini' // *Nature and Science*. 2009. Vol.7. No.9. P. 31–34.
- 3 Луговцова С. Ю., Ступко В. Ю. Концентрация и соотношение ИУК и гиббереллиновой кислоты как факторы эффективности микроклонального размножения картофеля // *Аграрный научный журнал*. 2023. № 1. С. 32–38.
- 4 Луговцова С. Ю., Ступко В. Ю., Помыткин Н. С. Концентрации ауксинов и гиббереллиновой кислоты как факторы эффективности микроклонального размножения картофеля // *Роль аграрной науки в обеспечении продовольственной безопасности Сибири. Материалы всероссийской конференции с международным участием*. Красноярск, 2022. С. 158–162.
- 5 Vinterhalter D., Dragievi I., Vinterhalter B. Potato *in vitro* culture techniques and biotechnology // *Fruit, Vegetable and Cereal Science and Biotechnology*. 2008. Vol.2. Sp.1.1. P. 16–45.