

*Н. П. МАЛАХОВА, Б. К. ЖУМАГЕЛЬДИНОВ, ХАСЕЙН А,
Б. К. ТЕЗЕКБАЕВА, А. А. КАЛИЕВА, А. Б. АХМЕТЖАНОВА*

(РГП «Институт молекулярной биологии и биохимии им. М. А. Айтхожина» КН МОН РК,
Алматы, Казахстан. E-mail: tasha_malakhova@mail.ru)

ПОЛУЧЕНИЕ НОВЫХ ПЕРСПЕКТИВНЫХ ЛИНИЙ КАРТОФЕЛЯ С ПОВЫШЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ К ЗАСУХЕ НА ОСНОВЕ КЛЕТОЧНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ

Аннотация. В статье представлены результаты научных исследований по созданию новых линий картофеля с повышенной засухоустойчивостью для южных регионов Казахстана методами клеточной селекции и биотехнологии. Получены новые перспективные линии картофеля от сорта «Аксор» с повышенной устойчивостью к засухе и высоким температурам. Методом иммуно-ферментного анализа проведена оценка растений-регенерантов новых линий на вирусные заболевания. По результатам экологического тестирования новых линий на засухоустойчивость и урожайность в естественных условиях засухи выявлено 5 линий, превосходящие исходный сорт по этим параметрам.

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

Тірек сөздер: картоп, клетка культураны, клеткалық селекция, құрғақшылыққа төзімділік, вирусыз өсімдік.

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

Введение. Ежегодные значительные потери урожая картофеля в южных и юго-восточных областях Казахстана непосредственно связаны с особенностями возделывания этой культуры в условиях жаркого и засушливого климата. Используемые для культивирования в этих областях сорта картофеля должны быть хорошо адаптированы к высоким температурам, демонстрировать устойчивость к засухе и основным болезням и вредителям. Широкое применение перспективных сортов зарубежной селекции и отечественных сортов картофеля в этих районах ограничено их быстрой вырождаемостью, высоким инфекционным индексом поражения семенного материала и значительным снижением урожайности в течение 2–3 лет. Причинами такого явления считают снижение иммунного ответа растений в результате теплового шока из-за высоких температур, в результате чего относительно устойчивые сорта становятся восприимчивыми к болезням и вырождаются [1]. Одним из наиболее эффективных путей решения этой проблемы является применение новых, высокоурожайных, адаптированных к засухе устойчивых сортов и линий картофеля, полученных с помощью современных методов клеточной селекции и биотехнологии. Благодаря использованию этих методов стало возможным в сжатые сроки получить новые формы растений с признаками, значительно превосходящими исходные формы по ряду таких качеств, как устойчивость к высоким температурам, низкой влажности почвы и воздуха, засоленности почвы, действию фитопатогенов. 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 [2–13]. Кроме того, применение современных биотехнологических подходов позволяет успешно решать вопросы оздоровления семенного материала картофеля что, несомненно, является актуальным в условиях повсеместного снижения качества посевного картофеля, используемого для картофелеводства в Казахстане [14]. Таким образом, сочетание методов современной клеточной биологии и биотехнологии является идеальным инструментом для решения проблемы улучшения уже существующих сортов отечественной селекции и оздоровления семенного материала картофеля.

Целью данного исследования являлось получение новых безвирусных линий перспективного сорта отечественной селекции «Аксор» с повышенной устойчивостью к почвенной засухе и высоким температурам с помощью методов клеточной селекции и биотехнологии.

Объекты и методы исследования

В качестве объекта исследований использованы растения картофеля (*Solanum tuberosum* L.) сорта «Аксор» из селекции «Казахского научно-исследовательского института картофелеводства и овощеводства». Сорт характеризуется хорошей жаростойкостью, средней урожайностью и относительной устойчивостью к вирусным заболеваниям [15].

Получение оздоровленных безвирусных растений картофеля. Безвирусные растения картофеля сорта «Аксор» получали из апикальной меристемы клубней, выдержанных при температуре 33–37°C в термостате в течение 3–4 недель. Из апикальной меристемы клубней картофеля на питательной среде Мурасиге и Скуга (МС) с добавлением гормонов индолилуксусной кислоты (ИУК) 0,5 мл/л и акпинола 0,001 мг/л получали первичные безвирусные пробирочные растения [16, 17].

Микроклональное размножение растений картофеля в условиях *in vitro*. Размножение растений картофеля в условиях *in vitro* проводили путем микрочеренкования пробирочных растений, достигших высоты 10–12 см, с 6–8 междоузлиями в стерильных условиях. Культивирование растений проводили на МС среде при температуре воздуха 20–23°C, влажности воздуха 70–80%, при освещенности 3–4 тысячи люкс, с фотопериодом 16 часов [18]. Для оптимизации роста растений в питательную среду добавляли фитогормоны: ИУК в концентрации 1,0 мг/л и гибберелловую кислоту (ГК) – 2,0 мг/л в сочетании с кинетином – 0,5 мг.

Анализ растений-регенерантов картофеля на инфицированность вирусами. Пробирочные растения-регенеранты проверяли на инфицированность вирусами PVX, PVY, PVS, PVM, PVL на иммуноферментном анализаторе марки «Multiskan Ascent» фирмы Thermo. В работе использовали диагностические наборы для определения вирусов картофеля производства фирмы AGDIA – BIOFORDS, Франция. Оценку результатов ИФА осуществляли на фотометре при длине волны 405 нм.

Получение клеточных культур картофеля. Для получения каллусных культур картофеля использовали универсальную среду МС с добавлением сахарозы 20 г/л, агара 8 г/л и гормонов: ИУК 1 мл/л, 6-бензиламинопуридин (6-БАП) 2 мл/л. [19]. Каллусы получали из междоузлий и листовых пластинок растений-регенерантов картофеля. Каллусы высаживались в чашки Петри и культивировались в термостате при постоянной температуре 24°C и 70%-ной влажности воздуха, без освещения [17, 20].

Для получения суспензии 1–2 г морфогенной каллусной ткани культивировали в 30 мл жидкой аминокислотной питательной среды (АА). Состав среды АА (мг/л): KCl – 2,940 мг, CaCl₂·2H₂O – 440 мг, MgSO₄·7H₂O – 370 мг, KН₂PO₄ – 17,0 мг, микросоли – 1,0 мл, Fe-хелат – 5,0 мл, myo-Inositol – 100,0 мг, никотиновая кислота – 0,5 мг, пиридоксин – 0,1 мл, тиамин – 0,5 мл, Glycine – 75,0 мг, L-Glutamine – 877,0 мг, L-Aspartic acid – 266,0 мг, L-Arginine – 228,0 мг, с добавлением сахарозы – 30,0 г/л; 2,4-Д – 2,0 мг/л; кинетин – 0,2 мг/л и 0,1 мг/л ГК, pH 5.8 [21]. Суспензию культивировали на шейкере при режиме 120 об/мин. при 27°C на рассеянном свете. Субкультивирование проводили один раз в неделю. Через 4–6 недель получали активно растущую, мелко агрегированную, морфологически однородную суспензионную культуру.

Клеточная селекция. В основе клеточной селекции использовали принцип отбора генетически измененных клеток в присутствии селективного агента и последующей регенерации из них растений [22, 23]. Для проведения клеточной селекции на засухоустойчивость в суспензионной культуре картофеля использовали подобранную ранее оптимальную концентрацию маннитола – 0,15М, который добавляли в жидкую аминокислотную среду АА. Клеточную селекцию в суспензионной культуре картофеля 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).

Результаты исследования и их обсуждение

Получение клеточных культур и клеточная селекция на засухоустойчивость. Для получения клеточных культур картофеля и проведения клеточной селекции на засухоустойчивость, нами был осуществлен предварительный этап подготовки и оздоровления исходного материала. Из

апикальной меристемы визуально здоровых клубней картофеля, были получены и размножены первичные безвирусные пробирочные растения. Из междоузлий 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. Суспензионную культуру картофеля нарабатывали на жидкой питательной среде с высоким содержанием аминокислот (АА). Через 4–6 недель была получена активно растущая, мелко агрегированная, морфологически однородная суспензионная культура картофеля, которую использовали для проведения клеточной селекции.

Клеточную селекцию в суспензионной культуре картофеля проводили на среде АА с использованием селективного агента маннитола (0,15 М). В качестве контроля использовали суспензионные культуры картофеля сорта Аксор, 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 размножение растений-регенерантов картофеля. Получение растений-регенерантов картофеля из каллусных культур проводили на ранее оптимизированной нами среде для регенерации МС с добавлением ИУК (1 мг/л) и БАП (1 мг/л). Всего было получено 8 новых линий растений-регенерантов картофеля сорта Аксор с различным спектром засухоустойчивости. ИФА анализ пробирочных растений-регенерантов всех новых линий картофеля на инфицированность вирусами PVX, PVY, PVS, PVM, PVL показал отсутствие вирусной инфекции во всех растениях-регенерантах селективных линий картофеля. Далее, безвирусные растения-регенеранты всех линий были размножены методом микрочеренкования. Микроклональное размножение растений проводили в культуре *in vitro* на МС среде с фитогормонами ИУК (1,0 мг/л) и акпинолом (0,001 мг/л) [23]. В результате были получены тиражированные в необходимом объеме безвирусные пробирочные растения восьми новых засухоустойчивых линий картофеля сорта «Аксор» R37/A-3, R37/A-4, R37/A-9, R37/A-11, R37/A-12, R37/A-15, R37/A-17, R37/A-22.

Оценка новых линий на засухоустойчивость. Для проведения оценки засухоустойчивости новых линий картофеля, растения-регенеранты сначала адаптировали к условиям *ex vitro*, после чего переводили в пленочный парник, в условия, максимально приближенные к естественным. Принимая во внимание тот факт, что перевод пробирочных растений в условия *in vivo* и их дальнейшая адаптация к температурному, световому и водному режимам является серьезным стрессовым фактором, адаптацию растений-регенерантов новых линий проводили в два этапа. На первом этапе пробирочные растения были пересажены в индивидуальные пластиковые стаканчики с автоклавированной почвенной смесью (торф – земля – песок в соотношении 1:1:1), обработаны МС средой и помещены в светокультуральную климатическую камеру с 18-ти часовым световым днем, влажностью 70%, освещением 3000–5000 люкс и температурой: днев. + 25°C / ночн. + 22°C, для их укоренения и адаптации к естественному световому и температурному режиму. На данном этапе общая приживаемость пересаженных в почвенную смесь растений-регенерантов картофеля селективных форм составила около 87% от общего числа проростков. Процент приживаемости контрольных, не селектированных растений-регенерантов, оказался незначительно выше и составил 90%.

Второй адаптационный этап культивирования проводили через 2 недели после высадки растений-регенерантов в грунт. Дневную температуру культивирования повышали до + 35°C в световой период в течение 5 дней. Влажность уменьшали до 30%. На данном этапе результаты исследований выявили разную адаптационную способность растений-регенерантов для всех 8 селективных линий. Наиболее высокую адаптивную способность показали линии R37/A-3, R37/A-4, R37/A-15, R37/A-17 и R37/A-22. Процент выживших растений этих линий после селективного этапа составил в среднем – 87 (± 2)%. Растения линий: R37/A-9, R37/A-11 R37/A-12 показали более низкий уровень адаптивной способности к высоким температурным условиям и низкой влажности. Всего общий процент выживших растений для всех трех линий после второго этапа адаптации составил 74(±3)% растений. Процент выживаемости контрольных растений-регенерантов на данном этапе составил 75%.

Все растения-регенеранты, прошедшие адаптацию к высоким температурам в условиях климатической камеры, были высажены в конце мая в закрытый грунт (парник) на территории экспериментального участка «КазНИИКО» для проведения селекции новых линий на засухоустойчивость в естественных условиях (рисунок 1).



1



2

Рисунок 1 – Рост растений-регенерантов селективных линий сорта «Аксор» в пленочной теплице:
1 – вид растений через 15 дней после высадки; 2 – вид растений через 1 месяц

После высадки растений в закрытый грунт в условиях пленочной теплицы (парник) были проведены фенологические наблюдения за ростом и развитием растений.

Среднестатистические температурные условия культивирования в парнике соответствовали естественным природным параметрам и составляли: в июне $+27 + 29^{\circ}\text{C}$ днем и $+18 + 20^{\circ}\text{C}$ ночью, в июле $+32 + 34^{\circ}\text{C}$ днем и $+18 + 20^{\circ}\text{C}$ ночью, в августе $+29 + 32^{\circ}\text{C}$ днем и $+18 + 20^{\circ}\text{C}$ ночью. Таким образом, селекция на засухоустойчивость растений-регенерантов новых линий картофеля сорта «Аксор» проводилась в естественных климатических условиях засухи.

Было отмечено, что в первые 15 дней после высадки потери высаженных растений составили около 11% от общего числа. При этом наибольшее число погибших растений принадлежало линиям R37/A-9, R37/A-11 и R37/A-12, процент выпадения которых составил около 60% от общего числа потерь. Выпадение контрольных растений на данном этапе составило 23%.

Сбор морфологических данных, характеризующих рост и развитие растений-регенерантов селективных линий картофеля сорта «Аксор», проводился через 30, 60 и 90 дней после высадки растений в пленочную теплицу. Результаты морфологического анализа растений, полученные к концу первого месяца культивирования в условиях пленочной теплицы, показали, что все растения-регенеранты исследуемых линий развивались с разной интенсивностью, однако, в соответствии с определенными фазами онтогенеза своевременно формировали все надземные и подземные органы. Было установлено, что из восьми селективных линий картофеля сорта «Аксор», растения линий: R37/A-3, R37/A-4, R37/A-15, R37/A-17 и R37/A-22 показали наибольшую интенсивность роста стебля и количества листьев за этот период развития. Наименьший рост растений был отмечен в растениях линий R37/A-9 (10,45 см) и R37/A-12 (13,65 см). При этом выявлено, что растения линии R37/A-9, показавшие наименьшую высоту стебля и количество листьев отличаются большей площадью листа (5,3 см) среди всех линий.

В процессе вегетации через 60 дней после высадки растений в парник по изменению морфологических параметров было установлено, что наиболее активным ростом и развитием отличаются растения линий R37/A-3, R37/A-4, R37/A-15 и R37/A-17. При этом для растений двух линий R37/A-4 и R37/A-15 определены самые высокие показатели по высоте растений и числу междоузлий, по сравнению со всеми остальными. Наименьший результат по таким же параметрам был отмечен для растений линий R37/A-9 и R37/A-22.

Анализ морфологических данных за весь период вегетации (90 дней) показал, что растения-регенеранты селективных линий картофеля R37/A-4 и R37/A-15, значительно превосходят по всем показателям растения-регенеранты других селективных линий, как на начальном этапе культивирования в закрытом грунте, так и на более поздних этапах (таблица 1).

Таблица 1 – Морфологические параметры устойчивых к засухе растений-регенерантов картофеля сорта «Аксор», через 90 дней после высадки в условия *in vivo*

Сорт	Высота стебля, см	Длина корней, см	Кол-во междоузлий, шт.	Кол-во листьев, шт.	Кол-во придаточных корней, шт.	Площадь листьев, см ³
R37/A-3	59,03	20,1	11,1	55,6	20,2	27,2
R37/A-4	65,45	20,1	12,4	56,0	23,0	25,2
R37/A-9	46,7	18,5	9,9	42,3	18,1	26,7
R37/A-11	44,12	19,1	10,4	40,1	17,9	26,2
R37/A-12	43,2	18,02	9,1	39,1	17,2	29,3
R37/A-15	67,2	22,1	12,3	52,2	25,1	24,5
R37/A-17	64,07	20,0	10,4	53,4	21,2	25,7
R37/A-22	56,1	18,4	9,3	46,3	18,3	25,3
Контроль	23,0	19,0	10,7	47,0	18,2	25,7

Исключением из этой закономерности являлись данные, полученные при измерении площади листьев. Средняя площадь листьев растений-регенерантов линий R37/A-4 (25,2 см³) и R37/A-15 (24,5 см³) незначительно меньше, чем средняя площадь листьев растений-регенерантов всех остальных селективных линий (25,3–29,3 см³).

При этом все остальные показатели роста и развития растений-регенерантов этих двух линий несколько превышают средние данные, определенные для других селективных линий картофеля, участвующих в эксперименте (таблица 1). Очевидно, что редукция площади листьев у растений линий R37/A-4 и R37/A-15 может соответствовать физиологическим потребностям растений в уменьшении площади испарения с поверхности листьев во время засухи и является одним из признаков повышенной устойчивости растений к высокой температуре и низкому уровню влажности.

По окончании срока культивирования – через 90 дней после высадки в грунт был собран урожай мини клубней картофеля (рисунок 2) и проведен подсчет урожайности новых линий (таблица 2).



Рисунок 2 – Получение мини клубней засухоустойчивых селективных линий картофеля сорта «Аксор»

Оценку урожайности растений-регенерантов картофеля селективных линий проводили по следующим параметрам: количество выживших растений, среднее количество клубней на растение, средний вес клубней на растение.

Как видно из представленных в таблице 2 данных, продуктивность селективных растений-регенерантов картофеля всех линий за период вегетации в закрытом грунте оказалась различной. Наименьшие показатели по среднему количеству и среднему весу мини клубней с куста были отмечены для растений-регенерантов селективных линий R37/A-9, R37/A-11 и R37/A-22. Количество клубней с одного растения для этих линий составило в среднем 4 мини клубня, средний вес полученных мини клубней на одно растение так же оказался самым минимальным из всех 8 линий: R37/A-9 – 28,0 г, R37/A-11 – 28,8 г, R37/A-22 – 28,7 г, что практически незначительно превышает данные, полученные в контрольных растениях.

Таблица 2 – Показатели урожайности устойчивых к засухе селективных линий картофеля, выращиваемых в условиях *in vivo*

Линия / сорт	Количество растений, шт.	Среднее количество клубней/растение, шт.	Средний вес клубней/растение, г
R37/A-3	169	5	35,5
R37/A-4	171	6	48,6
R37/A-9	146	4	28,0
R37/A-11	150	4	28,8
R37/A-12	154	5	36,0
R37/A-15	177	7	50,6
R37/A-17	167	5	36,5
R37/A-22	144	4	28,7
Контроль	141	4	28,0

Наибольшую урожайность среди растений всех 8 селективных линий показали растения линий R37/A-15 и R37/A-4. Урожайность растений этих линий в среднем составила 7 и 6 миниклубней на одно растение, соответственно, что значительно превосходит показатели контрольных растений (4 миниклубня). Средний вес миниклубней линии R37/A-15 составил 50,6 г в пересчете на одно растение, для линии R37/A-4 – 48,6 г на одно растение. Для всех остальных, исследуемых на засухоустойчивость линий: R37/A-3, R37/A-12, R37/A-17, показатели урожайности в среднем значительно не отличались и варьировали в диапазоне от 35,5 г/растение (линия R37/A-13) до 36,5 г/растение (линия R37/A-17).

Исходя из данных, полученных в ходе анализа морфо-физиологических параметров роста и развития растений-регенерантов новых селективных линий картофеля в условиях близких к натуральным, можно заключить, что селективные линии R37/A-15 и R37/A-4 в испытаниях, проводимых в естественных условиях показали самые высокие значения, по сравнению со всеми остальными исследуемыми засухоустойчивыми линиями сорта «Аксор», полученными методом клеточной селекции. Основные показатели морфо-физиологических параметров по всем фазам онтогенеза и урожайности этих двух линий превышают таковые для других 6 испытываемых линий и контрольных растений, что является свидетельством того, что эти растения имеют более высокие адаптивные свойства к условиям засухи и являются перспективными для дальнейшего культивирования. Линии R37/A-3, R37/A-12 и R37/A-17 показали среднюю степень устойчивости к условиям засухи, что определялось по числу растений, успешно прошедших адаптацию к естественным условиям, морфо-физиологическими параметрами и количественными показателями их урожайности, превышающими таковые у растений исходного сорта (контроль). Эти линии так же могут быть использованы в дальнейшем для получения миниклубней и оздоровленного семенного материала для передачи в семеноводческие хозяйства. Растения линий R37/A-9, R37/A-11 и R37/A-22 в исследованиях показавшие минимальные значения параметров, определяющих их рост и развитие в естественных условиях, а также минимальные количественные данные по урожайности в условиях засухи по сравнению с исходным сортом, не могут быть использованы в дальнейшем в качестве новых перспективных линий с улучшенной устойчивостью к засухе.

Таким образом, в результате клеточной селекции с использованием биотехнологических методов были получены 2 новые перспективные линии картофеля отечественного сорта Аксор, значительно превосходящего исходный сорт по устойчивости к засухе и урожайности.

ЛИТЕРАТУРА

1 Асауов С.Т. Структура урожая семенного картофеля в условиях Южного Казахстана // «Состояние и перспективы научных исследований по картофелеводству, овощеводству и бахчеводству». Маг-лы междунар. науч-практич. конф. КазНИИКО. – Алматы: Кайнар, 2011. – С. 123-124.

2 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. – Vol. 7(14). – P. 2341-2352.

3 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.

4 Пролетова Н.В., Поляков А.В., Лопачова Н.И., Каранова С.Л. Использование методов культуры пыльников и клеточной селекции для получения форм льна, устойчивых к фузариозному увяданию // «Генетика в XXI веке: состояние и перспективы развития» тез. докл. междунар. конф. – М., 2004. – Т. 1. – С. 256.

5 Vabova L., Lebeda E. In vitro selection for improved plant resistance to toxin-producing pathogens // J. Phytopathology. – 2005. – Vol. 153. – P. 52-64.

6 Hollmann P.J., Lohbruner 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. – Vol. 68. – P. 43-48.

7 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. – Vol. 211(2). – P. 200-208.

8 Kasem Z. Ahmed, Mesterhazy Z., Bartok T., Szegi 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. – Vol. 91(3). – P. 341-349.

9 Chawla H.S., Wenzel G. In vitro selection for fusaric acid resistant barley plants // Plant Breed. – 1987. – Vol. 99. – P. 159-163.

10 Vidal K., Guermache F., Timothy L. Widmer. In vitro culturing of yellow starthistle (Centaurea solstitialis) for screening biological control agents // Biological Control. – 2004. – Vol. 30. – P. 330-335.

11 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. – Vol. 84. – P. 349-356.

12 Калашникова Е.А. Клеточная селекция растений на устойчивость к грибным болезням: Дис. ... докт. биол. наук. – М., 2003. – 282 с.

13 Мезенцева О.Ю. Использование тканевых и клеточных культур в селекции на устойчивость к фитопатогенам // Селекция и семеноводство. – 1990. – № 4. – С. 59-62.

14 Ахметова Ф.Ф. Производство оригинальных семян картофеля на безвирусной основе // «Современное состояние картофелеводства и овощеводства и их научное обеспечение» матер. междунар. науч.-практич. конф. НИИКОХ. – С. Кайнар, 2006. – С. 435-438.

15 Айтбаев Т.Е., Амиров Б.М. Сорга и гибриды картофеля и овощебахчевых культур селекции Казахского научно-исследовательского института картофелеводства и овощеводства // Каталог КазНИИКО. – С. Кайнар, 2011. – С. 11.

16 Фачиоли Г. Контроль вирусов картофеля с использованием культуры меристем и стеблевых черенков, термотерапии и хемотерапии // Вирусные и вирусоподобные болезни и семеноводство картофеля / Под ред. Г. Лебенштейна, Ф. Х. Бергера, А. А. Бранга, Р. Х. Лоусона. – СПб., 2005. – С. 210-228.

17 Генетические основы селекции растений. – Т. 3. Биотехнология в селекции растений. Клеточная инженерия // Науч. ред. А. В. Кильчевский, Л. В. Хотылева. – Минск: Беларус. навука, 2012. – С. 252-253.

18 Шевелуха В.С. Сельскохозяйственная биотехнология. – Т. 2. – М.: Воскресенье, 2001. – 468 с.

19 Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // Physiol. Plant. – 1962. – Vol. 15. – P. 473-497.

20 Gamborg O.L., Eveleigh D.E. Culture methods and detection of glucanases in cultures of wheat and barley // Can. J. Biochem. – 1968. – Vol. 46. – P. 417-421.

21 Калашникова Е.А., Нгуен 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. научн. конф. – Звенигород, 2008. – С. 158.

22 Калашникова Е.А. Клеточная селекция растений на устойчивость к грибным болезням: Дис. ... докт. биол. наук. – М., 2003. – С. 282.

23 Ватад А.А., Слусис К., Начмиас А. Ускоренное размножение испытанного на вирусы картофеля // Вирусные и вирусоподобные болезни и семеноводство картофеля / Под ред. Г. Лебенштейна. – СПб., 2005. – С. 229-239.

REFERENCES

1 Asauov S.T. Structure of crop seed in the conditions of Southern Kazakhstan. *Mat-ly mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferencii KazNIKO "Sostojanie i perspektivy nauchnyh issledovanij po kartofelevodstvu, ovoshhevodstvu i bahchevodstvu"*. [Proc. Intern. scientific-practical. conf. KazNIKO "Status and prospects of research on potato, vegetables and melons farming"]. Almaty: v. Kajnar, 2011. P. 123-124. (In Russian).

2 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. Vol. 7(14). P. 2341-2352.

3 Baval A.V., Dubrovnaia O.V., Ljal'ko I.I. Using the methods of cell selection to improve wheat resistance to root rot ofioboleznoy. *Materialy mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferencii "Biotehnologija kletok rastenij in vitro i biotehnologija"* [Proc. of reports. Intern. scientific conf. "Biotechnology of plant cells in vitro and biotechnology"]. Zvenigorod, 2008. P. 26. (In Russian).

4 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 razvitiija."* [Proc. of reports. Intern. scientific conf.]. M., 2004. Vol. 1. P. 256. (In Russian).

5 Vabova L., Lebeda E. In vitro selection for improved plant resistance to toxin-producing pathogens. *J. Phytopathology*. 2005. Vol. 153. P. 52-64.

- 6 Hollmann P.J., Lohbruner 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. Vol. 68. P. 43-48.
- 7 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. Vol. 211(2). P. 200-208.
- 8 Kasem Z. Ahmed, Mesterhazy Z., Bartok T., Szegi 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. Vol. 91(3). P. 341-349.
- 9 Chawla H.S., Wenzel G. *In vitro* selection for fusaric acid resistant barley plants, *Plant Breed.* 1987. Vol. 99. P. 159-163.
- 10 Vidal K., Guermache F., Timothy L. Widmer. *In vitro* culturing of yellow starthistle (*Centaurea solstitialis*) for screening biological control agents. *Biological Control.* 2004. Vol. 30. P. 330-335.
- 11 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. Vol. 84. P. 349-356.
- 12 Kalashnikova E.A. Cell plant breeding for resistance to fungal diseases: *Dis. ... dokt. biol. nauk.* Dissertation of the doctor of biological sciences. M., 2003. P. 282. (In Russian).
- 13 Mezenceva O.Ju. Using tissue and cell cultures in the selection for resistance to phytopathogens. *Selekcija i semenovodstvo.* J.Breeding and Seed Production. 1990. N 4. P. 59-62. (In Russian).
- 14 Ahmetova F.F. Production of original seed potatoes on the virus free base *Mater: mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferencii KazNIIKO "Sovremennoe sostojanie kartofelevodstva i ovoshhevodstva i ih nauchnoe obespechenie"* [Proc. Intern. scientific-practical. conf. KazNIIKO "Modern state of potato and vegetable farming and their scientific support"] v. Kajnar, 2006. P. 435-438. (In Russian).
- 15 Ajtbaev T.E., Amirov B.M. Varieties and hybrids of potatoes, vegetables and melons selection Kazakh Research Institute of Potato and Vegetable Crops. *Katalog KazNIIKO - Catalog KazNIIKO.* V. Kajnar, 2011. P. 11. (In Russian).
- 16 Fachiolli G. Control of potato viruses by using meristem culture and stem cuttings, thermotherapy and chemotherapy. *Virusnye i virusopodobnye bolezni i semenovodstvo kartofelja* [Virus and virus-like diseases and seed potatoes] By edit. G. Lebenshtejn, F. H. Berger, A. A. Brant, R. H. Louison. St. Peterburg, 2005. P. 210-228. (In Russian).
- 17 Biotechnology in plant breeding. Cellular Engineering. *Geneticheskie osnovy selekcii rastenij T. 3* [Genetic basis of plant breeding V.3]. Edit. A. V. Kil'chevskij, L. V. Hotyleva. Minsk: Belarus. navuka, 2012. P. 252 -253. (In Russian).
- 18 Sheveluha V.S. *Sel'skohozjajstvennaja biotehnologija* [Agricultural biotechnology], M., 2001. Vol. 2. P. 468. (In Russian).
- 19 Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 1962. Vol. 15. P. 473-497.
- 20 Gamborg O.L., Eveleigh D.E. Culture methods and detection of glucanases in cultures of wheat and barley. *Can. J. Biochem.* 1968. Vol. 46. P. 417-421.
- 21 Kalashnikova E.A., Nguen 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. "Biotechnology of plant cells *in vitro* and biotechnology"] Zvenigorod, 2008. P. 158. (In Russian).
- 22 Kalashnikova E.A. Cell plant breeding for resistance to fungal diseases *Diss.dokt. biol. nauk:* Dis. ... doctor of biological sciences. M., 2003. P. 282. (In Russian).
- 23 Vatad A.A., Sluis K., A.Nachmias Accelerated breeding tested for viruses potato *Virusnye i virusopodobnye bolezni i semenovodstvo kartofelja.* Viral and virus diseases and seed potatoes. By Edit. Lebenshtejn G. St. Peterburg, 2005. P. 229-239. (In Russian).

Резюме

Н. П. Малахова, Б. Қ. Жұмагелдинов, А. Хасейн,
Б. К. Тезекбаева, А. А. Қалиева, А. Б. Ахметжанова

(ҚР ҒБМҒК М. Ә. Айтқожин атындағы «Молекулалық биология және биохимия институты» РМҚ,
Алматы, Қазақстан)

КЛЕТКАЛЫҚ ТЕХНОЛОГИЯ НЕГІЗІНДЕ КАРТОПТЫҢ ҚҰРҒАҚШЫЛЫҚҚА ЖОҒАРЫ ТӨЗІМДІ, ЖАҢА ПЕРСПЕКТИВТІ ТҮРЛЕРІН АЛУ

Мақалада ғылыми зерттеу жұмыс барысында Қазақстанның оңтүстік аудандарында клеткалық селекция және биотехнология әдістерінің көмегімен картоптың Ақсор сортынан ыстыққа және шөлге төзімді жаңа түрлерінің алынғандығы көрсетілген. Картоптың жаңадан бөлініп алынған түрлеріне иммуно-ферменттік талдау арқылы вирустық ауруларға төзімділігі және қарсы тұра алатындығы тексерілді. Экологиялық сұрыптау арқылы бөлініп алынған картоп түрлері ішінен ерекше төзімділікпен өнімділігін көрсеткен 5 түрі бөлініп алынды.

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

Summary

*N. P. Malakhova, B. K. Zhumageldinov, A. Khassein,
B. K. Tezekbayeva, A. A. Kalieva, A. B. Akhmetzhanova*

(M. A. Aitkhozhin institute of molecular biology and chemistry, CS MES RK, Almaty, Kazakhstan)

NEW PERSPECTIVE LINES OF POTATO WITH INCREASED DROUGHT RESISTANCE OBTAINED THROUGH CELL TECHNOLOGY

The article presents the results of scientific research dedicated to creation of new potato lines with increased drought resistance for Southern regions of Kazakhstan; using methods of cell selection and biotechnology. New perspective potato lines of Aksor variety with increased resistance to drought and high temperatures were obtained. Regenerant plants of the new lines were evaluated for virus diseases using enzyme immunoassay. According to the results of ecological testing of the new lines for drought resistance and yield in natural drought conditions 5 lines were identified which showed better characteristics of corresponding traits as compared to the original variety.

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