

**Применение наноразмерных препаратов
для оптимизации микроклонального размножения картофеля**

Юлия Дмитриевна Смирнова, Елена Александровна Подолян

Почвенный институт имени В.В. Докучаева, г. Тверь, Россия

e-mail: ulayad@yandex.ru

Аннотация. В работе приводятся результаты опытов по изучению воздействия кремнийгуминового и железосодержащего препаратов в наноразмерной форме на развитие эксплантов картофеля (*Solanum tuberosum* L.). Исследования имеют особую актуальность в связи с необходимостью получения качественного семенного материала картофеля на территории Российской Федерации. Проведена апробация по использованию препаратов на растениях картофеля скороспелого сорта Арроу в культуре *in vitro* в качестве компонентов питательной среды Мурасиге-Скуга. Показано их положительное влияние на рост и развитие микрорастений. Установлено, что введение 5 мл/л кремнийгуминового препарата в среду МС обеспечило прирост длины корневой системы к контролю на 33 %, количество междоузлий увеличилось на 20 %. Замена хелата железа на наночастицы железа, полученные методом зеленого синтеза, в составе питательной среды позволила статистически значимо увеличить сухую массу микро-растений – на 44 %, длину побега – на 10 %. При этом различия влияния наночастиц железа на количество междоузлий по сравнению с хелатом железа не были выявлены. Таким образом, благодаря новым препаратам возможно сформировать более крепкие растения *in vitro* для дальнейшего использования в получении посадочного материала картофеля, что особенно важно для нужд сельского хозяйства, агропромышленного сектора и семеноводства.

Ключевые слова: микроклональное размножение; картофель; семеноводство; нанопрепараты

Для цитирования: Смирнова Ю. Д., Подолян Е. А. Применение нанопрепаратов для оптимизации микроклонального размножения картофеля // Аграрный научный журнал. 2024. № 1. С. 51–55. <http://dx.doi.org/10.28983/asj.y2024i1pp51-55>.

AGRONOMY

Original article

The use of nanosize preparation to optimize the potato microclonal reproduction

Yulia D. Smirnova, Elena A. Podolian

V.V. Dokuchaev Soil Science Institute, Tver, Russia

e-mail: ulayad@yandex.ru

Abstract. The work presents the results of experiments researching the effect of silica-humic and iron preparations in nanosize form on the development of potato explants (*Solanum tuberosum* L.). The research has relevance because there is the need to obtain high-quality potato seed material in the Russian Federation. These preparations was tested as components of the Murashige and Skoog medium (MS) on potato plants *Solanum tuberosum* L. cv. Arrow *in vitro*. Their positive effect on the growth and development of microplants was proven. It was found out that the introduction of 5 ml/l of a silicohumic preparation into the MS medium provided an increase in the root system length of control by 33%, the internodes number increased by 20%. The replace of iron chelate to nanoform obtained by the green synthesis method in MS increased statistically significantly the dry mass of microplants by 44%, the shoot length by 10%. At the same time, the differences in the effect of iron nanoparticles compared with iron chelate on the number of internodes were not revealed. Thus, new preparations form stronger plants *in vitro*, which can be used for further in obtaining potato planting material. It is especially important for the needs of agriculture, agro-industrial sector and seed production

Keywords: microclonal reproduction; potatoes; seed production; nanosize preparation

For citation: Smirnova Yu. D., Podolian E. A. The use of nanosize preparation to optimize the potato microclonal reproduction. *Agrarnyy nauchnyy zhurnal = Agrarian Scientific Journal*. 2024;(1): 51–55. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.28983/asj.y2024i1pp51-55>.

Введение. Картофель, являясь ценной стратегической культурой, требует получения качественного семенного материала, особенно в связи с растущими потребностями интенсификации отечественного сельского хозяйства. Микроклональное размножение как метод семеноводства



направлено на формирование безвирусного посадочного материала, что особенно важно для проявления потенциальных качеств сорта. Вместе с тем существуют трудности получения крепких растений *in vitro*, готовых к высадке в грунт и имеющих высокий уровень приживаемости в дальнейшем в условиях *ex vitro*.

Исследования отечественных авторов показали положительное влияние гуминовых препаратов на биометрические показатели растений и качество продукции [1, 7, 9]. Активизируя метаболизм растительных тканей и процессы биосинтеза, они значительно повышают эффективность тиражирования, кроме того, позволяют подготовить культуральные растения к стрессу и другим условиям питания при дальнейшей их пересадке [1]. Кроме того, установлено положительное действие кремния в отношении стрессоустойчивости, роста и развития картофеля [2].

В метаболических процессах растений также велико значение железа, благодаря его способности к переносу ферментов и электронов, влиянию на образование хлорофилла [3]. Распространенными источниками железа для растений являются сульфат железа ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) и хелат железа [10]. Однако синтетические хелаты железа с использованием ЭДТА имеют низкую доступность для растений, что может быть устранено путем производства нанодобровений [11]. Таким образом увеличивается растворимость железа и его биодоступность для растений благодаря малым размерам и большой площади поверхности. Также доказано, что наноформы железа в целом оказывают более сильное воздействие на растения по сравнению с ионными формами [4].

В связи с этим цель настоящего исследования – изучить значение новых препаратов на основе наноразмерных частиц при микроклональном размножении картофеля, показавших ранее свою эффективность в полевых экспериментах [5, 8].

Материалы и методы. Для достижения цели исследования были проведены лабораторные опыты по изучению влияния препаратов, разработанных в отделе биотехнологий ВНИИМЗ, – наноразмерного кремнийгуминового препарата наноБоГум-С и наночастиц железа – на рост и развитие культуральных растений картофеля (*Solanum tuberosum* L.) сорта Аррой *in vitro*. Препараты применяли при модернизации стандартной питательной среды Мурасиге-Скуга (МС) (табл. 1).

Таблица 1. Состав питательной среды Мурасиге-Скуга (ООО «БиолоТ»)

Table 1. Composition of the Murashige-Skoog nutrient medium (BioloT LLC)

Содержание макроэлементов, мг/л		Содержание микроэлементов, мг/л	
NH_4NO_3	1650	KJ	0,83
KNO_3	1900	H_3BO_3	6,20
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	440	$\text{MnSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	24,10
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	370	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	8,60
KH_2PO_4	170	$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,25
Содержание витаминов, мг/л		$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0,025
Мезоинозит	100	$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,025
Никотиновая кислота (PP)	0,5	Содержание хелата железа, мг/л	
Пиридоксин-НСI (B6)	0,5	$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	27,80
Тиамин-НСI (B1)	0,1	$\text{Na}_2\text{ЭДТА} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	37,26
Глицин	2,0		

Картофель Аррой – раннеспелый сорт столового назначения. Период вегетации 60–70 дней. НаноБоГум-С получают при ультразвуковом диспергировании гуминового препарата БоГум с метасиликатом натрия (содержащего 28 % SiO_2) в количестве 0,1 % (по SiO_2) [8]. Препарат БоГум также является разработкой ВНИИМЗ, получается путем щелочной экстракции на ферментационно-экстракционной линии, где исходным сырьем является торфонавозная смесь. Содержание гуминовых кислот в БоГум – 10–15 г/л. Для достижения наноразмеров применяется ультразвуковой гомогенизатор Sonopulse HD 3200 (Bandelin electronic, Германия) с системой управления Amplichron® в течение 20 мин. Размер частиц наноБоГум-С приходится на две области – 80–120 нм и 280–470 нм.

Наночастицы железа получают методом «зеленого синтеза» с использованием экстракта зеленого чая [5]. Зеленый чай имеет высокое содержание полифенолов, способных восстанавливать ионы металлов. Для синтеза наночастиц железа 0,1 М раствор $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ смешивали с экстрак-





том чая в объемном соотношении 1:1 и инкубировали 24 часа при температуре 55 °С. Затем раствор выпаривали, а образовавшийся осадок растирали в порошок в фарфоровой ступке пестиком.

Исследования проводили в трех опытах.

Опыт 1: введение в питательную среду по стандартной прописи Мурасиге-Скуга возрастающих доз препарата наноБоГум-С – 0,2 мл/л; 0,5 мл/л; 1 мл/л; 1,5 мл/л.

Опыт 2: введение в питательную среду по стандартной прописи Мурасиге-Скуга повышенных доз препарата наноБоГум-С – 3 мл/л; 5 мл/л.

Опыт 3: замена хелата железа в питательной среде по стандартной прописи Мурасиге-Скуга на наночастицы железа в эквивалентной дозе.

Контролем служили экспланты, выращенные на стандартной среде МС. Каждый вариант насчитывал 20 растений в трехкратной повторности. Культивирование микрорастений осуществляли в климатостатах КС-200 (Смоленское СКТБ СПУ) при температуре 21 °С, относительной влажности воздуха 70–80 %, освещенности в течение 16 часов в сутки. Длительность инкубации – 40 сут.

В качестве показателя повышения эффективности микроклонального размножения картофеля анализировали: сухую массу культуральных растений, длину побега, количество междоузлий, длину корней. Изучение морфо- и ризогенеза имеет большое значение при развитии растений, так как сказывается на дальнейшей адаптивной способности *ex vitro* и получении урожая мини-клубней, а также получении качественного материала для последующего тиражирования. Число междоузлий на побеге и скорость их формирования играют решающую роль для размножения растений *in vitro*, т.к. существует прямая зависимость между данными параметрами и возможностями черенкования микрорастений с целью получения эксплантов. Статистическую обработку проводили с помощью пакета программ Microsoft Office и «Ландшафт» (Россия). Статистическую достоверность различий биометрических показателей оценивали путем проведения однофакторного дисперсионного анализа с вычислением НСР при 5%-м уровне значимости, $n = 60$.

Результаты исследований. Полученные результаты эксперимента свидетельствуют о том, что применение препарата наноБоГум-С (табл. 2) в различных концентрациях (0,2; 0,5; 1; 1,5 мл/л) в составе среды Мурасиге-Скуга ингибировало развитие корневой системы растений картофеля, но вместе с тем оказывало ростостимулирующий эффект на побеги. Отмечено статистически значимое увеличение длины побега на 28–32 % и количества междоузлий – на 8–23 % относительно контроля. Данный эффект позволяет применять наноБоГум-С для повышения коэффициента размножения изучаемого сорта, что имеет большое значение при черенковании растений и получении эксплантов при размножении *in vitro*. Наиболее эффективно в данном отношении вводить в питательную среду препарат в дозе 1,5 мл/л.

Таблица 2. Влияние возрастающих доз препарата наноБоГум-С в составе среды Мурасиге-Скуга на биометрические показатели и массу культуральных растений картофеля сорта Arrow

Table 2. Effect of increasing doses of nanoBoGum-S in the Murashige-Skoog medium on the biometric parameters and weight of cultivated potato plants of the Arrow variety

Вариант опыта	Длина побега, см	Количество междоузлий, шт.	Длина корней, см	Сухая масса, г
МС (контроль)	7,25	9,31	8,42	0,037
МС + наноБоГум-С 0,2 мл/л	9,39	10,67	6,88	0,028
МС + наноБоГум-С 0,5 мл/л	9,27	10,02	7,72	0,031
МС + наноБоГум-С 1 мл/л	9,90	11,38	7,13	0,030
МС + наноБоГум-С 1,5 мл/л	10,33	11,48	6,19	0,036
НСР ₀₅	0,897	1,004	0,819	Различия незначимы

Применение препарата наноБоГум-С в составе среды Мурасинге-Скуга в более высоких дозах – 3 и 5 мл/л имело ряд особенностей (табл. 3). Микрорастения на модифицированной питательной среде меньше вытягивались: при сокращении длины побега на 3 и 18 % относительно контроля соответственно наблюдалось повышение количества междоузлий на 9 и 20 %. При этом сформировалась более развитая корневая система, которая была длиннее, чем на контроле со статистически значимой разницей на 21 и 33 % соответственно. Вероятно, что входящие

в состав препарата гуминовые вещества оказывают стимулирующее действие. Как отмечает И.Н. Аникина [1], биологически активные органические соединения повышают в растительных клетках активность ферментов, что способствует транспорту из питательной среды минеральных соединений и процессам анаболизма. Кроме того, М.Н. Полякова и Л.Н. Хабарова [6] отмечают существенные приросты длины корней картофеля при введении в питательную среду соединений кремния. Как показали полученные результаты, наиболее эффективная доза наноБоГум-С для введения в питательную среду Мурасиге-Скуга – 5 мл/л, при этом препарат имеет универсальное значение: как для получения эксплантов, так и для высадки растений *ex vitro*.

Таблица 3. Влияние повышенных доз препарата НаноБоГум-С в составе среды Мурасиге-Скуга на биометрические показатели и массу культуральных растений картофеля сорта Arrow

Table 3. Effect of increased doses of the drug NanoBoGum-S in the Murashi-ge-Skoog medium on the biometric parameters and weight of cultivated potato plants of the Arrow variety

Вариант опыта	Длина побега, см	Количество междоузлий, шт.	Длина корней, см	Сухая масса, г
МС (контроль)	13,11	10,24	7,44	0,031
МС + наноБоГум-С 3 мл/л	12,71	11,19	8,98	0,030
МС + наноБоГум-С 5 мл/л	10,79	12,32	9,91	0,030
НСР ₀₅	0,962	0,929	0,779	Различия незначимы

Замена хелата железа на наночастицы железа (НЧ Fe) позволили статистически значимо увеличить длину побега на 10 % относительно контроля, сухую массу микрорастений – на 44 %, что должно положительно отразиться на дальнейшем развитии растений после высадки их в грунт (табл. 4). Однако количество междоузлий у растений, выращенных на модернизированной питательной среде, не увеличилось по сравнению с контролем. Полученные результаты согласуются с мировой практикой применения наноформы железа, когда повышается биомасса различных культур [5]. Таким образом, НЧ Fe в составе питательной среды можно применять для развития более сильных растений *in vitro* с дальнейшим выращиванием их *ex vitro* и получением микроклубней.

Таблица 4. Влияние наночастиц железа в составе среды Мурасиге-Скуга на биометрические показатели и массу культуральных растений картофеля сорта Arrow

Table 4. Effect of iron nanoparticles in the Murashige-Skoog medium on the biometric parameters and mass of cultivated potato plants of the Arrow variety

Вариант	Длина побега, см	Количество междоузлий, шт.	Длина корней, см	Сухая масса, г
МС (хелат Fe)	9,68	10,22	7,75	0,032
МС (НЧ Fe)	10,64	9,71	8,21	0,046
НСР ₀₅	0,66	Различия незначимы	Различия незначимы	0,002

Заключение. На основании полученных результатов можно сделать вывод, что новые нано-препараты, разработанные во ВНИИМЗ, способствуют усилению роста и развития эксплантов картофеля *in vitro* и могут использоваться для оптимизации микроклонального размножения. Так, кремнийгуминовый препарат наноБоГум в дозе 5 мл/л в составе питательной среды Мурасиге-Скуга обеспечивал увеличение длины корневой системы микрорастений на 33 %, числа междоузлий – на 20 % относительно контроля. Замена хелата железа в питательной среде по стандартной прописи Мурасиге-Скуга на наночастицы железа в эквивалентном объеме позволило повысить сухую массу микрорастений на 44 % по сравнению с растениями, выращенными с использованием хелата железа.

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках Государственного задания ФГБНУ ФИЦ «Почвенный институт им. В.В. Докучаева» (тема № 0439-2022-0007. Разработать научно-теоретические основы применения новых биоудобрений и препаратов, предназначенных для повышения продуктивности сельскохозяйственных культур, качества и безопасности получаемой продукции и сохранения плодородия осушаемых почв).



1. Аникина И. Н. Гидрогумат как фактор повышения резистентности растений *in vitro* // Международный научно-исследовательский журнал. 2015. № 2 (33). Ч. 2. С. 8–10.
2. Безручко Е. В., Федотова Л. С. Доступный для растений кремний – фактор устойчивого производства картофеля // Агрохимия. 2021. № 8. С. 70–81.
3. Иванищев В. В. Роль железа в биохимии растений // Известия ТулГУ. Естественные науки. 2019. Вып. 3. С. 149–159.
4. Лебедев С. В., Осипова Е. А., Сальникова Е. В. Изменение количества макроэлементов в пшенице под действием различных форм железа с гуминовыми кислотами // Вестник Оренбургского государственного университета. 2015. № 6 (181). С. 73–77.
5. Любимова Н. А., Рабинович Г. Ю. Биосинтез наночастиц металлов и их апробация на семенах льна-долгунца // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2023. Т. 13. № 2. С. 263–271.
6. Полякова М. Н., Хабарова Л. Н. Влияние различных источников кремния на растения оздоровленного семенного картофеля в культуре *in vitro* // Научный вклад молодых исследователей в сохранение традиций и развитие АПК. Сборник научных трудов Международной научно-практической конференции молодых учёных и студентов. 2016. С. 54–56.
7. Рожанская О. А. Гуминовый механокомпозит как средство управления морфогенезом нута (*Cicer arietinum* L.) *in vitro* // Успехи современной науки и образования. 2016. № 11. Т. 6. С. 117–120.
8. Смирнова Ю. Д., Рабинович Г. Ю., Фомичева Н. В. Получение наноразмерного кремнегуминового препарата и его первичная апробация // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2021. Т. 11. № 3. С. 421–429.
9. Уромова И. П. и др. Биопрепарат Рибав-экстра в технологии размножения оздоровленного картофеля / И. П. Уромова, Д. А. Новиков, А. М. Машакин, И. С. Соколов, Е. В. Шихалеева, С. В. Шихалеева // Успехи современного естествознания. 2017. № 7. С. 54–58.
10. Askary M., Amirjani M. R., Saberi T. Comparison of the effects of nano-iron fertilizer with iron-chelate on growth parameters and some biochemical properties of *Catharanthus roseus* // J Plant Nutr. 2017. No 40(7). P. 974–982.
11. Liu R., Lal R. Potentials of engineered nanoparticles as fertilizers for increasing agronomic productions // Sci Total Environ. 2015. No 514. Pp. 131–139.

REFERENCES

1. Anikina I. N. Hydrohumate as a factor in increasing plant resistance *in vitro*. *International Scientific Research Journal*. 2015;2(33),2:8–10. (In Russ.).
2. Bezruchko E. V., Fedotova L. S. Silicon available for plants is a factor of sustainable potato production. *Agrochemistry*. 2021;(8):70–81. (In Russ.).
3. Ivanishchev V. V. The role of iron in plant biochemistry. *News of TulSU. Natural Sciences*. 2019;(3):149–159. (In Russ.).
4. Lebedev S. V., Osipova E. A., Salnikova E. V. Change in the amount of macronutrients in wheat under the action of various forms of iron with humic acids. *Bulletin of the Orenburg State University*. 2015;6(181):73–77. (In Russ.).
5. Lyubimova N. A., Rabinovich G. Yu. Biosynthesis of metal nanoparticles and their approbation on flax seeds. *News of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2023;13(2):263–271. (In Russ.).
6. Polyakova M. N., Khabarova L. N. The influence of various sources of silicon on plants of healthy seed potatoes in *in vitro* culture // Scientific contribution of young researchers to the preservation of traditions and the development of agriculture. Collection of scientific papers of the International Scientific and Practical Conference of young scientists and students. 2016. pp. 54–56. (In Russ.).
7. Rozhanskaya O. A. Humic mechanocomposite as a means of controlling chickpea morphogenesis (*Cicer arietinum* D.) *in vitro*. *Successes of Modern Science and Education*. 2016;11(6):117–120. (In Russ.).
8. Smirnova Yu. D., Rabinovich G. Yu., Fomicheva N. V. Preparation of a nanoscale silicohumin preparation and its primary approbation. *News of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2021;11(3):421–429. (In Russ.).
9. Uromova I. P., Novikov D. A., Mashakin A. M., Sokolov I. S., Shikhaleeva E. V., Shikhaleeva S. V. Ribav-extra biopreparation in the technology of reproduction of healthy potatoes. *Successes of Modern Natural Science*. 2017;(7):54–58. (In Russ.).
10. Askary M., Amirjani M.R., Saberi T. Comparison of the effects of nano-iron fertilizer with iron-chelate on growth parameters and some biochemical properties of *Catharanthus roseus*. *J Plant Nutr*. 2017;40(7):974–982.
11. Liu R., Lal R. Potentials of engineered nanoparticles as fertilizers for increasing agronomic productions. *Sci Total Environ*. 2015;(514):131–139.

Статья поступила в редакцию 11.11.2023; одобрена после рецензирования 15.12.2023; принята к публикации 25.12.2023.

The article was submitted 11.11.2023; approved after reviewing 15.12.2023; accepted for publication 25.12.2023.

