

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

SERIES OF BIOLOGICAL AND MEDICAL

ISSN 2224-5308

Volume 1, Number 313 (2016), 140 – 147

PRODUCTION OF NEW DROUGHT RESISTANT LINES OF POTATO USING CELL TECHNOLOGY

B. K. Tezekbayeva, A. A. Kalieva, N. P. Malakhova

M. A. Aitkhozhin Institute of Molecular Biology and Biochemistry, CS MES RK, Almaty, Kazakhstan.
E-mail: bota151283@mail.ru

Keywords: potato, cell culture, virus-free plants, cell selection, drought resistance.

Abstract. The article presents the results of the scientific research of production new potato lines resistant to drought factor using cell selection methods. Potato cell lines of «Axor» and «Orbita» breeds were selected to drought tolerance level by using optimal concentrations of mannitol as a selective factor (0,15M). During the research there were obtained callus cultures and *de novo* regenerated plants of the new drought resistant «Axor» and «Orbita» potato lines, were optimized *in vitro* cultivation conditions for the further micropropagation. New perspective «Axor» and «Orbita» potato lines with improved drought tolerance were obtained. Potato new lines were tested on growth in protected ground. The drought stress-factor resistance value results were obtained by visual examination. The number of survived plants, morphological parameters such as the length of the stem, number of the leaves and the number of internodes were measured. From 7 drought resistance at *in vitro* conditions plant lines were dedicated 3 lines for «Axor» (R1/M1, R1/M3, R1/M5) and 2 lines for «Orbita» (R2/M1, R2/M7) which are perspective for future reference in agronomy.

УДК 635.073;57.085; 635.032

ПОЛУЧЕНИЕ НОВЫХ ЗАСУХОУСТОЙЧИВЫХ ЛИНИЙ КАРТОФЕЛЯ МЕТОДОМ КЛЕТОЧНОЙ СЕЛЕКЦИИ

Б. К. Тезекбаева, А. А. Калиева, Н. П. Малахова

РГП «Институт молекулярной биологии и биохимии им. М. А. Айтхожина» КН МОН РК,
Алматы, Казахстан

Ключевые слова: картофель, культура клеток, безвирусные растения, клеточная селекция, засухоустойчивость.

Аннотация. Представлены результаты научных исследований по созданию новых линий картофеля с повышенной засухоустойчивостью методами клеточной селекции. Проведена селекция на засухоустойчивость клеточных культур картофеля сортов «Аксор» и «Орбита» с использованием оптимальных концентраций селективных факторов маннитола (0,15M). Получены каллусные культуры и первичные пробирочные растения-регенеранты новых засухоустойчивых линий сортов картофеля «Аксор» и «Орбита». Оптимизированы условия их культивирования в условиях *in vitro* для дальнейшего микроклонального размножения. Получены новые перспективные линии картофеля сорта «Аксор» и «Орбита» с улучшенными свойствами засухоустойчивости. Проведено испытание новых линий в условиях закрытого грунта. Оценку устойчивости растений к стрессовому фактору засухи проводили по результатам визуального наблюдения. Оценивалось число выживших растений, и такие морфологические параметры как длина стебля, количество листьев и количество междуузлий. Из 7 засухоустойчивых линий растений обоих сортов в условиях *in vitro* выделено 3 линии сорта «Аксор» (R1/M1, R1/M3, R1/M5) и 2 линии сорта «Орбита» (R2/M1, R2/M7) перспективных для дальнейшего использования в сельском хозяйстве.

Введение. Картофель - одна из ведущих и наиболее ценных продовольственных культур в мире, наряду с зерновыми (пшеница, рис, кукуруза). По распространенности в настоящее время картофель стоит на пятом месте среди культур, выращиваемых для обеспечения человечества питанием, и на четвертом - по валовому урожаю. Несмотря на то, что Алматинская область занимает лидирующее место по площади возделывания (38,3 тыс.га) и валовому сбору картофеля (682,8 тыс.тонн) среди остальных областей, урожайность этой культуры по области составляет всего 17,8 т/га. [1]. Ежегодное снижение урожайности картофеля связано с постоянным ухудшением экологической обстановки в нашем регионе (засуха, засоление почв), а также высокой инфицированностью картофеля различными вирусными заболеваниями, что приводит к значительным потерям при его возделывании и хранении. Засуха наносит больший урон растениеводству, чем все остальные стрессовые факторы вместе взятые. Это связано с тем, что для растений картофеля высокие температуры и водный дефицит являются ограничивающими физиологическими факторами, препятствующим его выращиванию во многих странах мира. Картофель наиболее чувствителен к влажности почвы, особенно в период от начала бутонизации до конца цветения, во время начала клубнеобразования и в период накопления урожая [2]. Недостаток влаги блокирует инициацию роста столонов и инициацию клубнеобразования [3]. Чем продолжительней стресс, тем меньшее количество клубней завязывается. В условиях засухи также существенно замедляется рост клубней, завязавшихся до её наступления, приводя к значительному недобору сухого вещества пропорционально силе и продолжительности засухи.

Одним из подходов к получению новых линий сельскохозяйственно-ценных растений стал метод клеточной селекции, позволяющий использовать огромный потенциал местных сортов картофеля для создания новых засухоустойчивых сортов. На сегодняшний день с помощью методов клеточной селекции уже были получены новые сорта и линии сельскохозяйственно-ценных растений картофеля, томата, пшеницы, риса, ячменя, льна, огурца, табака, капусты, рапса, ряда кустарниковых и древесных культур, устойчивые к широкому спектру абиотического и биотического стресса [4-15]. Применение биотехнологических методов и клеточной селекции в условиях *in vitro* для создания новых засухоустойчивых линий картофеля, пригодных для введения в сельское хозяйство в Казахстане, представляет собой один из наиболее перспективных и оптимальных подходов для решения проблемы ускоренного получения новых форм картофеля с необходимыми качественными признаками.

Целью данного исследования являлось получение новых засухоустойчивых линий отечественных сортов картофеля методами клеточной селекции.

Объекты и методы исследования

В качестве объекта исследований использованы генотипы сортов картофеля «Аксор» и «Орбита» из селекции "Казахского научно-исследовательского института картофелеводства и овощеводства" (КазНИИКО) и РГП «ИМБиБ им. М.А. Айтхожина».

Картофель «Аксор» - сорт относительно жаростойкий и засухоустойчивый, среднеспелый, среднеурожайный. Производственный потенциал урожайности находится в пределах 55 т/га. Содержание крахмала 18 %. Относительно устойчив к заболеваниям, универсального назначения [16].

Картофель «Орбита» - сорт среднегородайный, относительно устойчивый к грибным заболеваниям, создан на основе результатов клеточной селекции в условиях космической микрогравитации и проведенных полевых селекционных испытаний на Земле. Относительно устойчив к стрессовым биотическим и абиотическим факторам среды. Производственный потенциал урожайности находится в пределах 40 - 50 т/га. Содержание крахмала 17 - 19 % [17].

Получение клеточных культур картофеля. Для получения каллусных культур картофеля использована универсальная среда Муласиге и Скуга (МС) с добавлением гормонов индолилуксусной кислоты (ИУК) 1 мл/л и 6-бензиламинопурин (6-БАП) 2 мл/л [18]. Для получения суспензии отбирали ярко-желтые глобулярные каллусы с гладкой матовой поверхностью и рыхлой структурой. Для переноса в жидкую среду из таких каллусов отбирали морфогенные участки, 1-2 г. каллусной ткани культивировали плоскодонной колбе (объем 250 мл) в 30 мл жидкой питательной

среды АА [19]. Суспензию культивировали на шейкере при режиме 120 об/ мин при $27\pm1^{\circ}\text{C}$ на рассеянном свету. Субкультивирование проводили один раз в неделю. Через 1 - 2 месяцев получали активно растущую, мелко агрегированную, морфологически однородную суспензионную культуру, образованную из клеток меристемоидного типа с плотной цитоплазмой и тонкой клеточной стенкой.

Клеточная селекция. В основе клеточной селекции использовали принцип отбора генетически измененных клеток в присутствии селективного агента и последующей регенерации из них растений [20,21]. Для проведения клеточной селекции на засухоустойчивость в суспензионной культуре картофеля использовали подобранную ранее оптимальную концентрацию маннитола-0,15 М, который добавляли в жидкую питательную среду АА. Суспензию культивировали на шейкере при режиме 120 об/ мин при $27\pm1^{\circ}\text{C}$ на рассеянном свете. Селекцию проводили по классической ступенчатой схеме: культивирование клеток в неселективных условиях (14 суток); культивирование клеток в селективных условиях (2 субкультивирования с периодом 7 суток); перенос клеток в неселективные условия (14 суток); перенос клеток в селективные условия (2 субкультивирования по 7 суток).

Регенерация растений из селектированных клеточных культур. Для регенерации растений картофеля из селектированных морфогенных каллусов, каллусы культивировали на ранее оптимизированной нами агаризованной питательной среде Мурасиге - Скуга (МС), содержащей 0,5 мг/л кинетин, 1,0 мг/л 2,4-Д, 5,0 мг витаминов и 30 г/л сахарозы. Каллусы культивировались при температуре воздуха $24 - 26^{\circ}\text{C}$, при освещенности 3 000 люкс на стеллажах с лампами дневного света в светокультуральной комнате [22].

Результаты исследований и их обсуждение

Получение клеточных культур и клеточная селекция на засухоустойчивость. Из черенков и листовых пластинок пробирочных растений на агаризованной МС среде с добавлением гормонов ИУК и 6-БАП были получены морфогенные каллусы картофеля, послужившие исходным материалом для суспензионной клеточной культуры. Для получения суспензионной культуры, часть каллусов картофеля генотипов «Аксор» и «Орбита» по мере наработки биомассы были введены в жидкую питательную среду АА с высоким содержанием аминокислот: глицин - 22,5 мг/л, глутамин - 253,1 мг/л, аргинин - 68,4 мг/л, аспарагиновая кислота - 79,8 мг/л и минеральных солей: $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ - 134 мг/л, KNO_3 - 3 г/л, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 500 мг/л. Суспензию культивировали в течение 1 месяца на шейкере при 120 об./мин, при $24-26^{\circ}\text{C}$. Через 4-6 недель была получена активно растущая, морфологически однородная суспензионная культура картофеля, которую использовали для проведения клеточной селекции.

Для проведения клеточной селекции на засухоустойчивость в суспензионной культуре картофеля использовали подобранную ранее оптимальную концентрацию маннитола - 0,15 М, который добавляли в жидкую питательную среду АА. В качестве контроля использовали суспензионные культуры картофеля сорта «Аксор» и «Орбита», культивируемые без добавления маннитола. После культивирования суспензионных клеток картофеля на селективной среде был произведен отбор жизнеспособных устойчивых к осмотическому стрессу клеток, из которых на агаризованной МС среде были наработаны морфогенные каллусы.

Получение и тиражирование растений-регенерантов картофеля из каллусных культур проводили на среде МС содержащей 0,5 мг/л кинетин, 1,0 мг/л 2,4-Д, 5,0 мг витаминов и 30 г/л сахарозы. В результате были получены тиражированные в необходимом объеме безвирусные пробирочные растения, семи новых засухоустойчивых линий картофеля сорта «Аксор» обозначенных как R1/M1 - R1/M7 и картофеля сорта «Орбита» обозначенных как R2/M1- R2/M7.

Перевод пробирочных растений новых селективных линий картофеля в закрытый грунт для испытания на засухоустойчивость в лабораторных условиях. Культивирование растений на изучение засухоустойчивости проводилось в два этапа: на первом этапе полученные пробирочные растения-регенеранты выращивались в условиях светокультуральной климатической комнаты, далее, на втором этапе – экспериментальные растения переносились для культивирования в условия парника.

Для проведения оценки на устойчивость к засухе растения-регенеранты 7 сомаклональных линий R1/M1 - R1/M7 сорта «Аксор» и 7 линий R2/M1- R2/M7 сорта «Орбита», полученных с помощью клеточной селекции после этапа предварительной адаптации к условиям *ex vitro*, подвергали воздействию стрессовых факторов, моделирующих условия засухи. Для достижения таких условий полив экспериментальных и контрольных растений осуществляли один раз в 7 дней. Температура воздуха поддерживалась в пределах 30-35⁰С. Низкий уровень влажности воздуха и высокие температуры воздуха достигались с помощью ламп с высокой мощностью освещения 600 Вт. в режиме 18 -ти часового светового дня. Все эксперименты проводились в трехкратной повторности.

Оценку устойчивости растений к стрессовому фактору засухи проводили по результатам визуального наблюдения. Оценивалось число выживших растений, и такие морфологические параметры как длина стебля, количество листьев и количество междоузлий. Исходя из полученных экспериментальных данных, представленных в таблице 1, установлено, что для сорта «Аксор» наибольшие показатели по устойчивости к засухе по сравнению с контролем, отмечены для растений линий R1/M1, R1/M3, R1/M5. Среднее число выживших растений линии R1/M1 составило 30 шт. на каждые 30 растений (100%), тогда как у контрольных растений этот показатель составил 18 шт. из 30 растений (60%).

Наименьшие показатели выживаемости растений селективных линий сорта «Аксор» отмечены для линий R1/M2 и R1/M6, среднее число живых растений к концу эксперимента составило у линии R1/M2 6 шт. (20%), у линии R1/M6 -3 растения (10%). У сорта «Орбита» наибольшими показателями на устойчивость к засухе по сравнению с контролем, отличались растения линии R2/M1, R2/M4 и R2/M7. Среднее число выживших растений линии R2/M1 составило 12 шт. на каждые 30 растений (40%), тогда как у контрольных растений этот показатель составил 9 шт. из 30 растений (30%). Среднее число выживших растений линии R2/M4 составило 10 шт. на каждые 30 растений (30%). Среднее общее число выживших растений линии R2/M7 составило 10 шт. на каждые 30 растений (30%). У сорта «Орбита» наибольшими показателями на устойчивость к засухе по сравнению с контролем, отличались растения линии R2/M1, R2/M4 и R2/M7.

Все растения-регенеранты, прошедшие первый этап адаптации и селекции в условиях свето-культуральной комнаты, были перенесены в закрытый грунт в условиях парника для проведения селекции новых линий на засухоустойчивость в естественных условиях.

Наблюдения за ростом и развитием растений-регенерантов и последующий сбор данных касательно морфологических признаков проводился на 7, 14, 21 дни после высадки растений в закрытый грунт в условиях парника. Результаты показаны в таблицах 1 и 2. С целью стимуляции роста на протяжении всего культивирования проводилось окучивание растений – регенерантов с периодичностью 1 раз в неделю.

Результаты морфологического анализа растений, полученные на 21 день культивирования в условиях грунта, показали, что все растения-регенеранты исследуемых линий развивались с разной интенсивностью. Было установлено, что из семи селективных линий картофеля сорта «Аксор», растения линий R1/M1, R1/M2, R1/M3, R1/M5 показали наибольшую интенсивность роста стебля и количество листьев за этот период развития по сравнению с контрольным вариантом и с остальными линиями. Наименьший рост растений и количество листьев был отмечен в растениях линий R1/M7, R1/M4 (см. таблица 1).

Морфологические параметры развития растений линии сорта «Орбита» варьировали с разной степенью интенсивности, полученные данные приведены в таблице 2. Было установлено, что из семи селективных линий сорта «Орбита», линии R2/M-1 и R2/M-7 по всем показателям значительно выше, чем линия R2/M-4, показатели которой несколько ниже по сравнению с контролем. Анализ полученных данных показал, что растения-регенеранты селективной линии R2/M-7 по длине стеблей были значительно выше по сравнению с контрольным вариантом, в то время как линии R2/M2, R2/M3, R2/M5 и R2/M6 показали низкую степень засухоустойчивости, что привело к их полной гибели к концу эксперимента.

Таким образом, по результатам испытаний в условиях *ex vivo* было установлено, что наиболее устойчивыми к засухе, по оценке морфологических параметров оказались 3 линии сорта «Аксор» (R1/M1, R1/M3, R1/M5) и 2 линии сорта «Орбита» (R2/M1, R2/M7).

Таблица 1 – Морфологические показатели линий сорта картофеля «Аксор» в условиях парника

Линии сорта «Аксор»	Высота стебля, см				Количество листьев, шт.				Количество междуузлий, шт.			
	0 день	7 день	14 день	21 день	0 день	7 день	14 день	21 день	0 день	7 день	14 день	21 день
Контроль	7,6	12,0	17,0	21,3	8,6	28,0	55,0	57,6	6,3	7,3	9,0	10,0
R1/M1	14,3	15,4	12,1	23,3	6,6	24,2	42,0	52,3	4,6	6,2	8,0	10,6
R1/M2	13,2	15,0	10,6	21,6	6,0	16,8	23,6	43,3	4,5	5,0	5,6	8,3
R1/M3	11,3	12,6	14,3	19,0	4,6	15,0	21,3	58	3,3	5,4	6,0	10
R1/M4	11	11,6	11,3	21,6	5,0	14,6	26,3	34,6	3,0	4,4	6,0	6,6
R1/M5	14,6	16,7	13,0	18,0	9,3	21,0	30,0	28,6	5,0	6,8	7,3	6,6
R1/M6	14,6	17,1	14,5	20,3	7,6	23,2	37,0	44,6	4,6	6,0	7,0	10,0
R1/M7	13,3	16,5	11,8	19,3	7,6	16,5	26,3	47,3	6,0	6,0	6,0	8,3

Таблица 2 – Морфологические показатели линий сорта картофеля «Орбита» в условиях парника

Линии сорта картофеля «Орбита»	Высота стебля, см				Количество листьев, шт.				Количество междуузлий, шт.			
	0 день	7 день	14 день	21 день	0 день	7 день	14 день	21 день	0 день	7 день	14 день	21 день
Контроль	11,5	14,5	10,5	22,0	10,6	17,3	26,0	48,6	7,3	7,3	6,6	7,0
R2/M1	11,9	12,8	17,0	22,6	10,3	12,8	15,3	26,3	5,0	5,0	5,0	5,3
R2/M2	11,9	16,3	11,6	–	10,3	16,3	18,3	–	8,0	7,2	6,6	–
R2/M3	10,9	11,3	9,0	–	8,3	9,9	14,0	–	6,6	5,4	4,3	–
R2/M4	9,2	16,7	8,6	21,3	6,6	17,3	20,3	49,3	4,0	4,3	4,6	7,6
R2/M5	9,0	11,3	7,6	–	10,6	15,5	21,3	–	6,6	6,8	7,0	–
R2/M6	10,4	15,4	12,1	–	10,6	17,3	23,3	–	6,3	6,6	7,0	–
R2/M7	9,4	10,4	15,0	22,7	10,0	16,0	24,0	56,0	6,3	6,6	7,4	8,0

На следующем этапе работы проводили отбор устойчивых к засухе линий картофеля на основе урожая миниклубней новых линий в закрытом грунте. Сбор урожая миниклубней от полученных линий двух сортов («Аксор», «Орбита»), селективных по засухоустойчивости проводили вручную через 90 дней после посадки в закрытый грунт. Оценку урожайности миниклубней картофеля селективных линий проводили по следующим параметрам: общий вес клубней, среднее количество клубней на растение, средний вес клубней на растение, данные урожайности сортов показаны в таблицах 3 и 4.

Продуктивность селективных засухоустойчивых линий картофеля сорта «Аксор» и «Орбита» по 7 линий на каждый сорт, за период вегетации в закрытом грунте была различной. Наименьшие показатели по среднему количеству и весу миниклубней с куста были отмечены у растений-регенерантов линий сорта «Аксор» R1/M2, R1/M4, R1/M6 и R1/M7, а так же линии сорта «Орбита» R2/M4. Количество клубней с одного растения для этих линий составило в среднем по 2 миниклубня, средний вес полученных миниклубней на одно растение так же оказался самым минимальным из всех 7 линий: R1/M2-0,9 г, R1/M4-2,4 г, R1/M6-9,9 г и R1/M7-1,7 г, что практически незначительно превышает данные, полученные в контрольных растениях. У линий сорта «Орбита» R2/M2, R2/M3, R2/M5 и R2/M6 клубни не были получены (таблицы 3, 4).

Как следует из приведенных в таблицах 3 и 4 данных, наибольшую урожайность среди растений всех 7 селективных линий показали растения линий сорта «Аксор» R1/M1, R1/M3 и R1/M5. Урожайность растений этих линий в среднем составила 1,4, 1 и 2,2 миниклубней на одно растение, соответственно, не превышает показатели контрольных растений (2,6 миниклубня). Средний вес миниклубней линии R1/M1, R1/M3 составил 3 и 6,3 г в пересчете на одно растение, для линии R1/M5-3,3 г на одно растение.

Таблица 3 – Показатели урожайности устойчивых к засухе селективных линий картофеля, выращиваемых в условиях *in vivo*

Линии сорта Картофеля «Аксор»	Количество растений, шт.	Среднее количество клубней/растение, шт.	Средний вес клубней/растение, г
Контроль	10	2,6	2,2
R1/M1	10	1,4	3,0
R1/M2	10	0,6	0,9
R1/M3	10	1,0	6,3
R1/M4	10	1,0	2,4
R1/M5	10	2,2	3,3
R1/M6	10	0,2	1,6
R1/M7	10	0,6	1,7

Таблица 4 – Показатели урожайности устойчивых к засухе селективных линий картофеля, выращиваемых в условиях *in vivo*

Линии сорта Картофеля «Орбита»	Количество растений, шт.	Среднее количество клубней/растение, шт.	Средний вес клубней/растение, г
Контроль	10	0,8	1,7
R2/M1	10	1,0	1,9
R2/M2	10	–	–
R2/M3	10	–	–
R2/M4	10	0,6	1,6
R2/M5	10	–	–
R2/M6	10	–	–
R2/M7	10	0,6	4,0

Таким образом, по результатам проведенных экспериментов получено 5 наиболее перспективных засухоустойчивых линий обоих сортов картофеля: 3 линии сорта «Аксор» (R1/M1, R1/M3, R1/M5) и 2 линии сорта «Орбита» (R2/M1, R2/M7) для дальнейшего использования в сельском хозяйстве.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] <http://www.fao.org/potato-2008>.
- [2] Вечер А.С., Гончарик М.Н. Физиология и биохимия картофеля. Минск, 1973, с.264.
- [3] Haverkort A. J., Donald K. L., MacKerron Potato ecology and modelling of crops under conditions limiting growth, Kluwer Academic Publishers, 1995. P. 281 - 290.
- [4] Bayoumi T., Eid M., Metwali E. Application of physiological and biochemical indices as a screening technique for drought tolerance in wheat genotypes. Afr.J. Biotechnology. 2008. V. 7 (14). P. 2341-2352.
- [5] Бавол А.В., Дубровная О.В., Лялько И.И. Использование методов клеточной селекции для повышения устойчивости пшеницы к офиоболезной корневой гнили. Биотехнология клеток растений *in vitro* и биотехнология: тез. докл. междунар. научн. конф. Звенигород, 2008. С. 26.
- [6] Пролетова Н.В., Поляков А.В., Лошакова Н.И., Карапова С.Л. Использование методов культуры пыльников и клеточной селекции для получения форм льна, устойчивых к фузариозному увяданию. Тезисы докладов Междунар. конф. «Генетика в 21 веке: состояние и перспективы развития». Москва, 2004. Т. 1. С. 256
- [7] Švabová L., Lebeda E. In vitro selection for improved plant resistance to toxin-producing pathogens. J. Phytopathology. 2005. V. 153. P. 52-64.
- [8] Hollmann P.J., Lohbrunner G.K., Shamoun S.F., Lee S.P. Establishment and characterization of Rubus tissue culture system for *in vitro* bioassays against phytotoxins from Rubus fungal pathogens. Plant Cell Tissue Organ Cult. 2002. V. 68. P. 43-48.
- [9] Jayasankar S., Li Z., Gray D.J. In-vitro selection of *Vitis vinifera* 'Chardonnay' with *Elsinoe ampelina* culture filtrate is accompanied by fungal resistance and enhanced secretion of chitinase / Planta. 2000. V. 211(2). P. 200-208.
- [10] Kasem Z. Ahmed, Mesterházy Á., Bartók T., Sági F. In vitro techniques for selecting wheat (*Triticum aestivum* L.) for Fusarium-resistance. II. Culture filtrate technique and inheritance of Fusarium-resistance in the somaclones. Euphytica. 1996. V. 91(3). P. 341-349.
- [11] Chawla H.S., Wenzel G. In vitro selection for fusaric acid resistant barley plants. Plant Breed. 1987. V. 99. P. 159-163.
- [12] Vidal K., Guernache F., Timothy L. Widmer. In vitro culturing of yellow starthistle (*Centaurea solstitialis*) for screening biological control agents. Biological Control. 2004. V. 30. P. 330-335.

- [13] Pontaroli A.C., Camadro E.L., Babinec F.J., Ridao A. Responses of Asparagus officinalis pollen to the culture filtrate of Fusarium oxysporum f.sp. asparagi. *Scientia Horticulturae*. 2000. V. 84. P. 349-356.
- [14] Калашникова Е.А. Клеточная селекция растений на устойчивость к грибным болезням. дисс.докт. биол. наук. Москва, 2003, 282 с.
- [15] Мезенцева О.Ю. Использование тканевых и клеточных культур в селекции на устойчивость к фитопатогенам. Селекция и семеноводство. 1990. № 4. С. 59-62.
- [16] http://www.kartofel.org.cultivars.reg_cult.aksor.pdf
- [17] <http://kazniiko.kz>
- [18] Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with Tobacco tissue cultures, *Physiol. Plant.* 1962, Vol. 15. P. 473 - 497.
- [19] Калашникова Е.А., Нгuyen Т.Х., Пронина Н.Б. Получение in vitro клеточных и тканевых культур подсолнечника, устойчивых к Sclerotinia sclerotiorum, Биотехнология клеток растений in vitro и биотехнология: тез. докл. Междунар. науч.конф. Звенигород, 2008, С.158.
- [20] Калашникова Е.А. Клеточная селекция растений на устойчивость к грибным болезням. дисс. докт. биол. наук. М. 2003, С. 282.
- [21] Ватад А.А., Слуис К., А. Начмиас Ускоренное размножение испытанного на вирусы картофеля. Вирусные и вирусоподобные болезни и семеноводство картофеля. Под ред. Г. Лебенштейна.СПб.,2005,С.229-239.
- [22] Шевелуха В.С. Сельскохозяйственная биотехнология Т.2. М.: Воскресенье, 2001, С.468.

REFERENCES

- [1] <http://www.fao.org.potato-2008>.
- [2] Vecher A.C., Goncharik M.N. Physiology and biochemistry of the potato. Minsk, 1973. P. 264.
- [3] Haverkort A. J., Donald K. L., MacKerron Potato ecology and modelling of crops under conditions limiting growth. Kluwer Academic Publishers, 1995. - P. 281 - 290.
- [4] Bayoumi T., Eid M., Metwali E. Application of physiological and biochemical indices as a screening technique for drought tolerance in wheat genotypes. *Afr.J. Biotechnology*. - 2008. - V. 7 (14). - P. 2341-2352.
- [5] Bavol A.V., Dubrovnaja O.V., Ljal'ko I.I. Using the methods of cell selection to improve wheat resistance to root rot ofioboleznay. Materialy mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferencii "Biotehnologija kletok rastenij in vitro i biotehnologija" [Proc.of reports.Intern. scientific conf. "Biotehnologija of plant cells in vitro and biotechnology"]Zvenigorod, 2008. P.26. (In Russian).
- [6] Proletova N.V., Poljakov A.V., Loshakova N.I., Karanova S.L. Using the methods of anther culture and cell selection for flax forms resistant to Fusarium wilt. *Tezisy dokladov mezhdunarodnoy konferencii "Genetika v 21 veke:sostojanie i perspektivy razvitiya."* [Proc.of reports.Intern. scientific conf.] Moscow,2004. Vol.1. P.256. (In Russian).
- [7] Švabova L., Lebeda E. In vitro selection for improved plant resistance to toxin-producing pathogens. *J. Phytopathology*. 2005. V. 153. P. 52-64.
- [8] Hollmann P.J., Lohbrunner G.K., Shamoun S.F., Lee S.P. Establishment and characterization of Rubus tissue culture system for in vitro bioassays against phytotoxins from Rubus fungal pathogens. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 2002. V. 68. P. 43-48.
- [9] Jayasankar S., Li Z., Gray D.J. In-vitro selection of Vitis vinifera 'Chardonnay' with Elsinoe ampelina culture filtrate is accompanied by fungal resistance and enhanced secretion of chitinase *Planta*. 2000. V. 211(2). P. 200-208.
- [10] Kasem Z. Ahmed, Mesterházy Á., Bartók T., Sági F. In vitro techniques for selecting wheat (*Triticum aestivum* L.) for Fusarium-resistance. II. Culture filtrate technique and inheritance of Fusarium-resistance in the somaclones. *Euphytica*. 1996. V. 91(3). -P. 341-349.
- [11] Chawla H.S., Wenzel G. In vitro selection for fusaric acid resistant barley plants. *Plant Breed.* 1987. V. 99. P. 159-163.
- [12] Vidal K., Guermache F., Timothy L. Widmer. In vitro culturing of yellow starthistle (*Centaurea solstitialis*) for screening biological control agents. *Biological Control*. 2004. -V. 30. P. 330-335.
- [13] Pontaroli A.C., Camadro E.L., Babinec F.J., Ridao A. Responses of Asparagus officinalis pollen to the culture filtrate of Fusarium oxysporum f.sp. asparagi. *Scientia Horticulturae*. 2000. V. 84. P. 349-356.
- [14] Kalashnikova E.A. Cell plant breeding for resistance to fungal diseases *Diss. dokt. biol. Nauk.* M. 2003. 282.
- [15] Mezenceva O.Ju. Using tissue and cell cultures in the selection for resistance to phytopathogens. *Selekcija i semenovodstvo. J.Breeding and Seed Production*, 1990,no 4 pp.59-62. (In Russian).
- [16] http://www.kartofel.org.cultivars.reg_cult.aksor.pdf
- [17] <http://kazniiko.kz>
- [18] Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with Tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 1962. Vol. 15. P. 473 - 497.
- [19] Kalashnikova E.A., Nguyen T.H., Pronina N.B. Preparation of in vitro cell and tissue culture of sunflower resistant to Sclerotinia sclerotiorum. Materialy mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferencii "Biotehnologija kletok rastenij in vitro i biotehnologija" [Proc.of reports.Intern. scientific conf. "Biotehnologija of plant cells in vitro and biotechnology"]Zvenigorod, 2008. P.158. (In Russian).
- [20] Kalashnikova E.A. Cell plant breeding for resistance to fungal diseases *Diss. dokt. biol. nauk.* M. 2003. 282.
- [21] Vatad A.A., Sluis K., A.Nachmias Accelerated breeding tested for viruses potato Virusnye i virusopodobnye bolezni i semenovodstvo kartofelia. Viral and virus diseases and seed potatoes. By Edit Lebenshtein G. St.Peterburg, 2005,pp.229-239. (In Russian).
- [22] Sheveluhu V.S. Selskohozjajstvennaja biotehnologija [Agricultural biotechnology], Moscow, Vol.2, 2001. P 468. (In Russian).

КЛЕТКАЛЫҚ СЕЛЕКЦИЯ ӘДІСІМЕН КАРТОПТЫҢ ҚҰРҒАҚШЫЛЫҚҚА ТӨЗІМДІ ЖАҢА ЛИНИЯЛАРЫН АЛУ

Б. К. Тезекбаева, А. А. Калиева, Н. П. Малахова

РМК М. А. Айтхожин атындағы «Молекулалық биология және биохимия институты» ҚР БФМ FK,
Алматы, Қазақстан

Тірек сөздер: картоп, клетка культурасы, вируссыз өсімдік, клеткалық селекция, құрғақшылыққа төзімділік.

Аннотация. Ғылыми зерттеу жұмыс барысында клеткалық селекция әдісімен картоптың құрғақшылыққа төзімді жаңа линияларын алу нәтижелері қөрсетілген. Жұмыс барысында іріктемелі фактор маннитолдың (0.15M) тиімді концентрациясын пайдалана отырып, «Ақсор» және «Орбита» картоп сорттарының клеткалық культураларының құрғақшылыққа төзімді белгілері бойынша селекция жүргізілді. Картоптың «Ақсор» және «Орбита» сорттарының құрғақшылыққа төзімді жаңа каллустық культуралары және алғашқы пробиркалық өсімдік-регенеранттары алынды. *In vitro* жағдайында ары қарай микроклонды көбейту үшін культивирлеу жағдайы онтайландырылды. Картоптың «Ақсор» және «Орбита» сорттарының құрғақшылыққа төзімділік қасиеті жақсартылған, жаңа төзімді линиялары алынды. Жылыжай жағдайында жаңа линияларға зерттеу жүргізілді. *In vitro* жағдайында екі сорттың құрғақшылыққа төзімді 7 линиялардың ішінен «Ақсор» сорттың 3 линиясы (R1/M1, R1/M3, R1/M5) және «Орбита» сорттың 2 линиясы (R2/M1, R2/M7) перспективті деп анықталып, ары қарай ауыл шаруашылық саласында пайдалануға ұсынылды.

Поступила 02.02.2016 г.