

Impact Factor:

ISRA (India) = 6.317
ISI (Dubai, UAE) = 1.582
GIF (Australia) = 0.564
JIF = 1.500

SIS (USA) = 0.912
ПИИЦ (Russia) = 3.939
ESJI (KZ) = 8.771
SJIF (Morocco) = 7.184

ICV (Poland) = 6.630
PIF (India) = 1.940
IBI (India) = 4.260
OAJI (USA) = 0.350

SOI: [1.1/TAS](#) DOI: [10.15863/TAS](#)

International Scientific Journal Theoretical & Applied Science

p-ISSN: 2308-4944 (print) e-ISSN: 2409-0085 (online)

Year: 2024 Issue: 04 Volume: 132

Published: 23.04.2024 <http://T-Science.org>

Issue

Article



G. T. Kuandykova

Taraz Regional University named after Dulati
Master of Biology

M. Manapbay

Taraz Regional University named after Dulati
Master of Biology,
Kazakhstan

FEATURES OF GROWING MERISTEMATIC POTATO LINES USING BIOTECHNOLOGICAL METHODS

Abstract: The article proposes the use of PCR analysis of meristematic potato lines as the most specific and sensitive diagnostic method as a result of testing for viral infection by polymerase chain reaction and enzyme immunoassay at the initial stage of growth.

Key words: virus, meristem, regenerant, PCR, chemotherapy.

Language: Russian

Citation: Kuandykova, G. T., & Manapbay, M. (2024). Features of growing meristematic potato lines using biotechnological methods. *ISJ Theoretical & Applied Science*, 04 (132), 205-214.

Soi: <http://s-o-i.org/1.1/TAS-04-132-22> **Doi:**  <https://dx.doi.org/10.15863/TAS.2024.04.132.22>

Scopus ASCC: 1100.

ОСОБЕННОСТИ ВЫРАЩИВАНИЯ МЕРИСТЕМАТИЧЕСКИХ ЛИНИЙ КАРТОФЕЛЯ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИМИ МЕТОДАМИ

Аннотация: В статье предложено использование ПЦР-анализа меристематических линий картофеля в качестве наиболее специфического и чувствительного метода диагностики в результате тестирования на вирусную инфекцию путем полимеразной цепной реакции и иммуноферментного анализа на начальной стадии роста.

Ключевые слова: вирус, меристема, регенерант, ПЦР, химиотерапия.

Введение

Вирусные заболевания картофеля наносят значительный ущерб урожайности. По данным российских исследователей, клубневая продуктивность растения, у которого развились наиболее пораженные виды вируса, снижается до 70 процентов. Вирусы не уничтожают жизнь растения картофеля в процессе заражения. Они ухудшают ассимиляционные способности растения, скручивая его листья. Сила растения расходуется на образование вирусных организмов. Зараженные вирусом растения в процессе роста отстают от здорового растения. Вследствие замедления процессов роста, развития замедляются процессы образования органических

веществ в растениях. Вирусная инфекция вдоль растения сохраняется клубнем коры до следующего года. Более того, аура быстро распространяется от растений к здоровым растениям через слюну носорогов. По мнению исследователей, вирусная инфекция в южных условиях успеет полностью распространиться из меристематически очищенных растений в течение четырех репродукционных поколений. В этом контексте очистка семян картофеля от вирусной инфекции меристематической технологией дает большую экономическую эффективность. Стоимость всех дорогостоящих биотехнологических работ может быть

Impact Factor:

ISRA (India) = 6.317
ISI (Dubai, UAE) = 1.582
GIF (Australia) = 0.564
JIF = 1.500

SIS (USA) = 0.912
ПИИЦ (Russia) = 3.939
ESJI (KZ) = 8.771
SJIF (Morocco) = 7.184

ICV (Poland) = 6.630
PIF (India) = 1.940
IBI (India) = 4.260
OAJI (USA) = 0.350

восстановлена за меньшее время, чем рост урожайности картофеля.

Во всех странах Европы, Америки и России тенденция производства семян картофеля основана на меристемной технологии. Экономическая эффективность этой технологии доказана в этих странах [1].

Процесс семенного производства картофеля в Казахстане до сих пор ведется по старинному варианту семенного производства. Это видно по уровню урожайности картофеля Жамбылской области. Урожайность картофеля по Жамбылской области не превышает 8-9 тонн с гектара. Уровень урожайности на полях картофеля, очищенных от вируса методами меристематической технологии в северных регионах России и других странах Восточной Европы, в среднем колеблется в пределах 25-30 тонн. В некоторых высокотехнологичных хозяйствах этот показатель достигает 45-50 тонн. Сорты картофеля, освобожденные от воздействия вируса, могут практически демонстрировать свой генетический потенциал. На урожайность картофеля очень сильно влияют агротехнические условия. Однако урожайность сортов, избавленных от вирусов, дает достоверную статистическую разницу. Как уже упоминалось, результаты многих стран могут служить основанием для того, что нет никаких сомнений в том, что эта технология окупит свои затраты в несколько раз.

В условиях тяжелой и плотной серой почвы Жамбылской области эти показатели могут быть несколько ниже. Но экономическая эффективность может быть достигнута только путем удвоения указанного уровня производительности. В настоящее время в Жамбылской области нет научного или производственного учреждения, серьезно занимающегося меристематической технологией картофеля. Проводимые индивидуально исследовательские работы ведутся на первые меристематические растения, привезенные из других зон. Он просто не может служить основанием для решения главной проблемы. Поэтому для повышения урожайности картофеля и экономической эффективности производства необходимо организовать местную биотехнологическую лабораторию.

Известно, что выздоравливающий картофель значительно подвержен вирусным заболеваниям и повреждениям, и основная задача семеноводов заключается в проведении мероприятий, направленных на профилактику локальных почвенных климатических повреждений.

Выделяют четыре из различных мер, направленных на решение проблемы защиты растения от повторного поражения болезнями:

1. Устранение негативного воздействия высоких температур в период формирования

клубней: летний посев и применение двух продуктивных повреждений, выращивание картофеля в северных и горных районах, а также на северных склонах гор, на берегах рек, полив картофеля при высоких температурах.

2. Агротехнические мероприятия: создание полноценного питательного режима для урожая картофеля, выращивание семенного картофеля в почве, богатой органическими веществами, поддержание устойчивого водного, воздушного и питательного режима.

3. Различные профилактические меры, обеспечивающие снижение концентрации вируса путем селекции картофеля на болезни иммунитета и вируса, биотехнологические методы оздоровления картофеля, меры, направленные на инактивацию вирусов в растениях химическим методом, наличие побегов вирусной концентрации из маточного клубня, опрыскивание растений активными веществами, подавляющими активность вирусов в нем.

4. Меры, направленные на непосредственную борьбу вируса с инфекцией: пространственная изоляция от товарной посадки выздоравливающего картофеля, уничтожение резервирующих сорняков и переносчиков.

Мероприятия четвертой группы являются основными, наиболее широко применяемыми при выращивании семян картофеля. Клональный отбор их на стадии нового прорастания картофеля. Отбор клубней по удельному весу перед посевом. По люминесцентному методу. Обновление исходного материала в зависимости от сорта, условий размножения и выращивания. С ослабленным штаммом PVM растение можно дополнить такими мерами, как вакцинация. Метод клональной сортировки семенного картофеля на основе визуального и серологического анализа оказался менее эффективным в условиях Казахстана и особенно в южных районах. Это можно объяснить несколькими причинами. Во-первых, с помощью этих методов можно контролировать только три вируса: PVX, PVS, PVM и лишь незначительное PVY. Что касается других вирусов, то в условиях массового производства элиты скрытые виды игнорировались, так как для них не существовало даже в научных учреждениях. Именно поэтому в последние годы в Казахстане широко распространен вирус возвращения листьев картофеля.

Во-вторых, точка, в которой диагностируются все наиболее распространенные типы вирусов, также практически невозможна для контроля столь большого количества клонов, необходимых для элиты. Наука сотрудники в лучшем случае способны только описать уровень распространения вирусов X и S с помощью процесса свободной посадки [2].

Impact Factor:

ISRA (India) = 6.317
ISI (Dubai, UAE) = 1.582
GIF (Australia) = 0.564
JIF = 1.500

SIS (USA) = 0.912
РИИЦ (Russia) = 3.939
ESJI (KZ) = 8.771
SJIF (Morocco) = 7.184

ICV (Poland) = 6.630
PIF (India) = 1.940
IBI (India) = 4.260
OAJI (USA) = 0.350

Практически невозможно получить регенератор растений из меристемы менее 100 м. По данным cosanina, из 250 эксплантатов размером менее 200 мк было получено всего 4 растения, свободных от вируса PVM. Увеличение количества эксплантата также может увеличить выход растения без вируса путем предварительного нагревания клубня при высокой температуре в течение 20 дней.

Розенберг получил до 80% свободного от вируса X и S растения из меристемы этиолированных побегов клубней, обработанных в течение месяца при температуре 37-38 С. По данным ТСХА, производство клубней в течение месяца при температуре 39-40 С позволило получить гораздо больше здорового растения из большого эксплантата размером 250 мк. Помимо апикальной меристемы можно использовать точку роста интерколора, где здоровый регенеративный выход составляет 36%. Выход невирусного регенерата из этиолированных побегов составляет 23,2%. Это можно объяснить отсутствием хлорофиллов в этиолированных меристематических эксплантатах.

Термотерапия не уничтожает вирусы, они только инертны, и об этом нужно помнить в меристематическом уровне. В термотерапии растениям необходим уход: вливание тепловой воды (20-23 С) в соответствии с потребностями каждого растения, подкормка растения удобрениями, микроэлементами каждые 6-8 дней.

Актуальность за последние пять лет средняя урожайность картофеля по Южно-Казахстанской области составила 8,0-9,0 т/га. Одной из основных причин низкой урожайности картофеля на юге Казахстана является отсутствие собственного семеноводческого материала.

Ежегодно областной зародышевый материал завозится из разных регионов республики в объеме 15-20 тыс. тонн. Приобретенный семенной материал отличается низким качеством, поэтому после 2-3 повторных размножений урожайность картофеля снижается до 6,0-7,0 т/га при товарной посадке. Основная причина этого - очень высокая скорость кlyков вируса сорта из-за высокой температуры воздуха. По этой причине выращивание картофеля в регионе считается нерентабельным. Тем не менее потребность в картофеле в области растет из года в год.

В свое время в области были районированы следующие сорта: Прикульский ранний, Уральский, Лорхский и Невский. Все эти сорта, кроме Невского, сейчас устарели. Тем не менее в промышленных посадках картофель высевает в основном из районированных сортов из-за отсутствия хозяйства, выращивающего собственные семенные растения.

В селе Амангельды Тюлькубасского района голландские сорта картофеля поражены

фузариозом на 30%, столбовым увяданием - на 35%. Кроме того, наблюдались такие заболевания, как черная ножка, кольцевидная гниль. Были обнаружены больные растения с явными признаками вируса: мозаика, вирус увядания листьев и готика. Аналогичные результаты получены в основном от других хозяйств Южно-Казахстанской области, где были привиты голландские сорта [3].

Это можно объяснить следующим образом: сорта и семенной материал, завезенные из северной зоны, не приспособленные заранее к высоким температурам в экстремальных условиях, получают тепловые ионы, которые блокируют иммунную систему, в результате чего относительно генетически устойчивые сорта становятся восприимчивыми к инфекционным заболеваниям.

Методика экспериментов.

Очевидно, что в последние годы в республике необходимо изменить негативное отношение к выращиванию элитного семенного растения картофеля в экстремальных почвенных климатических условиях, связанных с широким производством новых методов на основе биотехнологии, позволяющих практически в два-три раза сократить сроки получения элитного картофеля для выращивания семенного растения картофеля.

Современные биотехнологические методы: позволяют получить абсолютно чистый семенной материал от вирусов и бактериальных патогенов, эффективно размножать их в культуре *in vitro*, гарантировать высокое качество исходного семенного материала. Но все эти прогрессивные методы являются возможностью только в некоторых элитных фермерских хозяйствах с научной точки зрения.

Среди них, как показывает практика, основными трудностями при использовании биотехнологии непосредственно в картофелеводческих хозяйствах являются:

- требования асептической ситуации;
- энергоемкость технологии;
- слабое место;

- повторное повреждение меристематических растений. В этой связи перед нами поставлены следующие задачи;

- проведение научных исследований по разработке эффективной и рентабельной технологии беспризорного семенного картофеля на основе биотехнологии в экстремальных условиях производства;

- изучение процесса кlyков (упадков) без вируса меристематических растений в жарком климате;

Impact Factor:

ISRA (India) = 6.317
ISI (Dubai, UAE) = 1.582
GIF (Australia) = 0.564
JIF = 1.500

SIS (USA) = 0.912
ПИИЦ (Russia) = 3.939
ESJI (KZ) = 8.771
SJIF (Morocco) = 7.184

ICV (Poland) = 6.630
PIF (India) = 1.940
IBI (India) = 4.260
OAJI (USA) = 0.350

- изучить эффективность известных методов защиты растений от повреждений вирусным веществом;

- разработка биотехнологических методов ускоренного размножения в отношении внутрихозяйственного семеноводства[4].

Из этого списка вопросов данная дипломная работа содержит следующие результаты исследований и выводов;

- освоение (отработка) методов получения устойчивых к жизни саженцев меристематических пробирочных растений;

- разработка технологии ускоренного размножения меристематических растений;

- оценка эффективности методов и средств профилактики и защиты от повторного заражения вирусом в репродукциях;

- динамика и биология образования клубней в репродукциях известна-занимает одно место;

Впервые в непосредственном производстве на юге Казахстана проведено исследование возможности использования биотехнологии для внутрихозяйственного семеноводства и фермерского хозяйства. Это позволяет получить конкурентное элитное семеноводство в эпоху рыночной экономики.

В культуре меристемы используются различные, натуральные или синтетические ингибиторы вирусных частиц для повышения эффективности процесса заживления. Например: при использовании отечественных противовирусных препаратов, таких как ровомин, извербойский спиртовой экстракт, 2-тиоурация, РV-повреждение растений снижается, но концентрация вирусов РVХ и РVМ остается высокой.

Использование рибонуклеазы (РНК) концентрацией 0, 011, 001, 0,1% улучшает процесс приживления меристематической ткани на 10-30%, процесс регенерации на 65-80% против 100%, а здоровый регенеративный выход фактически увеличивается в 2 раза.

Регенераты, полученные из меристематических тканей, необходимо проверять с помощью электронного микроскопа на инфекционно-вирусоносительной стороне иммуноферментным методом в сочетании с растительным индикатором.

По результатам комплексного анализа наличия вирусных частиц в регенерате выделить чистые линии, которые впоследствии необходимо воспроизвести в культуре микропипированием.

Пролеченное растение *in vitro* проводят в асептических условиях. Этот способ оздоровления считается самым результативным. Здесь доказано, что за 8 месяцев можно получить коэффициент умножения до 1:20000. Высокий коэффициент размножения меристематических растений в культуре *in vitro* позволяет сократить

срок получения элиты до 3 лет по следующей схеме: пробирное растение – клубневое размножение на полях – элита. Для 1 тонны плановой элиты по этой схеме требуется в среднем 1000 пробирочных растений. Однако этот метод технически очень сложен и требует больших затрат труда, средств, электроэнергетики, крайне дефицитных химреактивов.

Трудоемкость и энергоемкость меристематических растений и еще более сложный процесс получения клубневого материала из них заставили многих ученых искать различные пути оптимизации и упрощения технологии получения исходного невирусного посадочного (рассадного) материала, который по посевным условиям значительно гарантированное, но не уступает по качеству пробирным растениям. Например: в Южном научно-исследовательском институте животноводства и растениеводства разработана технология выращивания мини-клубней массой 6-10 грамм и урожайностью 1000 клубней на полметра.

Из растения, взятого из прекрасного стебля, получают максимальный коэффициент л, 2/2 размножения путем взятия кончика стебля и укоренения путем прививки прекрасного стебля.

Разработана технология укоренения кончиков изящных стеблей с использованием других ростовых черенков. Это состоит из следующих операций: - выращивание при температуре 18-20°C и чередование освещения (светлое, темное) с чередованием интенсивного искусственного освещения-выращивание при температуре 18-20°C в течение 4 лет, затем понижение температуры на 0-2°C и выращивание до калемшелена в течение 1 месяца.

По данной технологии коэффициент воспроизводства в пределах 25-800 Гамм, полученного от ростовой гориллы, составил в среднем 1:426.

Вы можете использовать побег сердцевинки через 10-15 дней после того, как увидите кончики материнских растений. Здесь более высокую урожайность получают с растений, полученных при активном росте, а коэффициент размножения достигает 1:700.

Если имеется достаточное количество тепличного участка, то в промытый песок их можно высадить и через месяц получить клубни сердцевинки, как лесной орех, который является хорошим рассадным материалом. [5]

Для получения безвирусных меристемных линий выведено пробирное растение, полученное из апикальных меристем сортов картофеля морской, ягненок, Садовый, Романо, Латона, Невский, Аксор, Акколь. За три года было выделено 475 меристематических эксплантов. Были получены меристематические растения,

Impact Factor:

ISRA (India) = 6.317
ISI (Dubai, UAE) = 1.582
GIF (Australia) = 0.564
JIF = 1.500

SIS (USA) = 0.912
ПИИЦ (Russia) = 3.939
ESJI (KZ) = 8.771
SJIF (Morocco) = 7.184

ICV (Poland) = 6.630
PIF (India) = 1.940
IBI (India) = 4.260
OAJI (USA) = 0.350

которые дали начало меристематическим линиям картофеля, и они были протестированы методом ПЦР на вирусную инфекцию. Позже все меристематические линии были выбраны для размножения растений без вирусов. Для получения минитушии в пленочную теплицу и аэропное устройство высаживают невирусные пробирки.

Основной способ борьбы с болезнями, вызываемыми вирусами, - это получение здоровой рассады, свободной от болезней. В последнее время для получения безвирусного картофеля и других вегетативно размножающихся растений успешно применяется термообработка с методом культивирования апикальной меристемы и экспертиза (тестирование) вирусов.

Основное отличие метода культивирования апикальной меристемы от обычных методов избавления от вируса заключается в следующем. Когда растения-регенераторы получают *in vitro*, они не заражаются. Основу этого метода составили французские ученые П. Лимассе и П. Коруне. Как они показали в 1949 году, концентрация вируса в листьях табака с равным срезом снижалась по мере приближения к кончику растения. У половины концов побегов, то есть апикальных меристем, вируса даже не было. Метод выращивания апикальной меристемы был впервые использован на практике в 1952 году Г. Морелем и К. Мартином с целью оздоровления вегетативно размножающихся растений от вирусных заболеваний. Они использовали этот метод для исцеления наргизгюля (георгина) от вируса тенбила[1].

Существуют разные мнения о причинах, по которым вирусы не размножаются в ткани меристемы. В одном случае исследователи объясняют отсутствие вирусов в меристеме их медленным движением между одной клеткой и другой. Это потому, что меристема не имеет проводящей системы, а плазмодесмы имеют очень маленький объем. Другие, однако, объясняют этот факт метаболизмом, который ингибирует синтез

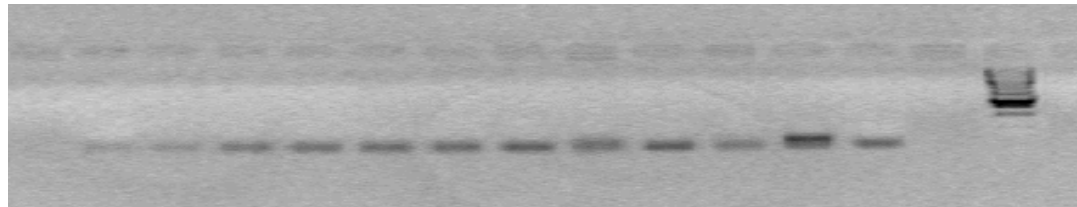
специфического вирусного нуклеопротеина, характерного для меристем.

При тепловой обработке размножение вируса на концах растущих побегов сильно ингибируется, поэтому вновь образованные клетки меристемы могут не содержать вируса. Чтобы тепловая обработка была эффективной, донорские растения необходимо дольше поддерживать при высокой температуре (34-40°C), создавая хорошие условия для роста. В этот момент концы вновь проросших побегов отделяются от вируса. Но не все растения переносят длительную тепловую обработку. Их рост будет низким, и в других заметны негативные изменения. В результате термотерапии могут развиваться латентные вирусные инфекции. Поэтому ученые ищут другие способы повышения эффективности оздоровления. Иногда лучше всего работает хемотерапия, то есть использование химических веществ, подавляющих размножение вирусов. Например, добавление препарата под названием виразол (рибовирин) в питательную среду (40-200мм) позволяет получить в 2-4 раза больше свободных от вируса меристемных растений. В этом препарате обнаружены и другие вещества, на которые действует аналог гуанозина: бактериальная эндонуклеаза, лейкоцитарный интерферон, некоторые алкалоиды.

Для оздоровления полевых и плодовоовощных культур применяются комбинированные способы сортировки благодаря термообработке, хемотерапии, культивированию меристемы и вирусным тестам.

В ходе анализа меристематических линий картофеля с прайм-листами для вирусов PVY при положительном контроле ампликон амплифицировали в продукт длиной 170 н. э. (нуклеотидная пара), что показано на рисунке 3. Тестируемые меристематические линии картофеля не имели таких фрагментов, что указывает на то, что меристематические линии не содержали вируса PVY.

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13



1 млн - 1; 2-млн 2; 3-млн - 3; 4-млн- 4; 5 - млн-5; 6 - млн-6; 7 - млн-7; 8-млс-1; 9-млтз - 1;
10 - млтх-1; 11-положительный контроль 12-отрицательный контроль; 13-маркер

Рис 1. Электрофореграмма специфических продуктов тотального КТ-ПЦР-анализа РНК на вирус PVY.

Impact Factor:

ISRA (India) = 6.317
ISI (Dubai, UAE) = 1.582
GIF (Australia) = 0.564
JIF = 1.500

SIS (USA) = 0.912
РИИЦ (Russia) = 3.939
ESJI (KZ) = 8.771
SJIF (Morocco) = 7.184

ICV (Poland) = 6.630
PIF (India) = 1.940
IBI (India) = 4.260
OAJI (USA) = 0.350

Так, в результате тестирования меристематических линий картофеля на начальной стадии роста с помощью полимеразной цепной реакции и иммуноферментного анализа на вирусную инфекцию было предложено использовать ПЦР-анализ как наиболее специфический и чувствительный метод диагностики. Преимущество ПЦР-анализа заключается в том, что вирусная инфекция выявляется в первом анализе и не размножается зараженными вирусами картофельными линиями в последующих пассажах[6].

Пробирка показывает, что скорость роста растений и уровень их развития зависят от состава

питательной среды. По сравнению с контролем В-1, Хорошо развитые растения сформировались в питательных средах В-3, В-5, в этих средах после выращивания в течение 28 дней растения имеют высоту 6,1 - 5,3 см; количество листьев 6,4 - 5,8 шт. Растения в среде В-6 росли так же, как и при наблюдении, эти две питательные среды не отличались друг от друга, были различия только в количестве кинетина: В-1-0,5 мл/л, В – 6-1,0 мл/л. В средах В-2, В-4 пробирки картофеля были несколько ниже, чем у других вариантов (Диаграмма 1.)

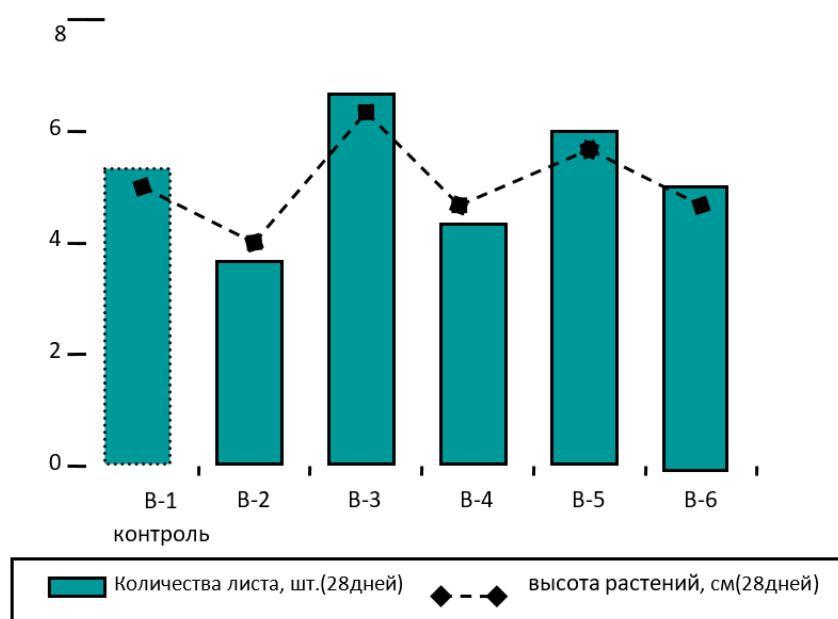


Диаграмма 1. Влияние питательных сред на рост растений в пробирках

Следовательно, на диаграмме 1 растения с большим количеством листьев были получены в средах В-3, В-5, потому что эти среды обогащены макроэлементами, микроэлементами, витаминами, аминокислотами. В состав среды В-3 входят никотин, гибберелловая кислота, пантотат Са, аденин, кроме него активированный уголь, который обеспечивает сорбцию токсинов, выделяемых растением, таких как фенилуксусная, бензойная, пеларгонная, капризовая кислоты. Благодаря этому в этих питательных средах сформировались хорошо развитые растения. В питательную среду В-5 помимо минеральных солей добавляют гибберелл и никотиновую кислоту. В средах В-2, В-4 растения формировались очень медленно, эти среды содержат мало витаминов и регуляторов роста.

На интенсивность роста пробирочных растений картофеля существенно влиял состав питательной среды. При использовании питательной среды В-3 существовала значительная разница между средними арифметическими показателями по высоте растений по сравнению с контролем ($t_d > t_{05}(3,57 > 2,10)$). [7]

Морфометрический анализ пробирочных растений показал, что существуют различия в сортах. Скорость роста пробирочных растений (высота растения, рост, лист, количество корней) зависела от генотипа, а высота растения колебалась в среднем до 4,6-10,5 см. Наибольшая высота пробирочного растения наблюдалась у сортов Snowden - 10,5 см, Садовых – 9,1 см (табл.1). У сортов Акколь, Аксор, Карасай длина стеблей была низкой.

Impact Factor:	ISRA (India) = 6.317	SIS (USA) = 0.912	ICV (Poland) = 6.630
	ISI (Dubai, UAE) = 1.582	РИИЦ (Russia) = 3.939	PIF (India) = 1.940
	GIF (Australia) = 0.564	ESJI (KZ) = 8.771	IBI (India) = 4.260
	JIF = 1.500	SJIF (Morocco) = 7.184	OAJI (USA) = 0.350

Таблица 1.

№	Сорт	Морфометрические параметры			
		Высота растений, см	Количества листа, шт.	Количество побеги, шт.	Высота растений, см
1	Тохтар	7,2±0,53	11,8±0,57	2,1	7,2
2	Садовый	9,1±0,38	12,5±0,65	2,2	6,4
3	Snowden	10,5±0,46	12,4±0,65	1,5	5,7
4	Невский	7,2±0,38	7,3±0,47	2,7	6,3
5	Морской	7,8±0,21	11,5±0,50	1,9	6,8
6	Карасай	5,5±0,31	4,4±0,23	1,7	7,5
7	Аксор	5,2±0,38	5,8±0,37	1,9	7,9
8	Аккол	4,6±0,34	5,6±0,26	2,1	6,4

Были также различия в интенсивности формирования листьев сортов картофеля. В одном побеге количество листьев колебалось от 4,4 до 12,5 штук в зависимости от генотипа. Растения с высоким стеблем, большим количеством листьев, хорошо развитыми пробирками были получены из садовых сортов Snowden. Также у морских, бараньих и Невских сортов сформировались хорошие растения. Слабо развитые пробирные растения наблюдались у сортов Аккол, Карасай, Аксор. По изученным сортам образование корней происходило на одном уровне, его размер составлял 5,7-7,9 штук на растение.

В результате проведенных исследований была проведена селекция пробирочных растений сортов Латона, Романо, Невский, Снегден, Тохтар, Карасай, Аккол, Садовый, Морской, Аксор, отличный для переноса в аэропную и пленочную теплицу. Путем микроклонального размножения за 3 года было получено 26307 экземпляров пробирочных растений, из которых в пленочную теплицу было посажено 7176 экземпляров, а в аэропное устройство-4675 экземпляров, и часть пришла в негодность.

В результате проведенных опытов 7176 экземпляров безвирусных пробирочных растений были высажены в Яровой теплице юзниижирского опытного участка. Растения из пробирки высаживают в почву на один или два срока.

Адаптация пробирочных растений картофеля в летней теплице изучалась в условиях влажной камеры и в обычных традиционных условиях.

Адаптация растений из пробирки в летней теплице показала высокие показатели во влажных условиях камеры. В типичных традиционных условиях адаптация растений из пробирки составляла в среднем 55% в конце вегетации, в то время как количество растений, которые не росли, составляло 45%.

Адаптация растений из пробирки в конце вегетации в теплице увеличилась на 84% при использовании влажной камеры. В зависимости от сорта процент адаптации колебался от 75,9 до 100%. Из 1491 пробирного растения только 239 экземпляров не выросли (16%).

Из безвирусных пробирочных растений за 3 года в яровых теплицах юзниижирского опытного участка было получено 37586 картофельных минутшек, которые затем размножались в полевых питомниках[8].

Миниклубни сортов картофеля, полученных в условиях летней теплицы, различались по размерам. Наибольшее количество мелких клубней составило 9332 штуки, или 56% от общего объема, средних клубней-5613 (34%), крупных – 1696 шт. (10%) (табл.2).

Для получения клубневого материала минутбины и клубни были посажены в питомниках для размножения в период с 2017 по 2020 год. В 2017 году средняя урожайность сортов картофеля с площади 0,5 га в 1-м году составила-18,4 т/га, второй год - 27,4 т/га с 0,85 га, а третий год-27,2 т/га с 1,4 га.

Таблица 2. Количество и фракции клубней, полученных из пробирочных растений картофеля

Сорт	Клубень, шт.	Фракция миниклубней					
		Мелькие		Средние		Большие	
		шт.	%	шт.	%	шт.	%
Тохтар	6299	3653	58	2078	33	568	9

Impact Factor:

ISRA (India) = 6.317
 ISI (Dubai, UAE) = 1.582
 GIF (Australia) = 0.564
 JIF = 1.500

SIS (USA) = 0.912
 ПИИЦ (Russia) = 3.939
 ESJI (KZ) = 8.771
 SJIF (Morocco) = 7.184

ICV (Poland) = 6.630
 PIF (India) = 1.940
 IBI (India) = 4.260
 OAJI (USA) = 0.350

Snowden	3026	1604	53	1150	38	272	9
Акол	751	466	62	173	23	112	15
Садовый	783	485	62	196	25	102	13
Тениз	3523	2079	59	1198	34	246	7
Невский	1564	688	44	563	36	313	20
Аксор	310	130	42	124	40	56	18
Карасай	385	227	59	131	34	27	7
Всего	16641	9332	56	5613	34	1696	10

В наставничестве первого года производительность была ниже, чем в наставничестве второго и третьего года. Она обусловлена высокой частотой посадки и семенными фракциями клубней. [9]

Сравнивали урожайность безвирусных сортов картофеля и элитных семян голландского сорта Латона, полученных в питомнике размножения третьего года биотехнологическими методами, у бараньих и морских сортов урожайность увеличилась по сравнению с

контрольным сортом, а у остальных сортов урожайность была примерно такая же, как у Латоны (табл.3).

Урожайность ягнят и морских сортов, полученных в питомнике размножения третьего года, значительно увеличилась по сравнению с сортом Латона. Существует значительная разница между среднеарифметическими показателями по урожайности по сравнению с контрольными у сорта ягненка, $t_{d>t05}(18,9>2,10)$ и $3,8>2,10$ у Морского сорта.

Таблица 3. Урожайность сортов картофеля в питомнике размножения третьего года (элитные семена)

№	Сорт	Средняя урожайность, т/га	Разница по сравнению с контролем, т/га
1	Латона (контрольный)	25,6	
2	Акол	22,2	- 3,4
3	Морской	28,8	+ 3,2
4	Садовый	21,6	- 4,0
5	Snowden	23,1	- 2,5
6	Тохтар	40,4	+ 14,8

С использованием данных тенденций предложено оздоровление семенного материала от вирусной инфекции биотехнологическими методами. В ходе выполнения данного проекта на хозяйственной основе введено производство элитных семян картофеля, оздоровленных от вирусной болезни юзниижирского опытного участка. Благодаря этому хозяйство получило статус производителя элитных семян картофеля.

Для наблюдения за развитием вирусных заболеваний в теплицах, питомниках растения картофеля тестировали с помощью иммуноферментного анализа (ИФА) на вирусную инфекцию. В летний период в теплицах и питомниках для размножения брали образцы листьев (по 10 экземпляров с каждого сорта). Тест проводился с тройным повторением на вирусы PVX, PVY, PVS, PVM, PLRV. Все линии, показавшие малонасыщенность вирусной инфекции, были удалены.

Заключение.

В ходе исследования растения, растущие в питомниках размножения первого, второго и

третьего года, были проверены на наличие вирусной инфекции. Установлено, что полевые растения картофеля в питомнике размножения первого года устойчивы к вирусам PVX, PVY, PLRV. Из 8 сортов только сорт Карасай не выращивали дальше, так как он был заражен вирусами PVM, PVS.

При проведении ИФА для выявления вирусов PVX, PVY, PVS, PVM, PLRV на вторичном 10-м порядке картофеля, посаженного в питомниках репродукции 2-го года, установлено, что полевые растения картофеля устойчивы к вирусам PVX, PVY, PLRV, PVS. Из четырех разновидностей было обнаружено, что только ягнята были заражены вирусом PVM[10].

Так, было установлено, что картофель, проверенный на вирусные заболевания, взятый с промышленных посевов хозяйства, заражается вирусами в два раза чаще и влияет на снижение урожайности. В связи с этим для повышения урожайности картофеля очень важно оздоровить семенной материал биотехнологическими методами.

Impact Factor:

ISRA (India) = 6.317
ISI (Dubai, UAE) = 1.582
GIF (Australia) = 0.564
JIF = 1.500

SIS (USA) = 0.912
РИИЦ (Russia) = 3.939
ESJI (KZ) = 8.771
SJIF (Morocco) = 7.184

ICV (Poland) = 6.630
PIF (India) = 1.940
IBI (India) = 4.260
OAJI (USA) = 0.350

В работах по выпуску семян картофеля методом меристематической технологии особое место занимают вопросы охраны окружающей среды. В работах по защите от повторного заражения меристематических материалов, вылеченных от вируса, требуется применение пестицидов для уничтожения и отпугивания насекомых. Эти работы проводятся как в лабораторных, так и в полевых условиях. Доказанным фактом является то, что используемые в работе растворы пестицидов находятся на уровне, оказывающем вредное воздействие на организм человека и животных. Поэтому при их использовании обязательными условиями считаются соблюдение правил со следующими условиями:

- перед использованием пестицидов вокруг не должно быть животных или людей;

- * при обработке растений химикатами на обработанных полях и долях должны быть установлены специально изготовленные доски с информацией об опасности химикатов;

- * после обработки необходимо предусмотреть не прибытие животных на поля;

- * жителям населенных пунктов, расположенных вблизи поля или доли, должно быть сообщено о том, что поле обработано химическими веществами и за сколько суток содержащиеся в нем вещества вредны для организма животных и человека;

- * дозировка используемых химических препаратов не должна применяться в количестве,

превышающем рекомендуемый эффективный показатель;

- * при обработке растений химикатами необходимо неукоснительно соблюдать правила безопасности средствами личной гигиены;

- * при использовании химикатов в полях следует использовать благоприятные погодные условия, химические вещества, применяемые в ветреную или ливневую погоду, не должны смываться водой;

- * при сильном ветре основное количество химического вещества может распространиться за пределы соответствующего поля, при этом необходимо следить за тем, чтобы вредные вещества через ветер не попадали на поля близлежащих овощных и других растений;

- * при обработке полей химическими веществами сброс остатков химикатов в окружающие поля наносит большой ущерб, а распыление остатков добавок в соседние поля может убить полезную фауну;

- при выборе полей, используемых для производства семян, необходимо выбирать поля, удаленные от полей отдельных и других растений;

- * после выполнения работ по обработке растений пестицидами использованную технику нельзя мыть в близлежащих водоемах или на стартах и реках, должны быть специальные места для мойки техники и дезактивации химических веществ;

- в районах с большим количеством осадков такие питомники желательно размещать подальше от берегов рек и водоемов.

References:

1. Ali, A. M., Kakimzhanova, A. A., Magzumova, G. K., Rahimzhanova, A. O., Sozinova, L. F., Tagimanova, D. S., & Ramankulov, E. M. (2018). Poluchenie bezvirusnogo miniklubnej kartofelya. *Biotehnologiya. Teoriya i praktika*. 2018. № 4, pp. 87-91.
2. Shmyglya, V. A., Ninyanin, N.F., Bolshchakova, L. V., & Nikolaeva, O. N. (2019). *Vydelenie ozdoravlivaemogo ot virusov iskhodnogo materiala dlya pervichnogo semenovodstva, Intensifikaciya proizvodstva kartofelya na Dal'nem Vostoke*. (pp.36-42). Habarovsk.
3. Sheveluha, V. S. (2020). Problemy novoj biotehnologii v selekcii i rasteniyevodstve.- *Vestnik sel'sko-hozyajstvennoj nauki*. 2020, m. №22, pp. 85-99.
4. Abdil'daev, V.S., & Bayadilova, G.O. (2007). «Vliyanie uslovij hraneniya na vskhozhest' i problemy snyatiya perioda pokoya u mikroklubnej kartofelya». *Vestnik №10 2007*. Almaty, pp.9-10.
5. Valihanova, G. Zh. (2001). *Biotehnologiya rastenij*. Almaty, Kazahskij universitet.
6. Ramankulov, E. M., Sozinova, L. F., Kakimzhanova, A. A., Karimova, V. K., Tagimanova, D. S., Ali, A. M., Magzumova, G. K., Nalibaev, H., Rahimzhanova, A., Orazaliev, Zh., & Shimpf, A. Ya. (2019). *Razrabotka reglamenta industrial'nogo proizvodstva bezvirusnyh miniklubnej i vnedrenie effektivnyh tekhnologij sozdaniya elitnogo kartofelya*. material 1-oj mezhdunarodnoj konferencii «Astana - bitehnologiya 2019». Astana.

Impact Factor:

ISRA (India) = 6.317
ISI (Dubai, UAE) = 1.582
GIF (Australia) = 0.564
JIF = 1.500

SIS (USA) = 0.912
ПИИИ (Russia) = 3.939
ESJI (KZ) = 8.771
SJIF (Morocco) = 7.184

ICV (Poland) = 6.630
PIF (India) = 1.940
IBI (India) = 4.260
OAJI (USA) = 0.350

7. Egizbaeva, T.K., Bayadilova, G.O., Daminova, R.K., Lesova, Zh.T., & Bayadilov, K.O. (2008). «Kartoptyn virustardan sauyktyrylgan esimdikterin alu zhəne esiru zhagdajlyryn ontajlandyru». *Izdenister, nətizheler* №4 KazYAU, Almaty, pp.52-54.
8. Zaklyukevich, K. (1985). *Neobhodimost' i metody ozdorovleniya sortov kartofelya ot virusov. Sovremennye problemy kartofelya na bezvirusnoj osnove.* (pp.61-67). Vladivostok.
9. Stepanova, Z.P. (2011). Metody uskorennoogo razmnozheniya ozdorovlennyh sortov kartofelya. *Nauch.trudy NIIKKH*, tom 18, pp. 124-128.
10. Chirkov, S.N. (2005). Test: Ekspres-metod immunodiagnostike fitavirusov. *Sel'skohozyajstvennaya biologiya*, 2005, №6, pp. 42-46.