

УДК 635.21:631.531.02:573.6

## МЕТОДИКА МИКРОКЛОНАЛЬНОГО РАЗМНОЖЕНИЯ И ПРОИЗВОДСТВО ОЗДОРОВЛЕННЫХ МИНИКЛУБНЕЙ В ОРИГИНАЛЬНОМ СЕМЕНОВОДСТВЕ КАРТОФЕЛЯ В УСЛОВИЯХ ВЫСОКОЙ ИНФЕКЦИОННОЙ НАГРУЗКИ САМАРСКОЙ ОБЛАСТИ

© 2017 С.Л. Рубцов, А.В. Милехин, С.Н. Шевченко, А.Л. Бакунов, Н.Н. Дмитриева

ФГБНУ «Самарский НИИСХ», п.г.т. Безенчук Самарской обл.

Статья поступила в редакцию 16.11.2017

Представлены результаты исследований по направлению оригинальное семеноводство отечественных сортов картофеля с использованием биотехнологических методов в условиях *in vitro* и *in vivo*. Разработана методика оздоровления и последующего микроклонального размножения безвирусного семенного материала. Создана биотехнологическая установка по круглогодичному производству миниклубней в условиях замкнутых агро-экосистем.

*Ключевые слова:* оригинальное семеноводство картофеля, микроклональное размножение, безвирусные микрорастения, миниклубни, оздоровление растений, биотехнологические установки по производству миниклубней.

### ВВЕДЕНИЕ

Биологический потенциал современных сортов картофеля позволяет получать в оптимальных условиях с 1 га 80-100 тонн товарных клубней. Однако в реальных условиях урожайность часто составляет 30-40% от уровня биоклиматического потенциала культуры в регионе. Как правило это связано с комплексом факторов от неправильно выбранного сорта и низкого качества используемого семенного материала до грубейшего нарушения технологических приемов выращивания, органического питания, защиты растений и хранения картофеля.

Производство качественных семян и высокие темпы размножения сортов картофеля в странах с развитым картофелеводством основаны на применении биотехнологических методов оздоровления и последующего микроклонального размножения в культуре *in vitro* и производства исходных микро- и миниклубней в условиях *in vivo*.

В настоящее время в мировой практике для оздоровления и производства безвирус-

ных микрорастений используется апикальная меристема в комбинации с методами термо- и химиотерапии. Однако данный способ оздоровления является достаточно продолжительным по времени, а главное может привести к появлению самоклональной изменчивости, т.е. генетически закрепленным изменениям используемого сорта, что безусловно сказывается на последующем качестве семенного материала. Безвирусный материал полученный данным способом необходимо подвергать последующему грунтовому контролю для полной идентификации соответствия генетической карте интактного сорта, при этом к процессу оздоровления добавляется еще один вегетационный год. В целях ускорения процедуры оздоровления и получения безвирусных микрорастений известны попытки использования в качестве объекта этилированных клубневых ростков. Данный метод может существенно сократить период оздоровления, однако широкое его применение должно сопровождаться четким технологическим регламентом нарушение которого может привести к экономическому убытку семеноводческого предприятия.

Высокая значимость при производстве исходного семенного материала отводится разработке технологии дальнейшего использования микрорастений и получению из них микро- и миниклубней. Широко применимая схема, выращивание безвирусных микрорастений в сооружениях защищенного грунта как в течение весенне-летнего периода, так и в режиме круглого года. Однако, при использовании данной схемы продуктивность редко превышает 10-12 клубней с одного растения, а наличие нестерильных субстратов может привести к вторичному заражению фитоинфекцией.

*Рубцов Сергей Леонидович, научный сотрудник лаборатории биотехнологии сельскохозяйственных растений*

*Милехин Алексей Викторович, кандидат сельскохозяйственных наук, Заведующий лабораторией биотехнологии сельскохозяйственных растений.*

*E-mail: samniish@mail.ru*

*Шевченко Сергей Николаевич, член-корреспондент РАН, доктор сельскохозяйственных наук, директор.*

*Бакунов Алексей Львович, кандидат сельскохозяйственных наук, ведущий научный сотрудник лаборатории биотехнологии сельскохозяйственных культур.*

*E-mail: bac24@yandex.ru*

*Дмитриева Надежда Николаевна, старший научный сотрудник лаборатории биотехнологии сельскохозяйственных растений.*

Высокую востребованность в промышленном производстве исходного оригинального семенного материала, в последнее время получило применение биотехнологических установок и модулей различного технического исполнения. Одним из основных отличительных элементов создаваемых современных установок является способ подачи питательного раствора, в зависимости от которого они разделяются на аэропонные и гидропонные. Использование установок возможно в любом техническом помещении, в условиях полной изоляции от возможного вторичного поражения вирусной, микоплазменной, бактериальной или грибной фитоинфекцией. Однако и данное инновационное направление имеет ряд значимых ограничений, главным из которых является высокое энергопотребление установок используемое при производстве миниклубней, а в следствии высокая стоимость семян картофеля.

В связи с выше сказанным высокую актуальность и востребованность имеют поисковые научные исследования направленные на максимальное снижение затратного механизма при производстве исходного семенного материала картофеля как в условиях *in vitro*, так и *in vivo*.

Разработанная в ФГБНУ «Самарский НИИСХ» методика микроклонального размножения и технология производства оздоровленных миниклубней в оригинальном семеноводстве картофеля в условиях высокой инфекционной нагрузки Самарской области основана на результатах многолетних исследований лаборатории биотехнологии сельскохозяйственных растений по выявлению экономически-эффективных приемов оздоровления и микроклонального размножения картофеля при оптимальных затратах времени, рабочей силы, материальных и энергетических ресурсов.

Особенностью новой технологии является повышение тщательности диагностики сортовых и посевных качеств исходного материала, перенос основных объемов этой работы на стадию отбора родоначальных растений, ориентирование не на оздоровление, а на ускоренное размножение изначально здорового материала.

Использование разработанной технологии эффективно повышает урожайность и качество семенного картофеля в питомниках оригинального семеноводства.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Поисковые научные исследования были проведены в 2016-2017 гг. на материально-технической базе лаборатории биотехнологии сельскохозяйственных растений ФГБНУ «Самарский НИИСХ» в рамках выполнения комплексного плана научных исследований ФАНО

России «Развитие селекции и семеноводства картофеля». При разработке методики использовались сорта отечественной селекции Жигулевский, Ильинский, Удача, Жуковский ранний. Оздоровленные микрорастения *in vitro* были получены из банка безвирусных сортов картофеля ФГБНУ «ВНИИКХ». Собственное оздоровление и введение сортов в стерильные условия *in vitro* осуществлено посредством отбора клонов в полевых питомниках размножения новых сортов или в питомнике исходного материала, с многократной оценкой ИФА- и ПЦР-методами на латентную вирусную инфекцию листьев и клубней. Стерилизацию этилированных ростков проводили в 2 этапа: 1) предобработка 2% гипохлорита натрия «Domestos» в течении 15 мин с последующей промывкой в проточной воде не менее 15 мин; 2) основная стерилизация ростков в условиях ламинар-бокса различными стерилизующими агентами (70%-й этанол, 50%-й раствор дезинфицирующего средства «Белизна», 3%-я перекись водорода, 15%-я перекись водорода) с последующей трехкратной промывкой стерильной дистиллированной водой. При работе с растениями в культуре *in vitro* использовали питательную среду Мурасига и Скуга в модификации Украинского НИИКХ с добавлением препаратов Мивал-Агро, Лигногумат, Рибав-Экстра, Крезацин. Производство миниклубней осуществлено на биотехнологических установках различного технического исполнения «КД-10», «Урожай», а также собственной разработки. При выращивании миниклубней использован аэро-гидропонный способ подачи питательного раствора. Сбор клубней осуществлен в ручную. Оценка биохимического состава клубней оценивали в лаборатории технологического-аналитического сервиса ФГБНУ «Самарский НИИСХ» по общепринятым методикам.

Математическую обработку экспериментальных данных проводили методом дисперсионного анализа по Доспехову Б.А, с использованием пакета статистических программ «Статистика».

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Разработанная схема и методика получения и производства исходного безвирусного семенного материала картофеля включает пять основных технологических этапов:

**I этап.** Отбор исходного материала;

**II этап.** Введение сорта в стерильную культуру *in vitro*;

**III этап.** Микроклональное размножение и тиражирование сорта в условиях *in vitro*;

**IV этап.** Производство миниклубней заданного сорта с использованием биотехнологических установок;

**V этап.** Хранение мини клубней и подготовка к высадке в полевые условия;

#### **I этап. Отбор исходного материала**

Первичный отбор растений для оздоровления в культуре *in vitro* проводят в питомнике размножения новых сортов или в питомнике исходного материала. Во время бутонизации-цветения отмечают бумажными этикетками с проставленными номерами растения, типичные для данного сорта, абсолютно здоровые по внешнему виду (доли листа равномерно окрашены, гладкие, без признаков крапчатости, складчатости, скручивания или закручивания листьев), со средним или выше среднего количеством стеблей.

Отбору подлежат не менее 1000 типичных по морфологическим признакам заданному сорту картофеля полевых клонов.

У отобранных растений берут листовую пробу для проведения диагностики методом иммуноферментного анализа (ИФА) на наличие латентной вирусной инфекции. На основе анализа проводят отбор и для последующей работы оставляют растения, не содержащие вирусной инфекции. Чтобы предотвратить отобранные растения от заражения болезнями, необходимо уничтожить ботву не позднее чем через 10 дней после начала массового лета тлей. Клубни убирают примерно через две недели после удаления ботвы. При этом окончательно оценивают растения по урожаю. Во время уборки применяют следующие критерии отбора: клубни по форме типичны для данного сорта; без признаков болезней, передающихся клубнями; достаточное количество семенных клубней; переход от крупных клубней к мелким обычный, типичный для основной массы здоровых растений. По результатам оценки отбирают не менее 5-10 клубней от каждого безвирусного полевого клона для дальнейшего клубневого анализа. В период хранения данные клубни идентифицируются по биохимическим параметрам с показателями сорта.

В зимний период, спустя 30-ти дневного периода покоя, при пониженных температурах, клубни извлекают из хранилища и раскладывают в теплом помещении для проращивания. Полученные ростки, по одному от каждого клубня отобранного полевого клона используют для проведения диагностики методом иммуноферментного анализа (ИФА) на наличие латентной вирусной инфекции. На основе анализа проводят отбор и для последующей работы оставляют клубни клонов, не содержащие вирусной инфекции.

В дальнейшем клубни клонов прошедшие отбор по листовой и клубневой диагностике поступают в лабораторию биотехнологии для стерилизации и введения в культуру *in vitro*. В лаборатории все клубни клона нумеруются, от каждого

клубня отделяются этилированные ростки из них один высаживается в кассеты с торфяным стерильным субстратом остальные поступают на стерилизацию для введения в *in vitro*.

Кассеты с высаженными ростками клонов помещают в условия фитотрона под искусственное освещение 7-10 тыс. люкс, световой период 16 часов, влажность воздуха 70%. Полив по необходимости. Отрастающие растения в дальнейшем используют для проведения диагностики методом иммуноферментного анализа (ИФА) на наличие латентной вирусной инфекции.

#### **II этап. Введение сорта в стерильную культуру *in vitro***

Основным условием успешного получения и выращивания культуры в условиях *in vitro* является стерилизация растительных объектов, которая заключается в убивании грибных и бактериальных спор на внешней поверхности без повреждения внутренних тканей. Для этого используют различные стерилизующие вещества.

Вид стерилизующего агента, его концентрация и время действия, зависящие от особенностей тканей исходных растений, необходимо подобрать таким образом, чтобы убить микроорганизмы и не повредить ткани экспланта. Еще одним важным условием является то, что стерилизующее вещество должно легко удаляться из ткани промывкой дистиллированной водой или разлагаться. Иначе происходит отравление тканей, что негативно влияет на дальнейший рост культуры. Чаще всего для поверхностной стерилизации растительных тканей используют соединения, содержащие активный хлор (гипохлорит натрия, гипохлорит кальция, хлорамин), ртутные препараты (сулема, диацид) и окислители (перекись водорода, перманганат калия), этиловый спирт, реже - концентрированную серную кислоту, препараты азотнокислого серебра и антибиотики. Эффективность стерилизации повышается при добавлении на 1 л стерилизующего агента 5-6 капель Твин-80 или Твин-20.

Для поверхностной стерилизации этилированных ростков нами была применена двухэтапная стерилизация с предварительной и последующей промывкой водой (таблица 1).

В ходе научного эксперимента было установлено, что наиболее приемлемым и эффективным способом стерилизации этилированных ростков является использование 70%-ного этанола с предварительной обработкой 2%-ным раствором гипохлорита натрия. Выход неинфицированных эксплантов составил 95%, из них 80% жизнеспособных.

Далее, в условиях стерильной комнаты, в ламинар боксе на поверхности стерильной чашки-петри у каждого этилированного рост-

**Таблица 1.** Эффективность стерилизации этилированных ростков в зависимости от стерилизующего агента (ФГБНУ «Самарский НИИСХ», 2017 г.)

Способ стерилизации			Количество культур, %		
предобработка 2%-м Domestos (t, мин)	основной агент	t, мин.	асептических жизнеспособных	асептических нежизнеспособных	инфицированных
15	Этанол (70%)	1	80,0	15,0	5,0
15	Белизна (50%)	5	60,5	0,0	39,5
15	Перекись водорода (3%)	5	25,0	0,0	75,0
15	Перекись водорода (15%)	3	42,0	30,0	28,0

ка удаляется нижняя (обожженная стерилизующими агентами) часть и росток помещается в пробирку с агаризованной питательной средой. Пробирки выставляются на полки в световой комнате для активации точек роста. В течении 20-ти дней на ростке формируется 2-3 позеленевших отводка которые в условиях стерильной комнаты отделяются от маточного ростка и помещаются в стеклянные пробирки на свежую питательную среду.

Уже при первом пассаже отмечается различная сила роста отводков. Менее активные выбраковываются. Период роста отводка до ватно-марлевой пробки и готовности к следующему пассажиру занимает не более 30-ти дней.

Спустя два пассажа от каждого отводка можно получит 10-15 нормально развитых микрорастений *in vitro* от которых отбирают два растения для проведения анализа на наличие вирусной инфекции. Одно поступает для ИФА диагностики, в случае положительного прохождения, второе растение поступает на ПЦР диагностику.

При наличии вирусной инфекции после ИФА-анализа линия полностью бракуется, при отсутствии инфекции после ИФА и ПЦР диагностики линия поступает для микрклонального размножения и тиражирования.

### **III этап. Микрклональное размножение и тиражирование сорта в условиях *in vitro***

Исходный безвирусный *in vitro* материал поступивший на тиражирование периодически черенкуют и пересаживают на свежую питательную среду. В целях сокращения периода между пассажами, а также для увеличения коэффици-

ента размножения принято использовать в составе базовой питательной среды различные органо-минеральные добавки стимулирующего характера. В наших экспериментах мы использовали питательную среду Мурасига и Скуга в модификации Украинского НИИ картофельного хозяйства с добавлением коммерческих препаратов Мивал Агро, Лигногумат, Рибав Экстра и Крезацин. Препараты добавлялись при замешивании среды до стерилизации в автоклаве. Расчеренкованные растения устанавливались в световой комнате и выращивались при стандартных условиях культивирования.

В процессе культивирования было установлено общее положительное влияние органо-минеральных добавок на рост и коэффициент размножения безвирусных микрорастений различных сортов картофеля (таблица 2).

Достоверно значимое влияние как на высоту растений, так и на коэффициент размножения было отмечено на сортах Жигулевский, Ароза и Розара при использовании препаратов Крезацин и Мивал Агро, кроме этого на сорте Розара данная особенность отмечена и при использовании Рибав Экстра и Лигногумат. В среднем по опыту превышение контроля по высоте растений варьировало в пределах 20-30%, в то время как по коэффициенту размножения 30-45%. Таким образом, для увеличения коэффициента размножения и сокращения периодов между пассажами при микрклональном размножении безвирусных микрорастений картофеля рекомендуется в базовую питательную среду добавлять органо-минеральные добавки Крезацин и Мивал Агро. Также положительное влияние на данные показатели может оказать использо-

**Таблица 2.** Биометрические показатели микрорастений картофеля при выращивании на различных питательных средах (ФГБНУ «Самарский НИИСХ», 2017 г.)

Питательная среда	Жигулевский		Жуковский ранний		Ильинский		Удача		Ароза		Розара	
	Высота растения, см	Коэф. размн.	Высота растения, см	Коэф. размн.	Высота растения, см	Коэф. размн.	Высота растения, см	Коэф. размн.	Высота растения, см	Коэф. размн.	Высота растения, см	Коэф. размн.
МС УкрНИИ (контроль)	7,6	5,6	6,7	5,0	7,1	4,5	8,8	6,0	8,5	5,5	5,0	5,2
МС УкрНИИ + Рибав Экстра	8,0	4,9	7,4	4,2	6,9	4,2	8,9	5,8	9,6	6,9	7,2	7,6
МС УкрНИИ + Литногулат	7,8	4,5	7,5	4,6	5,9	4,1	7,4	4,8	9,5	5,3	6,1	6,6
МС УкрНИИ + Крезацин	9,8	7,4	8,8	6,7	8,9	6,4	9,8	7,7	10,3	8,0	6,5	7,1
МС УкрНИИ + Мивал Агро	9,8	7,3	8,4	6,6	9,0	6,4	9,4	7,4	10,2	7,7	6,5	6,8
<b>НСР<sub>0,5</sub></b>	<b>1,5</b>	<b>1,0</b>	<b>2,4</b>	<b>1,3</b>	<b>2,6</b>	<b>1,3</b>	<b>1,2</b>	<b>0,9</b>	<b>1,2</b>	<b>0,8</b>	<b>1,0</b>	<b>1,1</b>

вание препаратов Рибав Экстра и Лигногумат. В тоже время необходимо отметить, что выбор препарата и его концентрации необходимо устанавливать опытным путем для каждого конкретного сорта.

#### **IV этап. Производство миниклубней заданного сорта с использованием биотехнологических установок**

Производство качественных семян и высокие темпы размножения сортов картофеля в странах с развитым картофелеводством основаны на применении биотехнологических методов оздоровления и последующего микроклонального размножения в культуре *in vitro* и производства исходных микро- и миниклубней в условиях *in vivo*.

При этом производство мини-клубней преимущественно с использованием биотехнологических установок различного технического исполнения. По многолетним данным ФГБНУ «Самарский НИИСХ» максимальная урожайность микро-растений по группе сортов отмечена именно на биотехнологических модулях КД-10 Картофельное дерево-10 (гидропонное выращивание) и «Урожай» (аэропонное выращивание). При этом доля стандартных по размеру клубней также максимальная отмечена при выращивании на биотехнологических модуля (таблица 3) [1].

В тоже время необходимо отметить, что производственный цикл при данном способе вы-

ращивания проходит в замкнутом помещении, что полностью исключает влияние внешних условий, в первую очередь проникновение инфекции. Сбор клубней при таком способе производства полностью контролируется специалистами, что подтверждается на практике 100 % товарностью получаемой продукции, а разработанный технологический регламент производства оздоровленного семенного картофеля на биотехнологическом модуле Картофельное дерево («КД-10») позволяет оптимизировать расходы на технологический процесс и тем самым значительно снизить себестоимость получаемой продукции.

Однако проведенный сравнительный скрининг имеющихся на мировом рынке биотехнологических аппаратов и модулей, а также используя опыт использования данных установок учёными ФГБНУ «Самарский НИИСХ» показал их существенные недостатки и технические недоработки.

Биотехнологическая установка КД-10 (ООО «Дока Генные Технологии», г. Москва) для использования требует специально оборудованного объемного помещения, использование в качестве источника освещения натриевых ламп высокого давления мощностью 400-600 Вт приводит к сильному перегреву растений, тем самым требуя установки постоянного вентилирования и охлаждения помещения. Это приводит к дополнительному риску проникновения через вентиляционные каналы биологической угрозы.

**Таблица 3.** Сравнительная продуктивность микро-растений оздоровленного картофеля при различных способах выращивания (ФГБНУ «Самарский НИИСХ», 2009-2015 гг.)

Объект исследований	Способ культивирования	Продуктивность растения, шт.	Кол-во растений на 1 м <sup>2</sup> шт.	Продуктивность растений с 1 м <sup>2</sup> шт.	Доля стандартных клубней, %
Микро-растение Среднее по группе сортов	Открытый грунт (посадка в почву)	3,1	16,0	49,6	55,0
	Грунтовая теплица (посадка в почву)	7.0	16.0	112,0	75.0
	Грунтовая теплица (посадка в рулоны)	1.6	352	563.2	40
	<b>Гидропонное выращивание</b>	<b>20.0</b>	<b>32</b>	<b>640.0</b>	<b>100.0</b>
	<b>Аэропонное выращивание</b>	<b>36.5</b>	<b>32</b>	<b>1168.0</b>	<b>100.0</b>

Кроме того, у данной установки довольно значительное электропотребление, что значительно увеличивает себестоимость производимой продукции. Потенциал продуктивности растений на данных установках по группе сортов не превышает 20 мини-клубней.

Более современная установка «Урожай» (ФГБНУ «ВНИИ сельскохозяйственной биотехнологии», г. Москва) по уровню достигнутой продуктивности превосходит КД-10. В среднем за 7 лет использования количество произведенных мини-клубней с одного растения при аэропонном способе выращивания достигло 36,5 шт.

Однако и в данной технической конструкции имеются существенные недостатки, а именно наличие металлического лотка приводит к сильной коррозии и окислению материала, что приводит к внезапным протечкам питательного раствора. Подача питательного раствора осуществляется за счёт распыления через микрофарсунки высокого давления, однако даже при наличии тонкой фильтрации высокая концентрация элементов питания в растворе приводит к засолению форсунок и блокировке подачи питания, что неминуемо приводит к гибели растений; световой блог аэропонной установки состоит из люминесцентных ламп соединенных по парам, в связи с этим выход из строя балласта приводит к отключению 2 ламп в близкой технологической зоне, что приводит к снижению, а порой и остановке фотосинтеза у растений, все это неминуемо сказывается на уровне продуктивности растений.

На основе многолетних научных исследований авторского коллектива и разработанной конструкторской документации и чертежей был создан опытный образец современной биотехнологической установки непрерывного производства безвирусного семенного картофеля категории «семена оригинальные» нового поколения.

Разработанная установка соответствует биологическим требованиям предъявляемым для выращивания картофеля и позволяет осуществлять сбор клубней, достигших кондиционных размеров, в течение всего периода клубнеобразования. Установка обеспечивает работу в условиях круглосуточного контроля температуры, влажности воздуха и питательного раствора, а также Ph питательного раствора.

Разработанная биотехнологическая установка по выращиванию семенного картофеля состоит из следующих технических и технологических узлов: облегченного каркаса-опоры для крепления культивационного модуля; резервуар для культивирования растений картофеля; блок освещения растений; система подачи питательного раствора; система контроля условий культивирования растений. Биотехноло-

гическая установка имеет модульный характер сборки и при необходимости может быть изготовлена для любого по площади технического помещения.

Установка оснащена уникальной системой подачи питательного раствора в корневую зону растений, связанная с использованием распылителей низкого давления (кругового распыта), что позволяет исключить систему тонкой очистки, а также использовать в качестве питательных растворов органо-минеральные добавки имеющие органический осадок.

Полезная модель оборудована современной системой освещения характеризующейся комбинацией светодиодных источников света различного спектрального состава, что создает более оптимальные условия для роста и развития картофеля, формируя максимальную имитацию естественных природных условий выращивания, а также сокращает энергопотребление биотехнологической установки и удешевляет себестоимость производимой продукции.

Культивационный лоток изготовлен из облегченного химически-устойчивого пластика, что исключает возможность коррозии. Лоток по продольным сторонам имеет по одной форточке, что обеспечивает оператору беспрепятственный доступ к сформированным мини-клубням и не допускать травмирования корневой системы растений картофеля. Высота лотка не менее 70 см., что положительно сказывается на свободном росте и развитии корневой системы, а также исключает её взаимодействие и срастание с соседними растениями.

Установка имеет полный комплекс контроллеров для обеспечения непрерывной работы всех режимов культивирования растений.

Все вышеперечисленные детали и узлы разработанной конструкции имеют принципиальное отличие от установок-аналогов, а уровень оснащения установки дополнительным контрольно-измерительным оборудованием не имеет аналогов.

Установка изготовлена в модульном исполнении для быстрого и без особых финансовых и трудовых затрат сборки и функционирования в любом по площади нежилом, техническом помещении.

Производственные испытания разработанной биотехнологической установки, в лаборатории биотехнологии сельскохозяйственных растений ФГБНУ «Самарский НИИСХ», показала достоверные преимущества использования при производстве семенного материала оздоровленного картофеля (таблица 4).

Использование биотехнологической установки позволит производить в круглогодичном режиме стандартный, однородный (сертифицированный по ГОСТу) семенной материал кар-

**Таблица 4.** Продуктивность безвирусных микрорастений картофеля при выращивании в биотехнологических установках различного технического исполнения (ФГБНУ «Самарский НИИСХ», 2017)

Способ культивирования растений	Наименование сорта	Продуктивность растения, шт.	Доля стандартных клубней, %
Опытный образец	Ильинский	75,0	100,0
	Удача	87,0	100,0
	Жуковский ранний	55,0	100,0
	Жигулевский	96,0	100,0
<b>Среднее по опыту</b>		<b>78,3</b>	<b>100,0</b>
Картофельное дерево КД-10	Ильинский	25,0	100,0
	Удача	27,0	100,0
	Жуковский ранний	18,0	100,0
	Жигулевский	31,0	100,0
<b>Среднее по опыту</b>		<b>25,3</b>	<b>100,0</b>
Урожай 9000	Ильинский	55,0	100,0
	Удача	63,0	100,0
	Жуковский ранний	45,0	100,0
	Жигулевский	65,0	100,0
<b>Среднее по опыту</b>		<b>57,0</b>	<b>100,0</b>

тофеля со 100% отсутствием внутренней вирусной, виroidной, а также внешней грибной и бактериальной инфекции, что значительно ограничено при производстве семенного материала как в открытом, так и в закрытом грунте.

Разработанная биотехнологическая установка проста в обслуживании и эксплуатации, не требует высококвалифицированных кадров. Она может быть применена широким кругом потенциальных потребителей, в том числе сельхозтоваропроизводителями, фермерами, владельцами личных подсобных хозяйств занимающихся товарным и семенным производством картофеля. Применение указанными лицами разработанной биотехнологической установки позволит значительно увеличить объем производимых семян только в Самарской области в объеме до 250 000 штук в год, снизить себестоимость продукции как минимум на 50% (за счет разработанной системы регулирования и контроля режимов культивирования растений, соз-

дания более оптимальных условий вегетации), а также сделать ее более доступной для специалистов сельскохозяйственных предприятий, как Самарской области, так и других субъектов Российской Федерации, занимающихся производством семенного и товарного картофеля.

#### ***V этап. Сбор и хранение миниклубней;***

Использование при производстве миниклубней картофеля биотехнологических установок и модулей различного технического исполнения накладывает определенные особенности на сбор, хранение и подготовку миниклубней к полевой вегетации.

Процесс клубнеобразования картофеля на установках проходит в изолированном объеме, при повышенной влажности воздуха. Нарушение оптимального уровня влажности в камере может привести к появлению «водяных язв» и неминуемому загниванию клубней. Сбор клубней и укладка на хранение должны обязательно



сопровождаться двух-трех суточным подсушиванием при температуре 20–22°C с размещением клубней в 1 слой покрытый марлевой тканью или фильтровальной бумагой. После прохождения периода подсушивания клубни укладываются в полипропиленовый контейнер, с верхней и нижней части размещается фильтровальная бумага для контроля влажности, контейнер закрывается неплотно крышкой и помещается в холодильник для прохождения периода покоя. Сбор клубней на биотехнологических установках длительный и может продолжаться от 1 до 2 месяцев за вегетацию. В связи с этим рекомендуется собранные клубни размещать в контейнеры для хранения по сбору за неделю или декаду. Это позволит более четко контролировать период покоя и время выхода из него для организации проращивания. Параметры и характеристики периода покоя миниклубней совпадают с показателями хранения семенного и товарного картофеля. В процессе хранения необходимо ежедневно проводить мониторинг режимов хранения и внешне отслеживать состояние миниклубней.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представлены результаты исследований по проблеме первичного семеноводства картофеля на безвирусной основе выполненных

в рамках комплексного плана научных исследований ФАНО России «Развитие селекции и семеноводства картофеля». Апробирован способ получения безвирусного исходного материала с использованием этилированных ростков здорового клубня интактного сорта картофеля. Оптимизирован состав базовой питательной среды за счет использования органико-минеральных добавок: Крезацин, Мивал Агро, Рибав Экстра и Лигногумат. Дана комплексная оценка имеющихся на отечественном рынке биотехнологических установок и модулей. Разработан и апробирован опытный образец биотехнологической установки по круглогодичному производству оздоровленного семенного материала картофеля категории «семена оригинальные» нового поколения. Представлены основные параметры и особенности разработанной установки. Даны рекомендации по применению и использованию полезной модели в агропромышленном комплексе Самарской области.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Перспективы использования биотехнологических установок в безвирусном семеноводстве картофеля в Среднем Поволжье / А.В. Милехин, С.Л. Рубцов, А.Л. Бакунов, Н.Н. Дмитриева, О.А. Вовчук // Известия Самарского научного центра РАН, 2014. Том 16. № 5(3). С. 1184-1191.

### THE METHOD OF MICROCLONAL PROPAGATION AND PRODUCTION OF IMPROVED MINITUBERS IN PRE-BASIC POTATO SEED GROWING IN CONDITIONS OF HIGH INFECTIOUS LOADING

© 2017 S.L. Rubtsov, A.V. Milekhin, S.N. Shevchenko, A.L. Bakunov, N.N. Dmitrieva

Samara State Scientific Research Institute of Agriculture, Bezenchuk, Samara region

Results of researches on pre-basic seed growing of native potato varieties with use of biotechnological methods in vitro and in vivo are presented. Technique of improvement and propagation of virus-free seed is elaborated. The biotechnological installation for all the year round production of minitubers is created.

*Keywords:* potato pre-basic seed growing, microclonal propagation, virus-free micro plants, minitubers, improvement of plants, biotechnological installations.

---

Sergey Rubtsov, Research Fellow.

Alexey Milekhin, Candidate of Agricultural Sciences, Head of Agricultural Plants Biotechnology Laboratory.

E-mail: samniish@mail.ru

Sergey Shevchenko, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences Doctor of Agricultural Science, Director.

Alexey Bakunov, Candidate of Agricultural Sciences, Leading Research Fellow. E-mail: bac24@yandex.ru

Nadezhda Dmitrieva, Senior Research Fellow.