

ЗЕМЛЕДЕЛИЕ, АГРОХИМИЯ, КОРМОПРОИЗВОДСТВО, АГРОЭКОЛОГИЯ, ЛЕСНОЕ ХОЗЯЙСТВО

УДК 631.452; 635.21

А.К. АПУШЕВ, С.Е. СУЛЕЙМЕНОВА, Т.К. ЕГИЗБАЕВА, Р.К. ДАМИНОВА, Т.К. САРСЕНБАЕВ
(Каз НАУ, Алматы)

КЛЕТОЧНАЯ СЕЛЕКЦИЯ КАРТОФЕЛЯ НА ЗАСУХОУСТОЙЧИВОСТЬ

Аннотация

Каллусные культуры картофеля были получены из листьев растений-регенерантов, оздоровленных методом апикальной меристемы. Отработан эффективный способ создания регенерантов картофеля на селективных средах ПЭГ и маннитола. Определены летальные дозы селективных агентов, обработка клеточной культуры картофеля 25мМ ПЭГ и 0,15М-0,2М маннитолом оказалась оптимальной для проведения клеточной селекции на засухоустойчивость. При увеличении концентрации этих стрессоров выше ЛД50 наблюдали нарушение деления и последующий некроз клеток. Показана высокая зависимость регенерационной способности от генотипа растения и условий его выращивания.

Ключевые слова: картофель, засухоустойчивость, генотип, каллусная культура, селективная среда, ПЭГ, маннитол.

Тірек сөздер: картоп, құрғақшылыққа төзімділік, генотип, каллус культурасы, селективтік орта, ПЭГ, жэне маннитол.

Keywords: potatoes, drought-resistance, genotype, callus culture, selective environment, PEG, mannitol.

Одним из эффективных приемов повышения урожайности сельскохозяйственных культур является увеличение их адаптации к условиям произрастания. В связи с этим особой актуальностью отличаются исследования по разработке методов адаптивной селекции в растениеводстве, основанных на современных достижениях генетики и биотехнологии, позволяющих за короткие сроки значительно расширить диапазон изменчивости существующих генотипов и создать формы с новыми признаками и свойствами. По мнению ряда ученых [1-3], культура изолированных тканей в сочетании с селективными средами дает возможность увеличить полиморфизм растений, в первую очередь, по адаптивным признакам.

Объектами исследований служили генотипы казахстанской селекции, выведенные в Казахском НИИ картофелеводства и овощеводства 11 сортов и 5 гибридных линии картофеля.

Все лабораторные исследования выполнены на растениях картофеля, оздоровленного методом апикальной меристемы и поддерживаемого в асептических условиях. Растения выращивали при температуре 25-27° С с 16-ти часовым фотопериодом при освещенности в 2000 люкс. В экспериментах использовалась питательная среда Мурасиге-Скуга (МС) [4] с собственной модификацией с использованием стимулятора роста акпинола; для каллусной культуры питательная среда Гамборга В₅; для суспензионной культуры: аминокислотная среда (глицин- 22,5мг/л, глутамин -253,1 мг/л, аргинин - 68,4 мг/л, аспарагиновая кислота - 79,8 мг/л) и минеральных солей: (NH₄)₂SO₄- 134мг/л, KNO₃- 3г/л, MgSO₄×7H₂O- 500 мг/л.

Культивирование эксплантов и каллусной ткани проводили в соответствии с методическими указаниями, разработанными Р.Г.Бутенко и Е.А.Калашникова и др. [5-6].

Каллусные культуры были получены из листьев растений-регенерантов. Эксперименты проводились по классической схеме селекции [7]. Для подбора концентраций стресс-агентов (осмолитов), повышающих осмотическое давление (при имитации водного дефицита снижается водный потенциал) внутри клеток, суспензионную культуру картофеля в течение 4-х недель культивировали на жидкой питательной среде Гамборга В5 с добавлением различных концентраций ПЭГ-6000 (25мМ - 40мМ) и маннитола (0,1М - 0,3М). Условия электрообработки каллусов описаны по Китлаевой и др. [8]. Влияние разных концентраций стресс-агентов на рост клеток сравнивали с контролем. В качестве контроля использовали исходную суспензионную культуру клеток без добавления стресс-агентов. Определяли летальную дозу, при которой относительное число живых клеток (%), равно количеству погибших клеток (LD_{50}).

Выживаемость суспензионных клеток после обработки определяли по приросту биомассы. Оценивали влияние условий засухи на пролиферацию клеток как на одну из жизненно важных функций клетки. За 100% принимали начальную массу клеток в 1 мл суспензии, отдельно для каждого варианта. Для сравнимости результатов первоначальную массу клеток, вносимую для прироста, выравнивали по объему и довели общий объем суспензии в колбе до 30 мл так, чтобы первоначальное соотношение объема среды к объему клеток было равно 3:1. Субкультивирование стрессовым агентом проводили через каждые 3 недели.

Показано, что и ПЭГ, и маннитол ингибировали рост клеток, но в разной степени. После 3-х субкультивирований выявлено, что при использовании концентрации ПЭГ в интервале 25-30мМ идет рост клеток. Повышение концентрации до 40мМ вызывало гибель клеток.

Изучение роста суспензионной культуры в присутствии 25мМ ПЭГ, выявило наличие прироста биомассы суспензионных клеток обоих сортов, тогда как концентрация 30мМ тормозит в большей степени рост клеток сортов «Удовичский», «Нартау». Клетки сортов «Аксор», «Тохтар», «Тамаша» проявили большую толерантность к данной концентрации стресс-агента. По предварительным данным, прирост биомассы в контроле для клеток сортов «Аксор», «Тохтар» были выше, чем у сортов «Удовичский» и «Нартау».

При обработке маннитолом в концентрации 0,1М в суспензионной культуре картофеля наблюдался прирост клеток. При концентрации маннитола 0,15М-0,2М процент живых и метрвых клеток (LD_{50}) был примерно одинаков. При больших концентрациях маннитола прирост суспензионных клеток не наблюдался (рисунок 1-2).

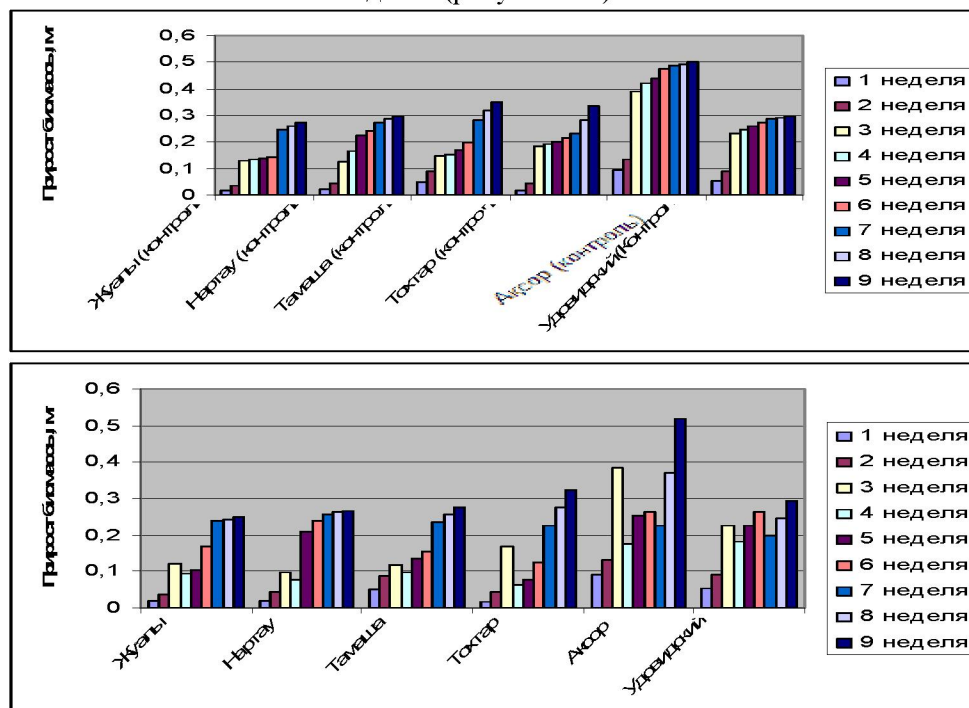


Рис. 1 – Прирост биомассы клеток суспензионной культуры

Обработка клеточной культуры картофеля 25мМ ПЭГ и 0.15М-0.2М маннитолом оказалась оптимальной для проведения клеточной селекции на засухоустойчивость. Увеличение концентрации стрессовых факторов выше ЛД₅₀ приводило к нежелательным эффектам: наблюдали нарушение деления и последующий некроз клеток.

Полученные данные подтверждают возможность получения методом клеточной селекции засухоустойчивых линий.

ЛИТЕРАТУРА

- 1 Конарев В.Г. Морфогенез и молекулярно-биологический анализ растений. Санкт-Петербург: ВИР, 2001. 370 с.
- 2 Конарев В.Г. Молекулярная биология в познании генетических и морфологических процессов у растений. СПб, 2002.
- 3 Шевелуха В.С. Сельскохозяйственная биотехнология. М.: Высшая школа, 2010, 712 с.
- 4 Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobaccotissue cultures. – *Physiol. Plant.*, 1962, v/15, p.473-497.
- 5 Бутенко Р.Г. Биотехнология клеток высших растений in vitro и биотехнологии на их основе. М.:ФБК Пресс, 1999, 159 с.
- 6 Калашникова Е.А., Кочиева Е.З., Миронова О.Ю. Практикум по сельскохозяйственной биотехнологии.-М.:Колос, 2006. с. 14-16.
- 7 Артамонова Г. М. и др. Лабораторно-практические занятия по сельскохозяйственной биотехнологии: Методические указания. М.: Изд-во МСХА, 1991. – С. 115.
- 8 Китлаев Г.Б., Долгих Ю.И., Бутенко Р.Г. Физиологическое действие электрического тока на культуру клеток кукурузы in vitro Доклады Академии Наук, 1994, т.335, № 3, с. 393-395.

- 1 Konarev V.G. Morphogenesis and molecular biological analysis of plants. St. Petersburg: VIR, 2001. 370 p.
- 2 Konarev V.G. Molecular biology in the knowledge of the genetic and morphological processes in plants. SPb, 2002.
- 3 Sheveluha VS Agriculture биотехнология. М.: Vysshaya SHKOLA, 2010, 712 p.
- 4 Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobaccotissue cultures. – *Physiol. Plant.*, 1962, v/15, p.473-497.
- 5 Butenko P.G. Biotechnology higher plants cell in vitro and biotechnology. M:FBK-Press, 1999, 159 p.
- 6 Kalashnikov EA, Kochiev E.Z., Mironov O.YU. Workshop on agricultural biotechnology.-M:Kolos, 2006. s. 14-16.
- 7 Artamonova, M. and other Laboratory practical classes on agricultural biotechnology: HOWTO. M: Publishing house of the ICCA, 1991. - s. 115.
- 8 Kitlyev G.B., I. Dolgikh, Butenko P.G. Physiological effect of electric current on the cell culture corn in vitro Reports of the Academy of Sciences, 1994, т.335, № 3, s. 393-395.

КАРТОПТЫҢ ҚҰРҒАҚШЫЛЫҚҚА ТӨЗІМДІЛІГІНЕ ЖАСУШАЛЫҚ СЕЛЕКЦИЯ

Резюме

ПЭГ және маннитол бар селективтік ортадағы картоп регенеранттарын алудағы тиімді тәсілдері зерттелінді, стрессорлардың оңтайлы концентрациясы анықталды. Регенерациялық қабілеттілігі өсімдіктің генотипіне және оны өсіру жағдайына байланысты екені көрсетілді.

Тірек сөздер: картоп, құрғақшылыққа төзімділік, генотип, каллус культурасы, селективтік орта, ПЭГ, және маннитол.

CELLULAR SELECTION OF POTATOES ON DROUGHT TOLERANCE

Summary

Worked out an efficient way to create regenerants potatoes on selective media PEG and mannitol, the optimal concentration of these stressors. The high dependence of the regenerative ability to genotype and conditions of its cultivation.