

О размножении картофеля микро- и миниклубнями

В статье представлена информация об опыте размножения белорусских сортов картофеля микро- и миниклубнями, накопленная к настоящему времени в БелНИИК. Она начинается с разграничения понятий микро- и миниклубней. Две среды для индукции клубнеобразования, не содержащие цитокининов, были использованы для массовой наработки микроклубней (Ø5-12 мм) 4 сортов картофеля. Урожай из пророщенных микроклубней в полевых условиях составил 23-59% от полученного из обычных семенных клубней. Миниклубни весом 8,3-30г были получены в теплице при 3 вариантах густоты посадки: 275, 625, 2500 раст/м². Самая маленькая средняя масса миниклубня 8,3г была получена для сорта Темп при густоте посадки 2500 раст/м². Результаты сопоставлены с данными других исследований о полевых испытаниях миниклубней аналогичного размера

Вегетативное размножение растений практиковали в течение многих столетий. И хотя за столь долгий срок было предложено много приёмов его усовершенствования, современные методы культуры тканей значительно расширили область и возможности его применения. Массовое распространение вирусных заболеваний на картофеле и большой ущерб, причиняемый ими урожаю и качеству клубней, вызвали необходимость производить семенной материал с использованием активных методов оздоровления, таких как культура тканей в сочетании с термохимиотерапией. Чтобы обеспечить семеноводство картофеля в оздоровленном посадочном материале за короткий срок, используются методы ускоренного размножения исходного материала в лабораторных условиях, теплице и в поле. В лабораторных условиях проводят микроклональное размножение оздоровленных растений обычным черенкованием. Растения из культуры *in vitro* могут быть использованы либо непосредственно для получения стандартных семенных клубней, либо опосредовано через стадии получения микро- или миниклубней. Микроклубнями называют клубни, полученные *in vitro* (обычно 2 — 10 мм в диаметре), миниклубнями — мелкие клубни (обычно 5 — 25 мм в диаметре), полученные из культивируемых *in vitro* растений в условиях *in vivo* (почва или её заменители) [1,2]. Средние и крупные микроклубни совпадают по размеру с мелкими миниклубнями, что часто вызывает путаницу в понятиях.

Микроклубни облегчают хранение коллекционных

The article contains the information about propagation of potato by micro- and minitubers in Belarussian Research Institute for Potato Growing. It begins with the definitions of micro- and minitubers. Two tuber-inducing media without the addition of cytokinins: first with agar and second — liquid were used for mass production of microtubers (dia 5—12 mm) of 4 potato cultivars. Obtained microtubers after sprouting were planted in field. Yield of microtubers was 23—59% to that of conventional seed tubers. Minitubers (8.3—30g) of 4 potato cultivars were obtained in greenhouse from seedlings at 3 planting densities on 1 m²: 275, 625, 2500. The smallest average minituber weight 8.3g was obtained at planting density 2500 for cv. Temp. Our results were compared with the data of other researchers about field performance of minitubers of similar dimensions

образцов, их транспортировку и обмен генофондом между селекционными учреждениями [3—5], могут быть использованы для накопления размножаемого материала в межсезонье, а также для непосредственного высаживания в теплицу и поле [6—7]. В рамках данной статьи невозможно дать анализ различных методов получения микроклубней, которым, начиная с 90-х годов XX века, были посвящены десятки статей во многих странах мира. Отметим лишь возможность получения микроклубней как на агаризованной [3—5,8], так и жидкой средах [8,9], среде без агара на вате [10], средах с фитогормонами [5] и без них [4,11], в биореакторе [12]. Обязательным является наличие повышенной концентрации сахарозы (4—10%), пониженной плюсовой температуры (4—10°C), короткого светового дня (8 ч) или полной темноты.

В последние годы широкое распространение получило производство миниклубней как одного из способов ускоренного размножения оздоровленного материала [1,2,13—16]. При производстве миниклубней в защищённом грунте посредством загущенной посадки осуществляется экономное расходование площади закрытого грунта, позволяющего осуществлять более строгий фитосанитарный контроль, чем в поле [13]. Кроме того, использование мелких клубней на семенные цели позволяет в 1,5 — 2 раза снизить расход посадочного материала на гектар, уменьшает затраты на его хранение, переборку и транспортировку [1,2]. Сравнительно небольшие клубни меньше повреждаются при механи-

зированной уборке и доработке при закладке на хранение, легче подвергаются предпосевной обработке фунгицидами и инсектицидами [1]. По мнению Ahloowalia [1], микроклубни в качестве семенного материала слишком малы, неравномерно всходят и развиваются, не гарантируют идентичность сорта при репродуцировании. В то время как микроклубни относительно большие, доступнее для ручной переборки, аналогичны исходным сортам по форме клубней, окраске кожуры и её текстуре.

В настоящей статье представлена информация об опыте размножения белорусских сортов микро- и микроклубнями, накопленная в БелНИИ картофелеводства к настоящему времени.

В наших исследованиях мы остановились на двух разработанных ранее [8] вариантах получения микроклубней, основанных на агаризованной и жидкой средах и отработанных на сортах картофеля белорусской селекции разных сроков спелости (Белорусский ранний, Добро, Отрада, Орбита, Нарочь, Огонёк, Белорусский 3, Темп). Отличительной чертой обоих вариантов является отсутствие в питательных средах цитокининов, увеличивающих риск появления отклонений от размножаемого генотипа.

Оба варианта были использованы для наработки микроклубней четырёх сортов различных сроков спелости (табл. 1). Использование жидкой среды обеспечивало 100%-ное образование микроклубней более крупных по весу и в более короткие сроки по сравнению с агаризованной средой. Микроклубни убирали, озеленяли на свету и хранили в бытовом холодильнике. Хорошо сохранившиеся микроклубни с ростками были высажены в поле на десяти клубневых делянках в четырёхкратной повторности. Глубина посадки до 5 см. Схема посадки 70 x 30 см. Контролем служили стандартные семенные клубни. Растения из микроклубней образовывали меньшее количество стеблей (табл. 2). Число стеблей в кусте варьировало в зависимости от сорта в пределах 1—2 с преобладанием растений с одним стеблем (исключение Нарочь). Преимущественное образо-

вание растений с одним стеблем описывали также голландские учёные [17] для трёх сортов различной группы спелости независимо от размера высаживаемых микроклубней (5 классов: 0,13—0,24; 0,25—0,49; 0,5—0,99; 1,0—1,99; 2,0—3,99 г). Уборку проводили через 100 дней после посадки. Масса клубней с куста из микроклубней колебалась в пределах 23—59%, а количество клубней с куста в пределах 43,8—115,6% от полученных при использовании стандартных семенных клубней (табл. 2). В опытах Lommen и Struik [17] масса клубней, полученная с 1 м², варьировала для 5 классов в пределах 24,4—54,7% от полученной для стандартных семенных клубней при той же самой схеме посадки. Урожайность растений из микроклубней зависела от генотипа (табл. 2), что продемонстрировано также в опытах итальянцев на примере 13 сортов [7]. При использовании микроклубней в качестве посадочного материала уменьшилась доля клубней весом >90г за счёт увеличения их количества весом до 50г при сохранении процентного отношения средних клубней (50—90г) практически на том же самом уровне (табл. 2). Надземные и подземные части растений из микро- и микроклубней не отличались по фенотипу. Биохимический состав клубней (содержание крахмала, сухого вещества, сырого протеина, суммарного белка, витамина С и редуцирующих сахаров, %) слабо зависел от посадочного материала (данные не приведены), что соответствует сообщению Lommen и Struik [17], сопоставившими среднее содержание сухого вещества в урожае 5 сортов картофеля из микроклубней 5 классов и стандартных семенных клубней.

Размножение оздоровленного материала микроклубнями осуществляют пассажем растений из культуры *in vitro* на различные субстраты [13, 14, 16] или питательные растворы (Дока, [15]) в строго контролируемых условиях *in vivo*, как правило, при загущённой посадке [13—15] и часто сопровождают несколькими циклами черенкования посредством укоренения черенков материнского растения [13, 15]. Выход микроклубней с единицы площади возрастает с увеличением густоты посадки

Таблица 1. Индукция клубнеобразования *in vitro*

Сорт	Количество пробирок (колб), шт.	Пробирки (колбы) с мкл, %	Урожай, мг/шт. в 1 пробирке (колбе)	Сутки до		Распределение микроклубней по фракциям, %		
				начала образования мкл	уборки мкл.	крупная, 8-12 мм	средняя, 5-7 мм	мелкая, до 5 мм
На агаризованной среде								
Пригожий 2	100	93	286/1,3	18	90	260-810 мг	80-250 мг	10-75 мг
Ласунак	91	99	250/1,2	24	92	25,8	53,6	20,6
Нарочь	117	100	389/1,3	14	106	44,2	41,0	14,8
Темп	333	95	323/1,3	25	108	30,6	52,5	16,9
На жидкой среде								
Пригожий 2	78	100	1660/6,7	25	70	320-1200 мг	90-310 мг	20-80 мг
Ласунак	74	100	1930/9,4	23	70	31,9	33,6	34,5
Нарочь	66	100	1247/6,2	14	98	35,2	35,9	28,9
Темп	59	100	1840/7,5	21	78	16,8	50,3	32,9
						30,1	37,6	32,3

Таблица 2. Данные по элементам урожайности и количеству стеблей в кусте для 4 сортов картофеля, выращенных из стандартных семенных клубней (К) и микроклубней (Мк)

Сорт	Посадочный материал	Число стеблей в кусте, шт	Элементы урожайности		Распределение клубней по весу, %		
			масса клубней в кусте, г	количество клубней в кусте, шт.	>90 г	50-90 г	до 50 г
Пригожий 2	К	4,2	858,8±156,7	19,5±3,6	13,8	22,9	63,3
	Мк	1,3	506,5±30,3	14,6±1,2	9,8	22,6	67,6
Ласунак	К	4,2	1176,8±77,4	13,7±2,0	45,1	17,6	37,3
	Мк	1,1	271,5±23,5	6,0±1,1	25,0	25,0	50,0
Нарочь	К	3,1	480,9±82,3	12,8±2,2	18,4	7,0	74,6
	Мк	2,0	264,1±23,1	14,8±1,1	9,6	9,6	80,8
Темп	К	2,6	680,0±67,6	9,5±0,8	28,7	25,0	46,3
	Мк	1,2	281,5±29,6	9,3±0,7	13,2	21,9	64,9

[14], но при этом уменьшается их количество под одним растением и увеличивается доля мелких клубней. В среднем по 5 сортам различных сроков созревания доля микроклубней с диаметром меньше 25 мм превышала 80% для всех испытанных вариантов густоты посадки: 150, 250, 350 растений/м². Стоимость 1 микроклубня при переходе от густоты посадки с 150 к 250 возрастала на 23% и составляла соответственно 0,13 и 0,16 польских злотых [14]. Зависимость урожая микроклубней от состава субстрата при выращивании их в рулонах продемонстрирована в опытах Подлужного [16]. Внесение в торфо-смесь «Двина» 5—10% Биона сопровождалось увеличением выхода микроклубней с 1 рулона в 1,5—2 раза, а массы клубней в 1,7—3 раза. Доля крупной фракции (более 30 мм в диаметре) увеличивалась с 6,5 до 10—11%, а мелкой (менее 15 мм) уменьшалась от 58 до 41—47%.

Урожай из микроклубней в полевых условиях в значительной степени определяется размером материнских клубней [1, 15, 17]. Для микроклубней, сопоставимых по размеру с микроклубнями, масса клубней с 1 м² при схеме посадки 75 x 20 см составляла для классов: 0,13—0,24 г; 0,25—0,49 г; 0,5—0,99 г, соответственно 24,4, 29,6, 41,9% от полученной из стандартных семенных клубней [17]; для микроклубней классов 1,00—1,99 г и 2,00—3,99 г, соответственно 43,8 и 54,7%. Средняя масса с куста для сортов Луговской и Невский составила 59% от получаемой из супер-суперэлиты (Ø40—45мм) для микроклубней размером 5—15 мм и 78,7% для микроклубней более 20 мм в диаметре [15].

В Белорусском НИИ картофелеводства микроклубни получали из верхушечных и пазушных побегов (черенков) путём выращивания *in vitro* культивируемых растений на торфе. Получению микроклубней предшествовали этапы: оздоровление, микроклональное размножение в культуре *in vitro*, выращивание маточных растений в теплице. Растения из культуры *in vitro* выращивали на торфе. На 1 м² высаживали 16 растений. Во время вегетации проводили трёхкратную подкормку раствором Кноппа, нитрофоской в соответствии с их развитием. Основное условие при выращивании в закрытом грунте — борьба с тлей — переносчиком вирусов. Наиболее эффективным инсектицидом в борьбе с тлями в тепличных условиях является пиримор. Периодичность опрыскивания — один

раз в 7—10 дней. Чтобы предупредить устойчивость к афидиду в закрытом грунте, следует чередовать его с инсектицидом, отличающимся по химическому составу действующего вещества (например, децис). Проводят также профилактическую обработку против фитофторы. Опыт проводили на четырёх сортах картофеля различной группы спелости: Белорусский ранний, Явар, Рамонок, Темп. В фазу бутонизации — начало цветения каждое растение проверяли на наличие вирусной инфекции методом ИФА. Больные растения удаляли вместе с субстратом. Здоровые растения использовали для получения черенков. Стерильным инструментом срезали верхушку для снятия апикального доминирования. С одного маточного растения обычно получали от 100 до 200 черенков. Количество черенков зависело от сорта. У сортов ранней и средней группы спелости количество черенков больше, чем у поздних сортов. Черенки можно снимать в течение всего вегетационного периода, т.е. начиная с фазы бутонизации и до начала отмирания ботвы. Черенки длиной 10 см с одним листом высаживали на глубину междоузлия и притеняли на неделю для оптимизации процесса укоренения. С этой же целью их периодически увлажняли дождевиком. Когда черенки трогались в рост, их 2—3 раза подкармливали раствором Кноппа через 7—10 дней. Обработку против тлей и фитофторы проводили в той же последовательности, что и при выращивании растений. Уборку микроклубней проводили вручную через 70—90 дней после посадки в зависимости от группы спелости. Полученные результаты (средние за 3 года) представлены на рисунке. В диаграммном изображении дано количество клубней с 1 м² площади теплицы при разной густоте посадки, графическом — масса клубней. Наблюдалось постоянное нарастание выхода клубней и по количеству и по массе при увеличении густоты посадки с 16 до 2500 растений на 1 м² с каждой следующей градацией. Наибольшие скачки по элементам урожайности наблюдались для сортов Белорусский ранний, Явар, Рамонок при переходе с густоты посадки 625 на 2500 раст/м². За исключением сорта Белорусский ранний, для которого наибольший скачок в количестве клубней на 1 м² был при переходе с градации 16 на 275 (4 раза), а не с 625 на 2500 (3,2 раза). Для сорта Темп максимальное увеличение урожайности наблюдалось при переходе с 16 на 275 раст/м². Увеличение урожая при переходе с

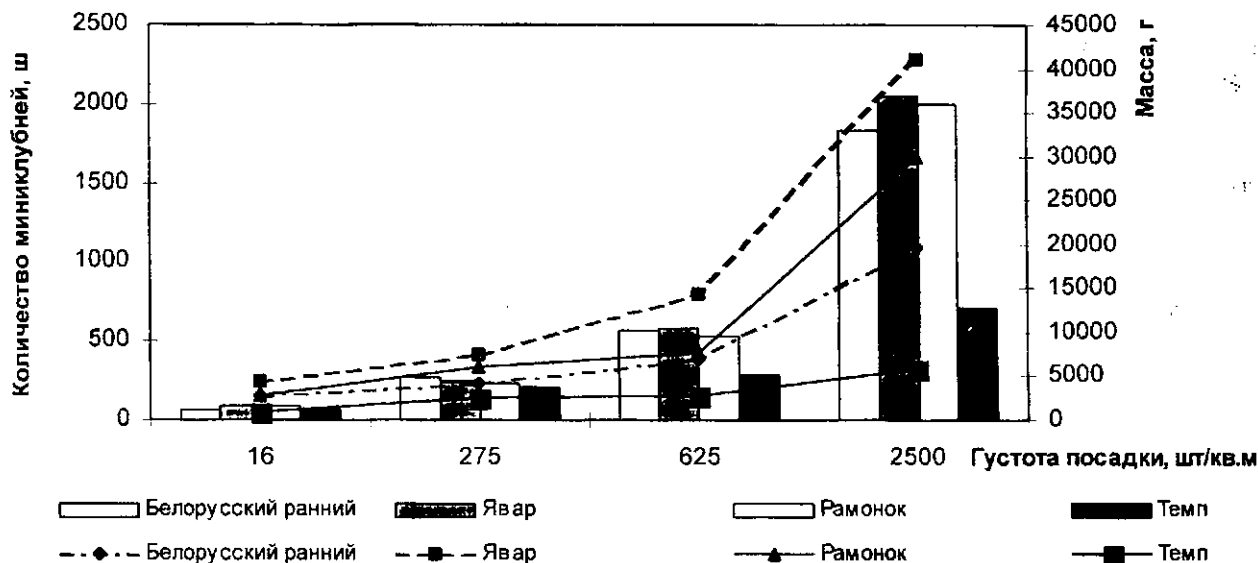


Рис. Влияние густоты посадки на количество и массу миниклубней

градации 275 на 625 для всех сортов было не столь значительным и колебалось в пределах 1,1—2,3 раза. Самая маленькая в опыте средняя масса клубня была при наибольшей загущенности (2500 раст/м²) у сорта Темп и составила 8,3 г. Для сортов Белорусский ранний, Явар, Рамонек она была соответственно 10,7; 20; и 15 г. Следует отметить, что в Ирландии [1] для производства семенного картофеля в расчёт берётся средняя масса миниклубня в 7 г. Резюмируя, можно говорить о наибольшей приемлемости для ускоренного размножения варианта получения миниклубней с густотой посадки 2500 шт/м². Расчёт экономической эффективности описанного способа получения миниклубней был выполнен кандидатом экономических наук Лось Г.А., основываясь на количестве клубней, среднем для 4 сортов, 3 вариантов густоты посадки и использовании верхушечных и пазушных побегов от маточного растения. Стоимость 1 клубня, полученного непосредственно из растений культивируемых *in vitro* при густоте посадки 16 раст/м², в 19 раз превышала стоимость 1 миниклубня и составила соответственно 0,29 и 0,0153 \$ США.

Литература

- Ahloowalia B.S. Mini-tubers for seed potato production // *Farm Food*. — 1994. Vol.4, N2. — P.4-6.
- Coombs D.T. The use of minitubers in commercial seed production // *Abstracts 11th Triennial Conference of the European Association for Potato Research (8-13th July 1990) / EAPR*. — Edinburg, 1990. — P.329.
- Трускинов Э.В. Клубнеобразование в культуре тканевой картофеля как фактор его размножения и длительного хранения // *Бюл. ВИР*. — 1980. — Вып. 105. — С.77-79.
- Tiem R. An *in vitro* potato cultivar collection: microtuberization and storage of microtuber // *Plant Genetic Resources Newsletter*. — 1992. — N88-89. — P.17-19.
- Zamora A., Paet C. Tissue culture: *in vitro* maintenance and production of microtubers // *Potato seed systems in transition: proceedings of the SAPPAD Seed Systems Workshop / SAPPAD*. — Philippines, 1992, Aug. — P.134-148.
- Rapid seed multiplication by planting into bed microtubers and *in vitro* plants / Wiersema S.G., Cabello R., Tovar P., Dodds J.H. // *Potato Research*. — 1987. — Vol.30, N1. — P.117-120.
- Genotype influence on *in vitro* induction, dormancy length,

advancing age and agronomical performance of potato microtubers (*Solanum tuberosum* L.) / Rannali P., Bizarri M., Borghi L., Mari M. // *Annals of Applied Biology*. — 1994. — Vol.125, N1. — P.161-172.

8. Условия индукции клубнеобразования *in vitro* для сортов картофеля белорусской селекции / Яковлева Г.А., Подобед Н.И., Кожушко Н.В., Скоробогатая О.Е. // *Картофельводство: Научн.тр. / Белорус.НИИ картофелеводства*. — Минск, 1994. — Вып.8. — С.65-70.

9. Rossel G., DeBertold F.G., Tizio R. *In vitro* mass tuberization as a contribution to potato micropropagation // *Potato Research*. — 1987. — Vol.30, N1. — P.111-116.

10. Способ микроклонального размножения картофеля: А.С. 1792971. А.П.Ермишин, Е.В.Воронкова, И.О.Шуралева; Опубл. 7.02.93.//*Бюл. Открытия и изобретения*. -1993 -N5 -С.13

11. Garner N., Blake J. The induction and development of potato microtuber *in vitro* on media free of growth regulating substances // *Annals of Botany*. — 1989. — Vol.63. — P.663-674.

12. Юрьева Н.О., Орешников А.В. Регулирование процесса клубнеобразования в условиях биореактора с помощью изменения формы и концентрации сахара // *Молекулярная генетика и биотехнология: Матер.межд.конф.(Минск, 6-8 апреля 1998 г.) / Отд.биол.наук НАН Беларуси, Бел.общ.генет. и селекционер, ИГиЦ НАН Беларуси, ИЭБ НАН Беларуси*. — Минск, 1998. — С.292.

13. Коновалова Г.И. Получение миниклубней на оздоровленной основе в условиях закрытого грунта // *Перспективы развития научных исследований по картофелеводству: Тез. докл. научн. конф.(Минск, 3-4 августа 1993 г.) / Мин.с.-х. и продов. Респ. Беларусь, ААН РБ, Белорус.НИИ картофелеводства*. — Минск, 1993. — С.98.

14. Goliszewski W. Minitubers production under screens. // *Biuletyn Instytutu Ziemiaka*. — Bonin, 1996. — N 47. — P.5-14.

15. Лагушкин В.В., Елисеєва Л.Г., Личко Н.М. Миниклубни - высококачественный посадочный материал // *Картофель, овощные и бахчевые культуры*. — 1997. — N6. — С.6.

16. Поддужный Г.И. Использование ионитных субстратов при выращивании оздоровленных миниклубней картофеля // *Сельскохозяйственная биотехнология: Матер.межд.конф. (Орск, 14-17 декабря 1998 г.) / МСХП РБ, НАН Беларуси, ААН РБ, БСХА*, — Горки, 1998. — С.137-140.

17. Lommen W.J.M., Struik P.C. Field performance of potato minitubers with different fresh weights and conventional seed tubers: Crop establishment and yield formation // *Potato Research*. — 1994. — Vol.37. — P.301-313.