

DOSKONALENIE METOD PRODUKCJI I PRZECHOWYWANIA NASION ZIEMNIAKA

Melania Montwiłł

Zakład Genetyki i Syntezy Materiałów Wyjściowych
Instytut Ziemniaka Oddział w Młochowie, 05-832 Rozalin

WSTĘP

Znane metody stymulowania procesu kwitnienia i owocowania ziemniaka, opisane przez Dziewięckiego [5], okazały się w odniesieniu do naszych materiałów nie w pełni wystarczające. Skłoniło to nas do poszukiwań nowych rozwiązań odnośnie metod produkcji nasion oraz modyfikowania metod już istniejących.

Wynikiem tego było między innymi zastosowanie w Zakładzie Genetyki krzyżowania na roślinach ziemniaka szczepionych na pomidorze, rosnących w schładzanym foliowcu lub w szklarni. Metoda ta jest stosowana przez nas z powodzeniem już od kilku lat i pozwala na wykonywanie krzyżówek przez znacznie dłuższy okres /od połowy czerwca do połowy września/ niż w warunkach polowych. Rośliny ziemniaka prowadzone w ten sposób kwitną nie tylko znacznie dłużej niż w polu, ale także w większości wypadków obficie. Ponadto szczepienie na pomidorze podwyższa płodność pyłku u roślin szczepionych oraz może wpływać stymulująco na długość wytwarzanych łagiewek pyłkowych [2]. Metoda ta jest bardzo wydajna, ponieważ z jednego krzaka można

otrzymać do 10 000 nasion. Szczególnie dobrze reagują na szczepienie odmiany późne i średniopóźne.

Oprócz krzyżówek wykonywanych w sezonie wegetacyjnym stosujemy w ZG w razie potrzeby produkcję nasion w okresie jesienno-zimowym. Jest to możliwe przede wszystkim dzięki opracowaniu przez nas metody pobudzania do kwitnienia roślin ziemniaka w niesprzyjającym fotoperiodzie za pomocą kwasu giberelinowego [12].

Giberelina używana jest przez nas ponadto do stymulacji kwitnienia odmian i rodów trudno kwitnących w sezonie letnim, zarówno w odniesieniu do roślin rosnących swobodnie w polu, jak i szczepionych na pomidorze, czy też takich, którym usuwa się stolony [13].

W ostatnim czasie została opracowana przez zespół dr Czerskiego inna metoda stymulacji kwitnienia ziemniaka, polegająca na zapewnieniu roślinom optymalnych do kwitnienia warunków otoczenia [4]. Są nimi rtęciowe źródło światła oraz dostęp składników mineralnych i wody w układzie hydroponiczno-przepływowym. Tę obiecującą metodę /może z pewnymi modyfikacjami/ zamierzamy zastosować w ZG w praktyce w najbliższym czasie.

Jak wiadomo, następnym, po uzyskaniu obfitego kwitnienia roślin, etapem w produkcji nasion jest zabezpieczenie wysokiej płodności używanego do zapyleń pyłku.

Płodność pyłku świeżo zebranego w praktyce oceniamy zwykle metodą barwienia laktofenolofuksyną [1, 8, 15]. Jest to metoda szybka i mało pracochłonna, szczególnie przydatna do wykluczenia form całkowicie niepłodnych /np. ze sterylnością "tetradową"/, gdy przebadania wymaga duża partia materiału. Powyższa technika okazała się niewystarczająca, jeśli chodzi o ocenę płodności pyłku przechowywanego przez pewien okres [8, 10]. Obecnie w przypadku badania płodności takiego pyłku stosujemy inną, znacznie bardziej odpowiednią metodę, a mianowicie kiełkowanie pyłku in vitro [15].

Ponadto do oceny przydatności danego pyłku w krzyżówce z określoną formą mateczną opanowaliśmy w ostatnim czasie technikę badania przerastania łagiewek pyłkowych przez szyjkę słupka do zalążni przy użyciu mikroskopu fluorescencyjnego [17]. W dobrze udających się krzyżówkach większość łagiewek osiąga zalążnię po upływie 36 godzin. Po obejrzeniu preparatu łatwo ocenić szanse na przeprowadzenie danej krzyżówki. Pyłek ziemniaka traci swoją żywotność całkowicie w temperaturze $+35^{\circ}\text{C}$ [6], a w warunkach pokojowych okres jego żywotności nie przekracza kilku dni i jest zależny od odmiany /rodu/, z której pochodzi pyłek [8, 10]. Bardzo istotny dla wyniku krzyżowania jest więc sposób przygotowywania pyłku używanego potem do zapyleń i warunki jego przechowywania.

Obecnie stosowane warunki zbierania i suszenia pyłku według naszego rozeznania często nie są właściwe, a ich optymalizacja będzie przedmiotem naszych badań w najbliższym czasie. Zabezpieczone są natomiast na podstawie obszernych danych literaturowych [14] właściwe warunki przechowywania pyłku. A więc pyłek w szklanych fiolkach umieszczony jest w szczelnym naczyniu z warstwą żelu krzemionkowego na dnie /zapewniającą odpowiednio niską wilgotność otoczenia/, w zamrażarce o temperaturze -23°C . Tak przetrzymywany pyłek nie traci swojej żywotności, aż do następnego sezonu wegetacyjnego [7, 9, 16]. Ponadto istnieją dane, że pyłek powinien być przechowywany w tych warunkach w małych porcjach, ponieważ kilkakrotne wyjęcie go z temperatury przechowywania do temperatury otoczenia znacznie obniża jego żywotność [3].

Oprócz płodnego pyłku o liczbie i wartości uzyskanych nasion decydują jeszcze inne czynniki, a w szczególności warunki rozwoju owoców na krzaku i ich dojrzenia po sprzęcie, a także sposób przechowywania nasion wyizolowanych z owoców.

Od kilku lat prowadzimy w ZG badania odnośnie do stymulacji rozwoju owocu.

W wyniku tych badań ustalono, że skutecznie zwiększają procent udanych zapyleń i częściowo przeciwdziałają przedwczesnemu ich odpadaniu auksyny, a szczególnie NAA i IBA w stężeniu 20 mg/l. Aktywne w tych procesach są także jak się okazało: witamina B₁, hormony sterydowe i kwas borowy /H₃BO₃/.

Od pewnego czasu stosujemy w praktyce opryski zapyłonych kwiatostanów co 2-3 dni roztworem NAA lub IBA poczynając od 48 godzin po zapyleniu. Okazały się one skuteczne zarówno przy krzyżowaniu roślin szczepionych na pomidorze /tab. 1/, jak i zastosowaniu ściętych pędów /tab. 2/. Korzystne okazało się także działanie auksyn przy krzyżowaniu roślin o różnej ploidalności /tab. 3/, a także przy haploidyzacji przeprowadzonej na drodze krzyżowania /tab. 4/.

T a b e l a 1

Wpływ IBA w stężeniu 20 mg/l na efektywność krzyżowania roślin ziemniaka szczepionych na pomidorach

Influence of IBA in concentration 20 mg/l on the efficiency of crossing potato plants grafted on tomato stocks

Krzyżówka Mating	Wariant Treatment	Średnia liczba nasion Average No. of seeds	
		na zapylenie per pollination	na jagodę per berry
PG-287 x 73L-208	K ^a	5,0	36,0
	IBA ^b	14,1	49,6
75-XXXIV-134 x PG-263	K	6,0	29,5
	IBA	11,5	28,4

^a Rośliny kontrolne - control plants.

^b Kwiaty opryskiwane po zapyleniu roztworem IBA w stężeniu 20 mg/l - flowers sprayed after pollination with an IBA solution at concentration 20 mg/l.

T a b e l a 2

Wpływ IBA w stężeniu 20 mg/l na efektywność krzyżowania na pędach ściętych z roślin rosnących w szklarni i w polu
 Influence of IBA in concentration 20 mg/l on the efficiency of crossing stems detached from plants growing respectively in the greenhouse and in the field

Krzyżówka Mating	Okres krzyżowania Period of crossing	Wariant Treat- ment	Średnia liczba nasion Average No. of seeds	
			na zapylenie per pollination	na jagodę per berry
Pierwiosnek x Prosna	marzec 1976 pędy ze szklarni	K ^a IBA ^b	3,4 11,7	15,9 13,6
	March 1976 stems from the greenhouse			
Ronda x Pierwiosnek	lipiec 1977 pędy z pola	K IBA	1,3 5,2	13,0 45,7
	July 1977 stems from the field			

^a Rośliny kontrolne - control plants.

^b Kwiaty opryskiwane po zapyleniu roztworem IBA w stężeniu 20 mg/l - flowers sprayed after pollination with an IBA solution at concentration 20 mg/l.

Ponieważ okazało się, że auksyny stymulują również rozwój owocu w przypadku rodów trudno się krzyżujących zapyłanych dwukrotnie, stosujemy je standardowo podczas zimowej produkcji nasion, gdzie zawsze, jeśli to możliwe, przeprowadzamy podwójne zapylenie, to znaczy dopylamy rośliny ponownie po upływie 24 godzin od pierwszego zapylenia.

T a b e l a 3

Wpływ NAA na efektywność krzyżowania roślin ziemniaka o różnej liczbie chromosomów, prowadzonych w szklarni na podkładkach pomidora
 Influence of NAA on the efficiency of crossing potato plants, with different number of chromosomes, growing in the greenhouse on tomato stocks

Krzyżówka Mating	Wariant Treatment	Średnia liczba nasion Average No. of seeds	
		na zapylenie per pollination	na jagodę per berry
FM-1/17 x phu IvP 48 48 n x 24 n	K ^a	0,6	3,7
	NAA ^b	1,9	3,2
FM-4/22 x phu IvP 48 48 n x 24 n	K	0,9	2,3
	NAA	2,8	3,1

^a Rośliny kontrolne - control plants.

^b Kwiaty opryskiwane po zapyleniu roztworem NAA w stężeniu 20 mg/l - flowers sprayed after pollination with an NAA solution at concentration 20 mg/l.

Ostatnie doświadczenia wykazały, że w niektórych przypadkach jeszcze bardziej efektywne niż auksyny jest stosowanie kwasu borowego w postaci H_3BO_3 w stężeniu 50 mg/l podawanego samego lub razem z auksynami /tab. 5/.

Stosowanie wyżej wymienionych substancji powoduje zwiększenie liczby uzyskiwanych nasion przez zwiększenie procentu udanych zapyleń i zahamowanie procesu odpadania jagód.

Aby zapewnić takim nasionom osiągnięcie i zachowanie jak największej żywotności, pozostawiamy je na minimum 6 tygodni na krzaku, a następnie na okres około 1,5 miesiąca dojrzewania posprzętnego w warunkach szklarniowych [11, 18].

T a b e l a 4

Wpływ IBA + H₃BO₃ na efektywność krzyżowania roślin dla uzyskania dihaploidów

Influence of IBA + H₃BO₃ on the efficiency of crossing plants to obtain dihaploids

Krzyżówka Mating	Wariant Treatment	Średnia liczba nasion Average No. of seeds	
		na zapylenie per pollination	na jagodę per berry
Prosna x phu IvP 35	K ^a	1,0	2,1
	IBA + H ₃ BO ₃ ^b	2,0	2,6

^a Rośliny kontrolne - control plants.

^b Kwiaty opryskiwane po zapyleniu roztworem IBA w stężeniu 20 mg/l + roztworem H₃BO₃ w stężeniu 50 mg/l - flowers after pollination with an IBA solution at concentration 20 mg/l + a solution of H₃BO₃ at concentration 50 mg/l.

Wyizolowane z nich nasiona w zależności od ich przeznaczenia są przechowywane w ZG w następujących warunkach uznanych za optymalne na podstawie bogatych danych literaturowych [14]:

a/ w papierowych torebkach w lodówce /5-10°C/ - jeśli są to nasiona świeżo oczyszczone i mają być kiełkowane w następnym sezonie wegetacyjnym,

b/ w szczelnie zamkniętym naczyniu /słoju typu twist/ nad żelem krzemionkowym, a więc w niskiej wilgotności otoczenia - jeśli są to nasiona przeznaczone do długotrwałego przechowywania.

Omówione powyżej postępowanie pozwala w większości przypadków zapewnić sprawną produkcję wysokowartościowych nasion, co jest

z kolei nieodzownym warunkiem prawidłowej realizacji programu hodowlanego.

T a b e l a 5

Wpływ IBA i H_3BO_3 na efektywność krzyżowania na pędach ściętych z roślin rosnących w polu

Influence of IBA and H_3BO_3 on the efficiency of crossing on stems detached from plants growing in the field

Krzyżówka Mating	Wariant Treatment	Średnia liczba nasion Average No. of seeds	
		na zapylenie per pollination	na jagodę per berry
Pierwiosnek x Prosna	K ^a	13,6	23,3
	IBA 20 mg/l ^b	23,5	25,7
	H_3BO_3 50 mg/l ^c	47,4	54,7
	IBA + H_3BO_3 ^d	38,2	45,9

^aRośliny kontrolne - Control plants;

^bKwiaty opryskiwane po zapyleniu roztworem IBA - Flowers sprayed after pollination with an IBA solution,

^cKwiaty opryskiwane roztworem H_3BO_3 - Flowers sprayed after pollination with a H_3BO_3 solution,

^dKwiaty opryskiwane po zapyleniu roztworem IBA + H_3BO_3 - Flowers sprayed after pollination with an IBA + H_3BO_3 solution.

PODSUMOWANIE

1. Najbardziej efektywną metodą produkcji nasion w sezonie wegetacyjnym jest stosowane obecnie w ZG krzyżowanie przy użyciu form rodzicielskich szczepionych na pomidorze, prowadzonych w schładzanym foliowcu. W razie potrzeby dodatkowo uzyskuje się nasiona

w okresie jesienno-zimowym przy użyciu roślin pobudzanych do kwitnienia kwasem giberelinowym.

2. Przed przystąpieniem do masowego krzyżowania wskazana jest ocena przydatności wybranego pyłku do zapylania określonej formy matecznej. Dokonywana ona jest przez obserwację pod mikroskopem fluorescencyjnym przerastania łagiewek pyłkowych przez szyjkę słupka do zalążni, *in vivo*.

3. Przy użyciu form rodzicielskich trudno się krzyżujących ze sobą celowe jest stymulowanie rozwoju owoców za pomocą egzogennych auksyn lub kwasu borowego.

4. Uzyskane z krzyżówek nasiona, po przejściu stanu spoczynku, przechowuje się w ZG w niskiej wilgotności otoczenia /nad żelem krzemionkowym/w temperaturze pokojowej, jeśli są to nasiona przeznaczone do długotrwałego przechowywania.

LITERATURA

1. Abdalla M.M.F.: Inbreeding, heterosis, fertility, plasmon differentiation and Phytophthora resistance in *Solanum verrucosum* Schlechtd. and some interspecific crosses in *Solanum*, Agric. Res. Rep., 748, ss. 213, 1970.
2. Bernadowski J.: Próby zwalczania bezpłodności ziemniaka, Acta Agrobotanica, II, 3-19, 1954.
3. Bloomquist A.W., Lauer F.J.: A simplified techniques for handling and storing potato pollen, Am. Potato J., 39, 9, 340-343, 1962.
4. Czerski J., Kołacińska B., Jankowska K.: Kwitnienie i owocowanie roślin ziemniaka prowadzonych w układzie przepływowo-hydroponicznym, Biul. Inst. Ziemn., 19, 7-27, 1977.
5. Dziewięcki Cz.: Metody regulowania procesu kwitnienia roślin ziemniaka, Biul. Inst. Ziemn., 10, 83-97, 1973.
6. Golubiński I.N.: Biologija prorastanija pylcy, Kijew, 1974.
7. Howard H.: The storage of potato pollen, Am. Potato J., 35, 9, 676-678, 1958.

8. Jamssen A.W.B., Hermsen J.G.Th.: Estimating pollen fertility in *Solanum* species and haploids, *Euphytica*, 25, 577-586, 1976.
9. King J.R.: Irish potato pollen storage, *Am. Potato J.*, 32, 386-391, 1955.
10. Kotowa K.A.: Žiznesposobnost pylcy kartofelja i jejo sochranost w laboratornych uslovijach, *Selekcija i Semenovodstvo*, 4, 32, 1972.
11. Lachin A.: Sposoby dozarivanja jagod kartofelja, *Kartofel i Owošci*, 10, 16, 1972.
12. Montwiłł M.: Stymulacja kwitnienia ziemniaka w warunkach jesienno-zimowych za pomocą gibereliny, *Biul. Inst. Ziemn.*, 15, 27-38, 1975.
13. Montwiłł M., Łukomska I.: Produkcja nasion ziemniaka, *Zesz. probl. Pōst. Nauk rol.*, 191, 91-95, 1977.
14. Montwiłł M.: Przechowywanie oraz ocena żywotności pyłku i nasion ziemniaka w świetle danych z literatury, *Biul. Inst. Ziemn.*, 23, 7-14, 1979.
15. Mortenson L.R., Peloquin S.J., Hougas R.W.: Germination of *Solanum* pollen on artificial media, *Am. Potato J.*, 41, 10, 322-328, 1964.
16. Plechanowa T.F.: Longevity of potato pollen, *Selekcija i Semenovodstvo*, 30, 5, 75, 1965.
17. Ramanna M.S., Mutsaerts C.A.: Unusual behaviour of growing pollen tubes in the styles and ovules of *Spinacia oleracea* L., *Euphytica*, 20, 145-151, 1971.
18. Simmonds N.W.: Experiments on the germination of potato seeds I, II, *Europ. Potato J.*, 6, 1, 45-60, 69-76, 1963.

Мелания Монтвилл

УЛУЧШЕНИЕ МЕТОДОВ ПРОИЗВОДСТВА И ХРАНЕНИЯ СЕМЯН КАРТОФЕЛЯ

Р е з ю м е

В статье обсуждаются применяемые в настоящее время методы производства и хранения пыльцы и семян картофеля Отделом генетики Института картофеля.

В вегетационном сезоне родительские формы привитые на томате выращивались в охлажденном помещении под фольгой для интенсификации и более продолжительного цветения. Когда необходимо получить семена в осенне-зимний период, растения стимулируют к цветению

гибереллиновой кислотой.

Фертильность свежей пыльцы оценивается путем ее окраски лактофенолфуксином, в случае пыльцы хранимой в холодильнике - ее прорастанием *in vitro*.

Когда необходимо проверить пригодность пыльцы для скрещивания с определенной маточной формой, с помощью наблюдения под флюоресцентным микроскопом оценивается прорастание пыльцевой трубки через шейку пестика и завязь *in vivo*.

При трудных скрещиваниях развитие плода стимулируется дополнительно экзогенными ауксинами (табл. I, 2, 3), или борной кислотой (табл. 4, 5).

Полученные семена, после состояния покоя, хранятся в условиях низкой влажности воздуха в комнатной температуре.

Melania Montwill

IMPROVEMENT IN THE METHODS OF PRODUCING AND STORAGE
POTATO TRUE SEEDS

S u m m a r y

In the paper are presented methods of producing and storage potato true seeds, used at the Department of Genetics of Institute for Potato Research.

During the vegetation period the parental lines are grafted on tomato stocks and are grown in plastic tunnel with additional cooling to promote flowering. If it is necessary to produce true seeds in the autumn or in the winter, the flowering of plants is stimulated by gibberelic acid.

The fertility of fresh pollen used to crossing is estimated through staining with lactophenol acid fuchsine and of the deep-frozen pollen - by germination *in vitro*.

If it is needed to evaluate whether the pollen may be used for mating with definite female plants, the growth of pollen tubes through the style to the ovary is assessed by an UV microscope.

When mating is difficult, the development of berries is stimulated by treatment with egzogenic auxins /Tables 1, 2 and 3/ and boric acid /Tables 4 and 5/.

The true seeds, after passing dormancy, are stored at room temperature under low humidity.