

**NEWS**

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

**SERIES OF BIOLOGICAL AND MEDICAL**

ISSN 2224-5308

Volume 1, Number 325 (2018), 128 – 134

**N. P. Malakhova, L. D. Galiyeva, A. Hassenin, A. A. Kaliyeva, Y. A. Skiba**

RSE “M.A. Aitkhozhin’s Molecular Biology and Biochemistry Institute” of the Committee of Science of the Ministry of Education and Science of Republic of Kazakhstan, Almaty, Kazakhstan.

E-mail: tasha\_malakhova@mail.ru; e-mail: raca@mail.ru; leogold24@mail.ru; aigul\_altaevna@mail.ru, abiks\_y@mail.ru

**APPROBATION OF ACCELERATED BIOTECHNOLOGICAL PRODUCTION OF ELITE SEED POTATOES FOR ENSURING SEED INDUSTRY IN THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN**

**Abstract.** Production of healthy seed mini-tubers is the basis for obtaining high-quality potato seed material. The technology of pilot production of elite seed potatoes on a small scale has been developed and tested (approved) in order to accelerate the production of domestic potato seed material. The prospects of this technology application are shown with use/availability of modern greenhouse complexes at the first stages of the technological process of “super-superelite” category of minituber material production. Virus free plants-regenerants of domestic high-yielding “Aksor” cultivar were obtained from a small number of tubers and propagated with the use of micro-graftage method. Minitubers for the production of super-superelite seed material were obtained from the regenerant plants under conditions of closed (isolated) soil/ground in the first year. In the second year of the project superelite potato seeds were obtained from super-superelite minituber material under field conditions and were transferred to the elite seed-growing farms for further production of seeds of “elite” category in the third year of the project implementation.

Features of this technology consist in a continuous process of obtaining healthy test-tube plants (*in vitro*) and minitubers within 3 years. Conducting regular excavation of tuber material during the cultivation of plants in the greenhouse leads to an increase in the amount of minitubers harvest from one generation, as well as to cyclical production of super-superelite material 2 times a year. Results are the following: reduction of the period of elite seeds production to 3 years, a low demand for production areas, a slowdown in the norms of seed material consumption and a high coefficient of its reproduction.

**Key words:** potato, *in vitro* cultures, virus free plants-regenerants, microclonal propagation, potato original seeds, minitubers, potato elite seed material.

УДК 635.073; 635.032;57.085

МРНТИ: 34.31.33: 62.33.29

**Н. П. Малахова, Л. Д. Галиева, А. Хасейн, А. А. Калиева, Ю. А. Скиба**

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

**АПРОБАЦИЯ УСКОРЕННОГО БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО ПРОИЗВОДСТВА ЭЛИТНОГО СЕМЕННОГО КАРТОФЕЛЯ ДЛЯ ОБЕСПЕЧЕНИЯ СЕМЕНОВОДСТВА В РЕСПУБЛИКЕ КАЗАХСТАН**

**Аннотация.** Производство оздоровленных семенных мини-клубней является основой для получения высококачественного семенного материала картофеля. Для ускоренного получения отечественного семенного материала картофеля разработана и апробирована технология пилотного производства элитного

семенного картофеля в малых промышленных масштабах. Показана перспективность ее применения при наличии современных тепличных комплексов на первых этапах технологического процесса получения миниклубневого материала категории «суперсуперэлита». Из небольшого числа клубней получены и размножены методом микрочеренкования безвирусные растения-регенеранты отечественного высокоурожайного сорта картофеля «Аксор». Из растений-регенерантов в условиях закрытого грунта в первый год получены миниклубни для производства супер-суперэлитного семенного материала. Из клубневого материала суперсуперэлиты на второй год в полевых условиях получены суперэлитные семена картофеля и переданы в элит-семхоз для производства семян категории «элита» уже на третий год выполнения проекта.

Особенности данной технологии заключаются в непрерывном процессе получения оздоровленных пробирочных растений (*in vitro*) и миниклубней в течение 3-х лет. Проведение регулярной выемки клубневого материала во время культивирования растений в теплице приводит к увеличению количества урожая миниклубней с одного поколения, а также циклическому получению супер-суперэлитного материала 2 раза в год. Результатами являются сокращение сроков производства элитных семян до 3 лет, низкая потребность в производственных площадях, снижение норм расхода семенного материала и высокий коэффициент его размножения.

**Ключевые слова:** картофель, культуры *in vitro*, безвирусные растения – регенеранты, микроклональное размножение, оригинальные семена картофеля, миниклубни, элитный семенной материал картофеля.

Картофель является важнейшей продовольственной, технической и кормовой культурой. Также, являясь самым важным и значимым в мире растительным источником пищевой энергии, витаминов, минеральных веществ и антиоксидантов среди незлаковых растений, картофель представляет собой уникальный продукт для здорового питания. Клубни картофеля содержат в среднем 76–78 % воды, 17–19 % крахмала, 1–2 % белков, примерно 1 % минеральных веществ и витамины [1]. В Казахстане приоритетным направлением его применения служит производство картофеля для обеспечения продовольственной безопасности нынешнего и будущих поколений страны. За последние несколько лет производство картофеля в стране по рентабельности является одним из наиболее перспективных отраслей сельского хозяйства (от 50% до 300%) [2].

Однако вопрос производства высококачественного семенного материала на сегодняшний день остается одним из наиболее острых в этой отрасли по ряду причин. Семеноводческие хозяйства по производству оригинального и элитного семенного материала картофеля имеются не во всех регионах республики и не покрывают всех потребностей картофелевыращивающих хозяйств высококачественными семенами местных сортов, так как большая часть территории нашей страны не пригодна для возделывания картофеля ввиду сложных природно-климатических условий [3]. В настоящее время на территории Казахстана под выращиванием картофеля занято более чем 190 тыс. га земельных ресурсов и основными регионами, в которых отмечен наибольший валовый сбор картофеля являются Алматинская, Южно-Казахстанская, Павлодарская, Жамбылская и Северо-Казахстанская области [4]. При ежегодном собственном производстве картофеля, ориентированном только на внутренний рынок, нужды потребителей покрываются всего на 50 - 60%, а остальной объем рынка занимает привозной картофель самого разного качества из России, Киргизии, Китая и Пакистана [5,6]. Нехватка качественного исходного посадочного материала отечественных сортов картофеля в стране вызывает необходимость ввоза семян картофеля сортов зарубежной селекции, которые не адаптированы к местным природно - климатическим условиям, теряют свои качественные характеристики, становятся восприимчивыми к болезням, вследствие чего снижается урожайность и дальнейшее воспроизводство становится нецелесообразным. [7].

Таким образом, для повышения эффективности картофелеводства в республике необходима организация высокотехнологичной и рентабельной системы безвирусного семеноводства картофеля.

Существующая схема производства семенного картофеля категорий «суперэлита» и «элита» традиционным способом требует от 4 до 6 лет, при этом выращиваемый в полевых условиях семенной картофель подвергается высокому риску заражения вирусными и бактериальными болезнями, что в значительной мере снижает его качество и сроки использования в дальнейших репродукциях.

При использовании новой схемы ускоренного получения оздоровленного семенного элитного материала на биотехнологической основе значительно сокращается риск заражения миниклуб-

нового материала за счет его культивирования в тепличном комплексе, а также сокращаются сроки производства элитного семенного материала картофеля на один год.

В лаборатории биоинженерии растений разработана схема ускоренного получения оздоровленного семенного элитного материала, основанная на том, что в первый год из небольшого числа клубней методом микрочеренкования получают и размножают безвирусные растения-регенеранты отечественного высокоурожайного сорта картофеля и миниклубни → на второй год в условиях закрытого и открытого грунта получают миниклубни, супер-суперэлитный и суперэлитный семенной материал → на третий год из клубневого материала суперэлиты в полевых условиях получают элитные семена картофеля, которые передают в элитсхоз для дальнейшего производства семенного картофеля.

Пилотное биотехнологическое производство безвирусной элитной семенной продукции картофеля отечественных сортов на базе, разработанной в лаборатории технологии культивирования, позволило опытным путем произвести оценку рентабельности данной технологии, выявить слабые и сильные стороны данной схемы семенного производства, а также оценить перспективность такого подхода для решения проблемы обеспечения картофелевыращивающих фермерских и крестьянских хозяйств элитным семенным материалом отечественных сортов картофеля.

Клоновый отбор исходного клубневого материала картофеля, выгонку меристемного материала и получение оздоровленных пробирочных растений в условиях *in vitro* проводили на каждом повторяющемся цикле в течение каждого года.

В качестве исходного клубневого материала картофеля выбран картофель отечественного сорта «Аксор», урожая 2015 г., полученного от оригинатора сорта Казахского института картофелеводства и овощеводства. Картофель сорта «Аксор» - относительно жаростойкий и засухоустойчивый, среднеспелый, среднеурожайный. Производственный потенциал урожайности находится в пределах 55 т/га. Содержание крахмала 18 %. Относительно устойчив к заболеваниям, универсального назначения [8].

Первичные пробирочные растения-регенеранты получали методом вычленения апикальных меристем из здоровых, стерилизованных клубней картофеля в сочетании с термотерапией [9]. Апикальные меристемы помещали на универсальную среду Мурасиге и Скуга (МС) и культивировали в помещении с контролируемым световым и температурным режимом [10,11] (рисунок 1).



Рисунок 1 – Получение пробирочных растений из апикальной меристемы картофеля

Микроклональное размножение первичных пробирочных растений картофеля проводили стандартным способом микрочеренкования [12].

Пробирочные растения-регенеранты картофеля проверяли на инфицированность вирусами PVY, PVM, PRVL с помощью диагностических наборов для определения вирусов картофеля. Оценку результатов ИФА осуществляли на фотометре при длине волны 450 нм. В результате тестирования обнаружено отсутствие вирусной инфекции в 19 из 21 партий (по 15 образцов) пробирочных растений картофеля. Партии пораженных растений, показавшие наличие М вируса картофеля, уничтожены.



Здоровые растения тиражировали для перевода в условия *ex vitro* и получения миниклубней картофеля в закрытом грунте. На первом этапе получено 350 первичных пробирочных растений картофеля сорта «Аксор» из 19 линий. На второй и третий год в условиях *in vitro* получено 252 первичных пробирочных растения из 21 линии и 800 первичных пробирочных растений, из 7 линий картофеля сорта «Аксор» соответственно.

На первом этапе укоренения и адаптации к естественному световому и температурному режиму, растения-регенеранты картофеля пересаживали в индивидуальные пластиковые стаканчики с автоклавированной почвенной смесью (торф - земля - песок в соотношении 1:1:0,1). Растения отмывали питательной MS средой, пересаживали в асептическую почву и помещали в светокультуральную климатическую комнату с 18-ти часовым световым днем, влажностью 70%, освещением 3000-5000 люкс и температурой: днев. + 25<sup>0</sup>С / ночн. + 22<sup>0</sup>С. Полив осуществляли по мере подсыхания грунта модифицированным питательным раствором Кноппа для нормального роста и развития растений.

Второй адаптационный этап культивирования проводили через 3 недели после высадки пробирочных растений в грунт. Влажность воздуха в климатической комнате снижали до 56%, температурный режим оставался прежним, полив растений осуществляли дважды в неделю. Процент выживших растений картофеля на данном этапе составил 92% от количества растений, прошедших первый этап адаптации. Адаптированные пробирочные растения картофеля сорта «Аксор» переданы в элитно-семеноводческое крестьянское хозяйство «Оркен» для получения оригинальных семян.

*Получение миниклубней (оригинальных семян) картофеля.* В первый год из пробирочных растений в элитно-семеноводческом крестьянском хозяйстве «Оркен» в ходе выращивания в закрытом грунте получен урожай миниклубневого материала картофеля сорта «Аксор» в количестве в количестве 5 400 шт., что составило 270 кг.

На второй год из 2500 оздоровленных пробирочных растений в тепличном комплексе к/х «Оркен» в зимний период получен урожай миниклубневого материала картофеля сорта «Аксор» в количестве 2000 шт.

Для непрерывного цикла получения миниклубней все адаптированные пробирочные растения картофеля в весенний период следующего года высаживали в открытый грунт.

Таким образом, на второй год реализации проекта, из новой партии 5000 оздоровленных пробирочных растений в условиях теплицы и поля получено 90 кг миниклубневого материала картофеля, на третий год - 52 кг миниклубней (рисунок 2).



Рисунок 2 – Урожай миниклубней сорта «Аксор»

*Производство супер-суперэлитного семенного материала из оригинальных семян в условиях теплицы.* В первый год реализации проекта из 2500 оздоровленных пробирочных растений в полевых условиях к/х «Оркен» получен миниклубневый материал картофеля, который находился на хранении с октября по декабрь. За время хранения миниклубневого материала за счет естественной убыли из 5400 шт. миниклубней жизнеспособность сохранили около 3500 миниклубней картофеля.

В январе второго года миниклубневый семенной материал картофеля был помещен на проращивание при температуре  $+18^{\circ} + 20^{\circ}\text{C}$  в течение 14 дней и высажен в тепличном комплексе элитсемхоза «Оркен» для получения суперсуперэлитного семенного материала картофеля сорта «Аксор». В ходе культивирования растений в теплице в зимний период проведены все необходимые агротехнические мероприятия, собран урожай суперсуперэлитного картофеля в количестве 150 кг и помещен на краткосрочное хранение для дальнейшей высадки в весенний период.

*Производство «суперсуперэлитного» семенного материала из оригинальных семян в условиях поля на второй и третий год.* На второй год реализации проекта в открытый грунт высадили 2000 миниклубней картофеля сорта «Аксор», полученных в теплице в зимний период. На третий год в полевые условия высадили 81 кг миниклубней картофеля. В ходе культивирования растений в полевых условиях проводили все необходимые агротехнические мероприятия по уходу за растениями. Урожай семенного картофеля категории «суперсуперэлита» собирали во второй декаде октября второго и третьего года (рисунок 3). Осенью второго года реализации проекта получено 480 кг суперсуперэлитного материала картофеля, что составляет примерно 80% от исходно ожидаемого урожая. Семенной картофель категории суперсуперэлита помещали на хранение и последующую высадку весной.

Осенью третьего года собрано 1000 кг картофеля категории «суперсуперэлита», что составляет примерно 100% от исходно ожидаемого урожая. Семенной картофель категории «суперсуперэлита» помещен в к/х «Оркен» на хранение и анализ качества полученного семенного картофеля.



Рисунок 3 – Семенной картофель категории «суперсуперэлита» сорта «Аксор»

Получение семенного материала категории «суперэлита» в полевых условиях и передача элитсемхозам Алматинской области для производства элитных семян и оценки его качества

На второй год с учетом неблагоприятных весенних погодных условий в открытый грунт высадили 150 кг семенного материала категории «суперсуперэлита» сорта «Аксор». На третий год в полевых условиях высадили 432 кг семенного материала «суперсуперэлита» сорта «Аксор», урожая предыдущего года.

Сбор урожая картофеля проводили во второй декаде октября второго года и в 3–4 декаде октября третьего года (рисунок 4).

На второй год получен урожай – 315 кг картофеля категории суперэлита сорта «Аксор» и помещен на хранение в элитно-семеноводческое крестьянское хозяйство «Оркен. На третий год урожай картофеля категории «суперэлита» составил порядка 4 000 кг. Семенной материал категории «суперэлита» передан собственнику элитно-семеноводческого крестьянского хозяйства «Оркен» для дальнейшего производства элитных семян и оценки его качества.

*Получение элитного семенного материала.* С учетом негативных весенних погодных условий семенной материал картофеля категории «суперэлита» в количестве 283 кг высажен в полевые условия на территории крестьянского хозяйства «Оркен». В ходе культивирования растений в полевых условиях проводились все необходимые агротехнические мероприятия по уходу за растениями и в первой декаде октября произведен сбор урожая семенного материала картофеля сорта «Аксор» категории «элита» в количестве 5000 кг. Семенной материал категории «элита»



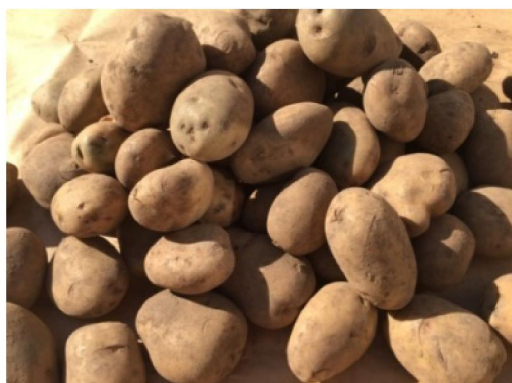


Рисунок 4 – Сбор урожая картофеля категории суперэлиты

передан собственнику элитно-семеноводческого крестьянского хозяйства «Оркен» для дальнейшего производства элитных семян и оценки его качества.

Разработанная и апробированная новая схема ускоренного биотехнологического получения оздоровленного семенного элитного материала показала возможность сокращения сроков производства семенного материала категории «элита» до трех лет и получения миниклубневого и супер-суперэлитного семенного материала картофеля в зимний период в условиях теплицы.

Ключевыми факторами успешной реализации апробируемой схемы производства являются наличие эффективно работающего тепличного комплекса для культивирования пробирочных и взрослых растений первого поколения. Результаты первого года показали успешность применяемых биотехнологических методов для получения и тиражирования в промышленных масштабах оздоровленных пробирочных растений-регенерантов. Результаты второго года также показали перспективность применения культивирования растений в тепличном комплексе для получения семенного материала миниклубней и суперсуперэлиты. Эффективность технологии получения семенного материала на третий год - получено семенного материала категории «элита» - 5 тонн (100%), «суперэлиты» - 4 тонны (80%), «суперсуперэлиты» - 1 тонна (100%) и оригинального семенного материала (миниклубни) - 1800 шт. - 52 кг (2%).

Таким образом, полученные результаты показали перспективность применения данной ускоренной технологии для производства элитного семенного картофеля с учетом выявленных слабых мест (недостаточности финансирования и влияния климатических факторов), что позволит в дальнейшем предположить возможность внедрения данной технологии в производство.

#### ЛИТЕРАТУРА

- [1] Белоус Н.М. Система удобрения картофеля // Химизация сельского хозяйства. – 1992. – 4. – С. 68-72.
- [2] [www.agroprom.kz](http://www.agroprom.kz). Производство картофеля
- [3] <http://kazdata.kz/04/2014-12-kazakhstan-production-ovoschi.html> / Рынок овощной продукции Республики Казахстан: производство, региональный анализ, импорт-экспорт.
- [4] <http://www.stat.gov.kz> Основные показатели сельскохозяйственного производства
- [5] [http://forbes.kz/process/businessmen/kak\\_obespechit\\_kazahstan\\_kartofelem](http://forbes.kz/process/businessmen/kak_obespechit_kazahstan_kartofelem) / Как обеспечить Казахстан картофелем.
- [6] [www.kazagro.kz/documents/16882](http://www.kazagro.kz/documents/16882) Обзор рынка картофеля в Республике Казахстан за период 2010–2014гг.
- [7] Асауов С.Т. Структура урожая семенного картофеля в условиях Южного Казахстана. Состояние и перспективы научных исследований по картофелеводству, овощеводству и бахчеводству // Материалы международной научно-практической конференции КазНИИКО. – Алматы, 2011. – С. 123-124.
- [8] [http://www.kartofel.org/cultivars/reg\\_cult/aksor.pdf](http://www.kartofel.org/cultivars/reg_cult/aksor.pdf)
- [9] Писарев Б.А. Семеноводство картофеля. – 1982. – ISBN 5-260-005104
- [10] Винклер Г.Н., Бутенко Р.Г. Применение черенкования при выращивании безвирусных растений картофеля методом культуры меристемы // Физиология растений. – 1970. – 17.4 : 851-853.
- [11] Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // Physiology Plant. – 1962. – P. 473-497. – DOI: 10.1111/j.1399-3054.1962 (in Eng).
- [12] Винклер Г.Н., Бутенко Р.Г. Применение черенкования при выращивании безвирусных растений картофеля методом культуры меристемы // Физиология растений. – 1970. – 17.4 : 851-853.

Н. П. Малахова, Л. Д. Галиева, А. Хасейн, А. А. Калиева, Ю. А. Скиба

ҚР БҒМ ҒК М. Ә. Айтхожин атындағы «Молекулалық биология және биохимия институты» РМҚ,  
Алматы, Қазақстан

**ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫНЫҢ ТҰҚЫМ ӨНДІРІСІН ҚАМТАМАСЫЗ ЕТУ  
МАҚСАТЫНДА ЭЛИТТИ ТҰҚЫМДЫҚ КАРТОПТЫҢ BIOTEХНОЛОГИЯЛЫҚ ӨНДІРІСІНІҢ  
ЖЫЛДАМДАТЫЛҒАН АПРОБАЦИЯСЫ**

**Аннотация.** Сауықтырылған тұқымдық мини-түйнектерді өндіру картоптың жоғары сапалы тұқымдық материалын алудың негізі болып табылады. Картоптың тұқымдық отандық материалын жылдамдата алу үшін азғана өндірістік масштабта элиталық тұқымдық картоптың пилоттық өндіріс технологиясы жасап шығарылды және қабылданды. Бұл технологияны жаңа заманға сай жылыжай құрылғылары болған жағдайда «суперсуперэлита» категориясына жататын минутүйнектік материалды алудың технологиялық процесінің бірінші сатысында пайдаланудың болашағы бар екендігі көрсетілді. Түйнектің азғана мөлшерінен микрокалемшелеу әдісімен картоптың отандық өнімділігі жоғары «Аксор» сортының сауықтырылған регенерант-өсімдіктері алынды және көбейтілді. Бірінші жылы регенерант-өсімдіктерден жабық топырақ жағдайында супер-суперэлиталық тұқымдық материал алу үшін минутүйнектер алынды. Екінші жылы егістік жағдайында супер-суперэлитаның тұқымдық материалдарынан картоптың суперэлиталық тұқымы алынды және элиталық тұқым шаруашылығы жобасының үшінші жылдық жобасына өндіруге «элита» категориясына жататын тұқым берілді.

Бұл технологияның ерекшелігі сауықтырылған пробиркалық өсімдік (*in vitro*) пен минутүйнектерді 3 жыл бойы үздіксіз алуға негізделген. Жылыжайда өсімдікті өсіру кезінде түйнектік материалды жүйелі түрде қазып алу. Бір ұрпақтан минутүйнектердің өнімінің санының артуы. Супер-суперэлиталық материалды жылына екі рет алу мүмкіндігі. Элиталық тұқым өндіру уақытының 3 жылға дейін қысқаруы, өндіріс аумағының қажеттілігінің азаюуы, тұқымдық материалдың шығынының төмендеуі және оны көбейту коэффициентінің жоғары болуы осы технологияның нәтижелері болып табылады.

**Түйін сөздер:** картоп, *in vitro* өскен клеткалар, сауықтырылған регенерант-өсімдік, микроклондау арқылы көбейту, картоптың бастапқы тұқымы, мини түйнек, картоптың элиталық тұқымдық материалы.

**Сведения об авторах:**

Малахова Н.П. – к.б.н., зав.лабораторией биоинженерии растений РГП ИМБиБ им. М.А. Айтхожина КН МОН РК

Галиева Л.Д. – старший научный сотрудник

Хасейн А. – научный сотрудник

Калиева А.А. – младший научный сотрудник

Скиба Ю.А. – к.б.н., старший научный сотрудник