

7-бөлім
БИОТЕХНОЛОГИЯ

Раздел 7
БИОТЕХНОЛОГИЯ

Section 7
BIOTECHNOLOGY

Богуспаев К.К., Портной В.Х.,
Фалеев Д.Г., Касымбеков Б.К.,
Турашева С.К.

**Тау-сағыз
(*Scorzonera tau-saghyz* Lipsch.
et G.G. Bosse) альтернативный
источник получения
натурального каучука**

В кратком обзоре приведены основные положения, которые определяют преимущества тау-сагыза (*Scorzonera tau-saghyz* Lipsch. et G.G. Bosse), как альтернативу распространенной в мире гевеи, источника натурального каучука. Представлены сведения по биологии развития тау-сагыза – уникального растения – каучуконоса эндемика Южного Казахстана. Описаны основные пути биосинтеза каучука в растениях-каучуконосах на примере гевеи (*H. brasiliensis*), одуванчика (*Taraxacum brevicorniculatum*) и фикуса *Ficus* sp. Обсуждены собственные результаты по культуре клеток тау-сагыза *in vitro* и перспективы получения генетически улучшенных растений с повышенной продуктивностью и сокращенным сроком накопления натурального каучука в корнях. Также рассмотрены пути использования современных биотехнологий для восстановления численности в природе редкого и исчезающего вида, и создания плантаций для получения коммерческого каучука из корней.

Ключевые слова: *Scorzonera tau-saghyz*, *H. brasiliensis*, каучук, культура клеток *in vitro*, биосинтез.

Boguspaev K.K., Portnoy V.,
Faleev D.G., Kasymbekov B.K.,
Turashева S.K.

**Tau-saghyz (*Scorzonera tau-*
saghyz Lipsch. Et GG Bose) an
alternative source of natural
rubber**

The overview shows the basic provisions that define the benefits tau sagyz (*Scorzonera tau-saghyz* Lipsch. Et GG Bosse), as an alternative common in the world of rubber trees, a source of natural rubber. Provides information on the biology of the tau sagyz – unique plant – rubber plants endemic of southern Kazakhstan. The basic rubber biosynthetic pathway in plants, rubber plants on the example of rubber trees (*H. brasiliensis*), dandelion (*Taraxacum brevicorniculatum*) and fig *Ficus* sp. They discussed their own results with cell culture sagyz tau *in vitro* and the prospect of genetically improved plants with increased productivity and shorten the accumulation of natural rubber in the roots. The ways of using modern biotechnology to restore the strength of the nature of the rare and endangered species, and the establishment of plantations for commercial rubber from the roots.

Key words: *Scorzonera tau-saghyz* Lipsch. et Bosse, *H. brasiliensis*, rubber, culture cells *in vitro*, biosynthesis.

Богуспаев К.К., Портной В.Х.,
Фалеев Д.Г., Касымбеков Б.К.,
Турашева С.К.

**Тау-сағыз (*Scorzonera tau-*
saghyz Lipsch. et G.G. Bosse)
табиғи каучук алудың
альтернативтік қайнар көзі**

Қысқа көріністе тау-сағыздың артықшылығын анықтайтын басты жағдай көрсетілген, дүниежүзінде таралған Гевея, табиғи каучуктің қайнар көзі. Биологияда тау-сағыздың дамуы туралы мағлұмат көрсетілген – бірегей өсімдік – Оңтүстік Қазақстанның эндемик каучу-гі. Фикуса *Ficus* sp., Жолжелкен (*Taraxacum brevicorniculatum*) және Гевеялық (*H. brasiliensis*) каучук өсімдіктерінің басты биосинтездеу жолдары айтылған. Тау-сағыздың *in vitro* жасуша ортасының өзіндік нәтижелері талқыланды және өнімділігі жоғарлатылған және тамыр-да табиғи каучуктің қысқартылған уақытта жиналатын генетикалық күшейтілген өсімдікті алу жолдары қарастырылды. Сирек кездесетін және жоғалып бара жатқан түрлерін қайта қалпына келтіру мен тамырларынан коммерциялық маңызды каучук алудың қазіргі заманғы тиімді биотехнологиясын әзірлеуде қолданысқа ие болуы мүмкін.

Түйін сөздер: *Scorzonera tau-saghyz*, *H. brasiliensis*, каучук, *in vitro* жасуша орталығы, биосинтезі.

**ТАУ-САГЫЗ
(*Scorzonera tau-saghyz*
Lipsch. et G.G. Bosse)
АЛЬТЕРНАТИВНЫЙ
ИСТОЧНИК
ПОЛУЧЕНИЯ
НАТУРАЛЬНОГО
КАУЧУКА**

Введение

Растущий спрос в мире на натуральный каучук, в настоящее время, привел исследователей к поиску альтернативных, в отличие от Гевеи (*Hevea brasiliensis*) источников природного каучука. В нашей Республике, еще в 1929-1932 гг., при изучении горных систем южного Казахстана было выяснено, что Каратауский хребет является родиной превосходного каучуконосного растения – козелец тау-сагыз (*Scorzonera tau-saghyz* Lipsch. et G.G. Bosse) [1]. Тау-сагыз – эндемик Казахстана способный накапливать до 40% каучука в сухих корнях, не уступает по качеству каучуку гевеи. В настоящее время в связи с все возрастающими потребностями в натуральном каучуке является весьма перспективным разработка новых рентабельных биотехнологий с целью получения природного каучука из тау-сагыза.

В течение ряда лет, с 1932 по 1937 г., прошлого века, специальными исследованиями и экспедициями под руководством М. В. Культиасова изучались систематика, география, биология и условия введения в культуру тау-сагыза. В результате всех произведенных наблюдений было сделано однозначное заключение, что горы сырдарьинского Каратау, лежащие на территории Казахстана, являются родиной и основным местообитанием лучшего из ныне известных советских каучуконосов – Козелец тау-сагыз, (казахск. тау-сагыз, *Scorzonera tau-saghyz* Lipsch. et Bosse) из сем. сложноцветных, в сухих корнях которого присутствует до 40% каучука [2].

Тау-сагыз – это многолетник высотой 25-40 см с длинным стержневым корнем. Корзинки желтого цвета располагаются одиночно. Злаковидные листья образуют розетку. Если разломить корень или стеблекорень Тау-сагыза, то можно увидеть эластичные, тянущиеся нити каучука. Каучук содержится в млечниках, которые пронизывают не только корни, но также каудексы и листья Тау-сагыза [2].

Однако, Тау-сагыз уже давно занесен в Красную книгу КазССР и Республики Казахстан, как растение с сокращающимися запасами. Редким вид стал по вине человека. В предвоенные и особенно в военные годы из природы было изъято более 14 млн.

растений и получено около 902 тонн каучука для оборонной промышленности СССР. Восстановление его запасов в естественной обстановке происходит крайне медленно. Причина – образование небольшого количества семян на 3-4-м году жизни, гибель проростков в молодом возрасте. Тау-сагыз обладает слабой конкурентоспособностью по сравнению с другими растениями, произрастающими рядом с ним. Интенсивное освоение территорий ведет к еще большему сокращению численности редкого растения.

Наряду с организацией плантаций, одним из перспективных путей восстановления численности вида являются биотехнологические методы, в первую очередь микрклональное размножение и культивирование клеток-продуцентов в контролируемых условиях.

Цель данной работы – показать перспективы изучения тау-сагыза как альтернативного источника получения натурального каучука.

Биосинтез каучука в растениях

Гибкая, растяжимая и водонепроницаемая, резина является одним из необходимых материалов в современном мире. Каждый год, производители перерабатывают более 25 миллионов тонн каучука в такие товары, как шины, обувь, клей, краски, шланги, прокладки, перчатки, презервативы, машинные ремни, и т.д. [2]. Но при всей своей важности, имеются только два экономически рентабельных источника каучука. Первый – это гевея *H. brasiliensis* дерево, которое выращивается в промышленных масштабах лишь в нескольких странах. Более 90% натурального каучука производится в Юго-Восточной Азии, особенно в Таиланде, Индонезии и Малайзии. Второй источник – это нефть, которая обладает своей собственной ценностью. Дефицит в натурном каучуке на мировом рынке усугубляется увеличением затрат на добычу нефти, что приводит к увеличению цен на синтетический каучук, 80% которого производится из бутадиена.

Как установлено, генетическая база *H. brasiliensis* крайне узка, в итоге, на обширных площадях выращивают генетически идентичные клоны, что приводит к значительным потерям урожая каучука. Кроме того, большинство плантаций гевеи в Бразилии заражено патогенным грибом *Microcyclus Ulei*, что практически подорвало каучуковую промышленность в этой стране [3].

Совсем недавно, эти разрушительные грибковые патогены появились в Индии и Таиланде и угрожают выживанию экономически важных

популяций *H. brasiliensis* в этих странах. Если не будут приняты соответствующие меры по борьбе с патогенными грибами производству натурального каучука в Юго-Восточной Азии может быть нанесен непоправимый ущерб. Повышение спроса на каучук привело к шестикратному повышению цен с 2002 года, стимулируя исследования с целью повышения производительности, как плантаций гевеи, так и поиск альтернативных источников натурального каучука [3].

Натуральный каучук (НК) (1,4-цис-полиизопрен), является биополимером с высокой молекулярной массой (> 1000 кДа) и уникальными свойствами, которые не могут быть заменены синтетическими альтернативами [3, 4]. Так, например, шины для грузоперевозок и авиации требуют большого содержания природного сырья, поскольку требуется высокое качество резиновой смеси. Как результат, авиационные шины почти на 100% состоят именно из натурального каучука.

НК содержится в латексе (молочном соке), который синтезируется в специализированных клетках – млечниках (особый тип выделительной ткани) [5-6]. Млечный сок – эмульсия молочно-белого цвета (реже оранжевого), содержащая различные вещества – терпеноиды, алкалоиды, натуральный каучук, танины, углеводы, жирные масла, белки и т.д. [7]. Каучук в латексе может выполнять барьерные функции, защищая поврежденные участки от проникновения насекомых и / или предотвращать питание, посредством склеивания (обрезинивания) их ротового аппарата [7].

Синтез каучука осуществляется на поверхности так называемых резиновых частиц, которые являются уникальными органеллами, обнаруженными только в латексе [8-10]. Резиновые частицы из различных видов имеют сходную глобулярную структуру, содержащую гомогенный каучук, заключенный в интактную монослойную мембрану. Монослойная мембрана включает смесь липидов, белков и других молекул, создавая, таким образом, возможность взаимодействия между гидрофобными молекулами каучука и гидрофильным цитозолем [10, 11]. Размер резиновых частиц колеблется от 0,08-2,0 мкм у *H. brasiliensis*, 0,2-6,5 мкм у *Ficus sp.* и 1,0-2,0 мкм у *P. argentatum* [10, 12].

Метаболический путь биосинтеза каучука в гевее *H. brasiliensis* выяснен и все гены, в нем участвующие, были определены, особенно после применения технологии Illumina [13]. Каучук является продуктом одной из ветвей всеобъем-

лющего пути синтеза изопреноидов / терпеноидов, где изопентенил дифосфат (isopentenyl diphosphate – IDP), является общим интермедиатом многочисленных изопреноидов и может быть получен, либо из цитозольного меволаната (mevolanete – MVA), или пластидного метилэритритол D-фосфат (methil-eritritol D-Phosphat-MEP) пути [14]. Биосинтез натурального каучука в высших растениях, таких как *H. brasiliensis* и *P. argentatum*, осуществляется последовательным добавлением IDP, к терминальной группе иницирующего аллильный пирофосфат (allylic pyrophosphates – APP) например, фарнезил пирофосфат (farnesyl pyrophosphate – FPP), формируя полиизопреновые цепи в цис-конфигурации. Реакция катализируется посредством фермента каучук трансферазы, то есть *cis*- пренил трансферазы (*cis*-prenyl transferases – CPTs), связанной с резиновыми частицами [15-17].

Следует отметить, что хотя эффективными инициаторами биосинтеза каучука в условиях *in vitro*, служили несколько видов APP (например, диметилаллил-PP (dimethylallil-PP) (5-углерода), геранил-PP (geranil-PP) (транс, 10 атомов углерода), и фарнезил-PP (farnesyl-PP – FPP) (15 атомов углерода)), полагают, что именно FPP, является первичным инициатором биосинтеза каучука в условиях *in vivo* [17-19].

К настоящему времени выделены и охарактеризованы множество специфичных белков участвующих в биосинтезе каучука. Среди них несколько CPTs, выделенных из гевеи *H. brasiliensis* [20] и одуванчика *Taraxacum brevicorniculatum* [21]. Следует отметить, что ранее описываемый как *Taraxacum kok-saghyz* [16] на самом деле является *Taraxacum brevicorniculatum* [22]. Так у гевеи *H. Brasiliensis*, впервые были идентифицированы два высоко гомологичных белка связанных с поверхностью резиновых частиц, это так называемые «маленькие» белки резиновых частиц, обозначенные как HbSRPP и фактор элонгации каучука (HbREF) [23] Соответствующие гомологи были также идентифицированы в *P. argentatum* [24] и в *Taraxacum brevicorniculatum* [16]. Так в одуванчике, например были идентифицированы и охарактеризованы три *cis*-пренилтрансферазы (ЦПТ) и пять генов кодирующих «маленькие» белки резиновых частиц, обозначенные как TbSRPP1–5, previously designated as TkSRPP1–5 [16]. В опытах с использованием трансгенных растений *Taraxacum brevicorniculatum* было показано, что эти ферменты играют значительную роль в биосинтезе каучука [25].

Следует особо отметить, что в базе данных Национального центра биотехнологической информации (NCBI, USA), никаких медико-биологических и генетических сведений о тау-сагызе нет. Единственное исключение составила статья посвященная методу выделения каучука из тау-сагыза (*Scorzonera tau-saghyz*). Для сравнения кок-сагызу (*Taraxacum kok-saghyz*) посвящены более 20 статей и имеется информация о более чем 16 тысяч экспрессируемых последовательностях (EST) и 36 белках [26, 27].

Культура клеток каучука *in vitro*

Большинство работ по культивированию клеток основного каучуконоса Гевеи (*Hevea brasiliensis*) *in vitro* были направлены на улучшение вегетативного размножения через культуру тканей, индукции соматического эмбриогенеза и генетической трансформации. Первые сообщения о регенерации растений в культуре клеток гевеи [28] дали надежду на дальнейшее развитие этого направления. Даже очень маленькая прибавка урожая оправдывало все затраты, поскольку продолжительность жизни дерева около 30 лет и каждый год дает урожай. Первая известная работа по культуре *in vitro* гевеи, была проведена в 1953 году во Французском институте каучука, с целью использования каллусов как удобного материала для изучения систем растений, образующих латекс [29]. Это направление исследований было продолжено в Институте исследования каучука в Малайзии, при поддержке научно-исследовательской Ассоциации малазийских производителей каучука [30]. Вегетативное микроразмножение гевеи с использованием различных эксплантов, в основном из рассады, описано также в работах [31]. Тем не менее, эффективный протокол для крупномасштабного вегетативного размножения элитных клонов гевеи еще предстоит разработать. Были попытки использовать экспланты узелков, выделенных из асептически выращенных саженцев. Полученные регенеранты образовывали корни на жидкой среде МС, но при переносе на твердую среду, они не росли. Также использовали молодые побеги, полученные из 1-3-летних саженцев, выращенных в теплице, и в итоге разработали технологию укоренения регенерантов [32]. Тем не менее, получение микроклонов от элитных сортов деревьев гевеи до сих пор не решенный вопрос, только несколько попыток завершилось получением укорененных регенерантов. Основная проблема клонального разм-

ножения материала из взрослых деревьев является неспособность регенерантов производить жизнеспособную стержневую корневую систему, обеспечивающую стабильный рост деревьев. Кроме того, экспланты из зрелых тканей гевеи практически не образуют морфогенных каллусов и с трудом размножаются в культуре *in vitro* [33].

Каучуконосные деревья это культуры, которые в основном растут в тропической зоне и подвержены сильному бактериальному и грибовому заражению, поэтому экспланты, полученные из зараженных тканей не могут быть использованы в культуре *in vitro*, что также является серьезным ограничением. Поэтому исследования были сосредоточены в направлении поиска эффективных методов стерилизации исходных эксплантов. Известно, что физиологическое состояние эксплантов играет значительную роль в вегетивном размножении и поэтому подробные исследования были проведены Каррон и др. (1985), они сообщили, что процесс микроклонального размножения проходил с низкой производительностью и растениям не хватало активности корневой системы.

Соматический эмбриогенез эффективный путь регенерации растений имеет важное значение для улучшения культур при использовании трансгенных технологий с последующим микроклональным размножением. Хотя клональное микроразмножение гевеи с использованием молодых побегов в качестве эксплантов привело к некоторому прогрессу, однако, существует ряд недостатков в этой системе. Например, растения полученные из одного экспланта, имели различные фенотипические признаки, что нежелательно в клональном размножении. Кроме того, они не могут быть эффективно использованы в исследованиях по генетической трансформации вследствие образования химер, которые приводят к появлению различных генотипов внутри ткани. В итоге работы по микроклональному размножению гевеи пока не дали ожидаемых результатов, полученные растения-регенеранты не отвечают основным требованиям необходимым для деревьев-каучуконосов, а именно высокая продуктивность, идентичность, устойчивость к заболеваниям.

В настоящее время одним из приоритетных направлений в селекции гевеи с высоким содержанием каучука, является получение трансгенных деревьев с увеличенным объемом древесины стволов. Тем более многие из генов, участвующих в пути биосинтеза каучука уже

клонированы и охарактеризованы. Недавно разработанные протоколы для соматического эмбриогенеза и регенерации растений, открыли новые возможности и инструменты для генетической трансформации, а не для массового микроклонального размножения гевеи. Для улучшения агрономических признаков, исследования направлены в сторону развития трансгенных каучуковых деревьев с повышенным биосинтезом каучука, увеличением объема древесины, устойчивостью к болезням, различных абиотических стрессов и т.д.

Из приведенных примеров из мировой литературы, следует сделать основной вывод о том, что наиболее выгодный биотехнологический метод микроклонального размножения *in vitro* растений не пригоден для размножения и улучшения пород гевеи (*H. brasiliensis*). В то же время тау-сагыз вполне оказался отзывчивым растением для использования в культуре *in vitro*. В исследованиях, проведенных в лаборатории экологической биотехнологии НИИ проблем экологии, КазНУ им. аль-Фараби была разработана технология *in vitro* для *Scorzonera tau-saghyz*, которая включает, как культуру каллуса, так и суспензионную культуру с последующей регенерацией растений [27].

В наших экспериментах на эффективность культивирования *in vitro* оказывают влияние физиологическое состояние эксплантов и состав питательной среды. Ткани корней однолетних растений тау-сагыза более отзывчивы к морфогенезу, чем корни двухлетнего тау сагыза. Ксероморфные листья одно- и двухлетнего тау-сагыза являясь высокодифференцированными (высокоспециализированными) не отзывчивы к процессам дедифференциации в условиях *in vitro*. На успех введения в культуру оказывают влияние способ стерилизации эксплантов. В ходе проведения лабораторных опытов было выявлено, что наиболее эффективным веществом для стерилизации является 0,1% раствор сулемы (10 мин.) в сочетании с 70% этанолом (30 сек.). При данной комбинации максимально проявляются бактерицидные и фунгицидные свойства стерилизующего вещества и в то же время проявляется минимально повреждающее действие, не токсичное и щадящее для растительной ткани [27].

Исследования по оптимизации каллусогенеза показали, что наиболее перспективным является использование в качестве эксплантов асептических проростков, полученных путем проращивания семян **Scorzonera tau-saghyz** на **безгормональных питательных средах**. Для

увеличения всхожести семян *in vitro* необходимо предварительно проводить стратификацию и обработку семян 0,1% тиомочевинной в течение 15 минут. Простерилизованные и обработанные тиомочевинной семена, культивируемые на безгормональной питательной среде МС, дают хорошо развитые стерильные проростки. Непополноценные семена дикорастущих видов тау-сагыза эффективно культивировать на базовой питательной среде МС, с 0,5 мг/л ИУК, 0,1 мг/л кинетина и 0,1 мг/л ГК. Данный минерально-гормональный состав среды благоприятствует росту невыполненных слаборазвитых семян тау-сагыза и образованию адвентивных почек [27].

Оптимальной питательной средой для индукции морфогенеза в культуре листовых и корневых эксплантов, является среда Мурасиге-Скуга, содержащая 1 мг/л БАП, 0,1 мг/л НУК, 0,1 мг/л 2,4-Д. Минерально-органический состав питательной среды оказывает положительное влияние на индукцию морфоструктур тау-сагыза в условиях *in vitro*, по сравнению с минеральным составом, богатой витаминами, среды Гамборга-Эвелега В5 (В5) [27].

Для стимулирования развития геммогенных участков морфогенных каллусных тканей тау-сагыза необходимо присутствие в составе среды МС 0,5 мг/л гибберелловой кислоты.

Полученные нами данные в немалой степени могут способствовать разработке рентабельных биотехнологий культивирования *Scorzonera tau-saghyz* и получения коммерческого каучука из его корней.

Известно, что суспензионные культуры растительных клеток могут синтезировать самые разнообразные по химической природе вещества. Среди них эфирные масла, фенольные соединения, алкалоиды, стероиды, терпеноиды и в нашем случае изопреноидов из которых в результате образуется каучук. В наших экспериментах подбор физических и химических условий культивирования является наиболее простым подходом для повышения продуктивности. В основе физиологического регулирования процессов вторичного синтеза лежит изучение влияния факторов культивирования на рост и метаболизм клеток. Для получения полноценной суспензионной культуры клеток тау-сагыза основное внимание уделяли таким факторам культивирования, как регуляторы роста, минеральные вещества, витамины, сахара, свет, аэрация и температура. Однако, следует отметить, что несмотря на эффективность повышения уровня биосинтеза физиологическими методами, до-

биться количественно значимых изменений в дедифференцированных клеточных культурах, сопоставимых с уровнем в интактном растении, лишь за некоторым исключением, не удастся. Более эффективной в этом плане является генетическая регуляция синтеза вторичного метаболита в системе *in vitro* в суспензионных культурах.

Каучук в корнях тау-сагыза

Для определения содержания каучука в корнях нами было апробировано несколько методик, но они в основном не точны (щелочной метод) или дорогостоящи (метод ИК-спектрометрии). В наших экспериментах использован метод экстракции каучука гексаном с обратным холодильником, с последующей возгонкой в роторном испарителе. Метод вполне удовлетворяет нашим требованиям, достаточно точен, приемлем по срокам и недорого.

Полученные результаты показали, что содержание каучука в корнях колеблется в пределах от 12 до 38,7%, этого следовало ожидать, поскольку, как уже отмечалось, содержание каучука в природе зависит от многих факторов. В первую очередь от возраста и местообитания. Естественно ожидать, что на таком обширном пространстве горного массива (на протяжении около 350 км) заросли тау-сагыза далеко не однородны. Эта неоднородность находится в зависимости от разнообразия местообитаний, на которых встречаются заросли тау-сагыза.

В основном в образцах содержится 12-14% каучука, эти данные коррелирует с нашими представлениями об оптимальных местах обитания на склонах южной ориентации с каштановыми почвами, где и произрастает тау-сагыз с большим (38,7%) содержанием каучука. Заросли этой группы тау-сагыза определены и занесены в систему GPS и в настоящее время находятся под нашим контролем.

Сочетание методов культуры тканей, соматического эмбриогенеза и генетической трансформации будут играть важную роль в будущих исследованиях в области биотехнологического улучшения тау-сагыза. Создание полной базы данных о геноме тау-сагыза в виде общественного портала, будет служить основой для проведения исследований специалистами-генетиками в данной области. Иначе говоря, база данных будет содержать, наряду с кодирующей информацией о конкретном гене, также информацию о его активности в определенных органах и на

различных этапах развития, включая аннотацию о предполагаемой метаболической функции. База данных даст возможность исследователям идентифицировать гены, чей профиль экспрессии коррелируют с интересующими признаками и тем самым способствовать использованию молекулярных инструментов для получения генетически улучшенных растений.

Проведение подобных научно-исследовательских работ позволит в будущем на основе полученных результатов молекулярно-биологических и биохимических исследований биосинтеза каучука у *Scorzonera tau-saghyz* сформировать условия для селекции с использованием молекулярных маркеров. Полученные трансгенные растения, расширяющие генетический полиморфизм, также могут быть использованы в селекционных программах.

Выводы

Подводя итоги, следует отметить высокие потенциальные возможности тау-сагыза, при его культивировании на плантациях, это обеспечивается в первую очередь большим содержанием каучука, благодаря особенностям анатомической структуры корня из года в год параллельно с увеличением корневой массы идет увеличение млечной системы и накопления каучука.

Основные задачи при решении проблемы восстановления тау-сагыза в местах его обитания и проблемы добычи каучука сводятся к следующему:

1. Дифференциация на биоморфологические системы тау-сагыза в природных зарослях и их оценка в культуре в целом: каучуконосность, интенсивность образования вегетативной массы, способность репродукции, сопротивляемость среде, качество каучука.

2. Введение в культуру *in vitro* именно лучших образцов растений, отобранных по указанным показателям.

3. Создание оптимальных условий среды в культуре на плантациях – выработка агротехнических методов по сохранению и защите семян от вредителей и болезней-подготовка почвы, тщательность ухода.

4. Выяснение влияния фитогормонов, инсектицидов, удобрений на рост каучуконосность, репродукцию и сопротивляемость в выпадам.

5. Необходима широкая тщательная работа по выработке для тау-сагыза агрономического комплекса параллельно с большим масштабом селекционных работ.

6. Исследование биохимических и молекулярно-биологических механизмов синтеза полиизопренов у тау-сагыза и получение генетически улучшенных линий с использованием генетической трансформации.

Литература

- 1 Павлов И.В. Растительные ресурсы Южного Казахстана. – М.: Московское общество испытателей природы, 1947. – 128 с.
- 2 Культиасов М.В. Тау-сагыз и введение его в культуру. – Л.: Издательство Академии наук СССР, 1938 – 315 с.
- 3 Gelling K. On the Rebound. Scientists revive search for new rubber sources // Science News. – 2013. – №9. – P. 67-71.
- 4 van Beilen JB, Poirier Y. Establishment of new crops for the production of natural rubber. // Trends Biotechnol. – 2007. – №25. – P. 522-529.
- 5 Mooibroek, H., Cornish, K., Alternative sources of natural rubber.// Appl. Microbiol. Biotechnol. – 2000. – №53. – P. 355–365.
- 6 Bushman B.S., Scholte A.A., Cornish K., Scott D.J., Brichta J.L., Vederas J.C., Ochoa O., Michelmore R.W., Shintani D.K., Knapp S.J. Identification and comparison of natural rubber from two *Lactuca* species. // Phytochemistry. – 2006. – №67 (23). – P. 2590–2596.
- 7 Wasano N., Konno K., Nakamura M., Hirayama C., Hattori M., Tateishi K. A unique latex protein, MLX56, defends mulberry trees from insects. // Phytochemistry. – 2009. – №70. – P. 880–888.
- 8 Gomez J.B., Hamzah S. Particle size distribution in Hevea latex – some observations on the electron microscopic method. // J. Nat. Rubber. Res. – 1989. – №4. – P. 204-211.
- 9 Cornish K. Similarities and differences in rubber biochemistry among plant species. // Phytochemistry. – 2001. – №57. – P. 1123–1134.
- 10 Wood D.F., Cornish K. Microstructure of purified rubber particles. Int. // J. Plant Sci. – 2000. – №161. – P. 435–445.
- 11 Siler D.J., Goodrich-Tanrikulu M., Cornish K., Stafford A.E., McKeon T.A. Composition of rubber particles of *Hevea brasiliensis*, *Parthenium argentatum*, *Ficus elastica*, and *Euphorbia lactiflua* indicates unconventional surface structure // Plant Physiol. Biochem. – 1997. – №35. – P. 881–889.
- 12 Cornish K. The separate roles of plant cis and trans prenyl transferases in cis-1, 4-polyisoprene biosynthesis. // Eur. J. Biochem. – 1993. – №218. – P. 267–271.

- 13 Tang C, Xiao X, Li H, Fan Y, Yang J, Qi J, Li H. Comparative Analysis of Latex Transcriptome Reveals Putative Molecular Mechanisms Underlying Super Productivity of *Hevea brasiliensis* // PLoS ONE. – 2013. – №8(9), doi:10.1371. – P. e75307.
- 14 Chow K.S., Isa M.N., Bahari A., Ghazali A.K., Alias H., Zainuddin Z.M., Hoh C.C., Wan K.L. Metabolic routes affecting rubber biosynthesis in *Hevea brasiliensis* latex // J. Exp. Bot. – 2012. – №58. – P. 2429–2440.
- 15 Rojruthai P., Sakdapipanich J.T., Takahashi S., Hyegin L., Noike M., Koyama T., Tanaka Y. In vitro synthesis of high molecular weight rubber by *Hevea* small rubber particles. // J. Biosci. Bioeng. – 2010. – №109. – P. 107–114.
- 16 Schmidt T., Lenders M., Hillebrand A., van Deenen N., Munt O., Reichelt R. Eizenreich W., Fisher R., Prüfer D., Gronover S.C. Characterization of rubber particles and rubber chain elongation in *Taraxacum koksaghyz* // BMC Biochem. – 2010. – №11. – P. 11.
- 17 Hillebrand A., Post J.J., Wurbs D., Wahler D., Lenders M., Krzyzanek V. Prüfer D., Gronover S.C. Down-regulation of small rubber particle protein expression affects integrity of rubber particles and rubber content in *Taraxacum brevicorniculatum*. // PLoS One. – 2012. – №7. – P. e41874.
- 18 Cornish K., Castillón J., Scott D.J. Rubber molecular weight regulation, in vitro, in plant species that produce high and low molecular weights in vivo. // Biomacromolecules. – 2000. – №1. – P. 632–641.
- 19 Collins-Silva J., Nural A.T., Skaggs A., Scott D., Hathwaik U., Woolsey R., Schegg K., McMahan C., Whalen M., Cornish, K., Shintani D. Altered levels of the *Taraxacum kok-saghyz* (Russian dandelion) small rubber particle protein, TkSRPP3, result in qualitative and quantitative changes in rubber metabolism // Phytochemistry. – 2012. – №79. – P. 46–56.
- 20 Asawatreratanakul K., Zhang Y.-W., Wititsuwannakul D., Wititsuwannakul R., Takahashi S., Rattanapittayaporn A., Koyama T. Molecular cloning, expression and characterization of cDNA encoding cisprenyltransferases from *Hevea brasiliensis*. A key factor participating in natural rubber biosynthesis // Eur. J. Biochem. – 2003. – №270. – P. 4671–4680.
- 21 Post J., van Deenen N., Fricke J., Kowalski N., Wurbs D., Schaller H., Eizenreich W., Huber C., Twyman R.M., Prüfer D., Gronover S.C. Laticifer-specific cis-prenyltransferase silencing affects the rubber, triterpene, and inulin content of *Taraxacum brevicorniculatum* // Plant Physiol. – 2012. – №158. – P. 1406–1417.
- 22 Kirschner J., Štěpánek J., Černý T., De Heer P., van Dijk P.J. Available ex situ germplasm of the potential rubber crop *Taraxacum koksaghyz* belongs to a poor rubber producer, *T. brevicorniculatum* (Compositae-Crepidinae). Genet Resour // Crop. Evol. – 2012. – DOI: 10.1007/s10722-012-9848-0.
- 23 Oh S.K., Kang H., Shin D.H., Yang J., Chow K.-S., Hoong Yeet Yeang H.Y., Wagner B., Breiteneder H., Kyung-Hwan Han K.H. Isolation, Characterization, and Functional Analysis of a Novel cDNA Clone Encoding a Small Rubber Particle Protein from *Hevea brasiliensis*. // J. Biol. Chem. – 1999. – № 274. – P. 17132–17138.
- 24 Kim I.J., Ryu S.B., Kwak Y.S., Kang H. A novel cDNA from *Parthenium argentatum* Gray enhances the rubber biosynthetic activity in vitro. // J. Exp. Bot. – 2004. – № 55. – P. 377–385.
- 25 Post J., van Deenen N., Fricke J., Kowalski N., Wurbs D., Schaller H., Eizenreich W., Huber C., Twyman R.M., Prüfer D., Gronover S.C. Laticifer-specific cis-prenyltransferase silencing affects the rubber, triterpene, and inulin content of *Taraxacum brevicorniculatum*. // Plant Physiol. – 2012. – №158. – P. 1406–1417.
- 26 Schmidt T., Lenders M., Hillebrand A., van Deenen N., Munt O., Reichelt R. Eizenreich W., Fisher R., Prüfer D., Gronover S.C. Characterization of rubber particles and rubber chain elongation in *Taraxacum koksaghyz* // BMC Biochem. – 2010. – №11. – P. 11.
- 27 Boguspaev K.K., Turasheva S.K., Faleev D.G., Amangul, Aksambaeva A.S. Introduction of wild rubber plants *Tau-saghyz* (*Scorzonera tau-saghyz*) in vitro culture. // VII International Congress Biotechnology: State of the Art and Prospects of Development. – Moscow, 2013. – P. 111.
- 28 Dennis M.S., Light D.R. Rubber elongation factor from *Hevea brasiliensis* // J. Biol. Chem. – 1989. – № 264. – P. 18608–1861.
- 29 Oh S.K., Kang H., Shin D.H., Yang J., Chow K.-S., Hoong Yeet Yeang H.Y., Wagner B., Breiteneder H., Kyung-Hwan Han K.H. Isolation, Characterization, and Functional Analysis of a Novel cDNA Clone Encoding a Small Rubber Particle Protein from *Hevea brasiliensis*. // J. Biol. Chem. – 1999. – № 274. – P. 17132–17138.
- 30 Kim I.J., Ryu S.B., Kwak Y.S., Kang H. A novel cDNA from *Parthenium argentatum* Gray enhances the rubber biosynthetic activity in vitro. // J. Exp. Bot. – 2004. – № 55. – P. 377–385.
- 31 Post J., van Deenen N., Fricke J., Kowalski N., Wurbs D., Schaller H., Eizenreich W., Huber C., Twyman R.M., Prüfer D., Gronover S.C. Laticifer-specific cis-prenyltransferase silencing affects the rubber, triterpene, and inulin content of *Taraxacum brevicorniculatum*. // Plant Physiol. – 2012. – №158. – P. 1406–1417.
- 32 Rounsley S.D., Last R.L. Shotguns and SNPs: how fast and cheap sequencing is revolutionizing plant biology. // Plant J. – 2010. – №61. – P. 922–927.
- 33 Portnoy V., Diber A., Pollock S., Karchi H., Lev S., Tzuri G., Harel-Beja R., Forer R., Portnoy V.H., Lewinsohn E., Tadmor Y., Burger J., Schaffer A., Karzir N. Use of non-normalized, non-amplified cDNA for 454-based RNA sequencing of fleshy melon fruit. // Plant Gen. – 2011. – №4. – P. 36–46.

References

- 1 Pavlov I.V. Rastitel'nye resursy Juzhnogo Kazahstana. – M.: Moskovskoe obshchestvo ispytatelej prirody, 1947. – 128 s.
- 2 Kul'tiasov M.V. Tau-sagyz i vvedenie ego v kul'turu. – L.: Izda-tel'stvo Akademii nauk SSSR, 1938 – 315 s.
- 3 Gelling K. On the Rebound. Scientists revive search for new rubber sources // Science News. – 2013. – №9. – R. 67-71.

- 4 van Beilen JB, Poirier Y. Establishment of new crops for the production of natural rubber. // Trends Biotechnol. – 2007. – №25. – R. 522-529.
- 5 Mooibroek, H., Cornish, K., Alternative sources of natural rubber.// Appl. Microbiol. Biotechnol. – 2000. – №53. – R. 355–365.
- 6 Bushman B.S., Scholte A.A., Cornish K., Scott D.J., Brichta J.L., Vederas J.C., Ochoa O., Michelmore R.W., Shintani D.K., Knapp S.J. Identification and comparison of natural rubber from two *Lactuca* species. // Phytochemistry. – 2006. – №67 (23). – R. 2590–2596.
- 7 Wasano N., Konno K., Nakamura M., Hirayama C., Hattori M., Tateishi K. A unique latex protein, MLX56, defends mulberry trees from insects. // Phytochemistry. – 2009. – №70. – R. 880–888.
- 8 Gomez J.B., Hamzah S. Particle size distribution in Hevea latex – some observations on the electron microscopic method. // J. Nat. Rubber. Res. – 1989. – №4. – R. 204-211.
- 9 Cornish K. Similarities and differences in rubber biochemistry among plant species. // Phytochemistry. – 2001. – №57. – R. 1123–1134.
- 10 Wood D.F., Cornish K. Microstructure of purified rubber particles. Int. //J. Plant Sci. – 2000. – №161. – R. 435–445.
- 11 Siler D.J., Goodrich-Tanrikulu M., Cornish K., Stafford A.E., McKeon T.A. Composition of rubber particles of *Hevea brasiliensis*, *Parthenium argentatum*, *Ficus elastica*, and *Euphorbia lactiflua* indicates unconventional surface structure // Plant Physiol. Biochem. – 1997. – №35. – R. 881–889.
- 12 Cornish K. The separate roles of plant cis and trans prenyl transferases in cis-1, 4-polyisoprene biosynthesis. // Eur. J. Biochem. – 1993. – №218. – R. 267–271.
- 13 Tang C, Xiao X, Li H, Fan Y, Yang J, Qi J, Li H. Comparative Analysis of Latex Transcriptome Reveals Putative Molecular Mechanisms Underlying Super Productivity of *Hevea brasiliensis* // PLoS ONE. – 2013. – №8(9), doi:10.1371. – R. e75307.
- 14 Chow K.S., Isa M.N., Bahari A., Ghazali A.K., Alias H., Zainuddin Z.M., Hoh C.C., Wan K.L. Metabolic routes affecting rubber biosynthesis in *Hevea brasiliensis* latex // J. Exp. Bot. – 2012. – №58. – R. 2429–2440.
- 15 Rojruthai P., Sakdapipanich J.T., Takahashi S., Hyegin L., Noike M., Koyama T., Tanaka Y. In vitro synthesis of high molecular weight rubber by *Hevea* small rubber particles. //J. Biosci. Bioeng. – 2010. – №109. – R. 107–114.
- 16 Schmidt T., Lenders M., Hillebrand A., van Deenen N., Munt O., Reichelt R. Eizenreich W., Fisher R., Prüfer D., Gronover S.C. Characterization of rubber particles and rubber chain elongation in *Taraxacum koksaghyz* // BMC Biochem. – 2010. – №11. – R. 11.
- 17 Hillebrand A., Post J.J., Wurbs D., Wahler D., Lenders M., Krzyzanek V. Prüfer D., Gronover S.C. Down-regulation of small rubber particle protein expression affects integrity of rubber particles and rubber content in *Taraxacum brevicorniculatum*. // PLoS One. – 2012. – №7. – R. e41874.
- 18 Cornish K., Castillón J., Scott D.J. Rubber molecular weight regulation, in vitro, in plant species that produce high and low molecular weights in vivo. // Biomacromolecules. – 2000. – №1. – R. 632–641.
- 19 Collins-Silva J., Nural A.T., Skaggs A., Scott D., Hathwaik U., Woolsey R., Schegg K., McMahan C., Whalen M., Cornish K., Shintani D. Altered levels of the *Taraxacum kok-saghyz* (Russian dandelion) small rubber particle protein, TksRPP3, result in qualitative and quantitative changes in rubber metabolism // Phytochemistry. – 2012. – №79. – R. 46–56.
- 20 Asawatreratanakul K., Zhang Y.-W., Wititsuwannakul D., Wititsuwannakul R., Takahashi S., Rattanapittayaporn A., Koyama T. Molecular cloning, expression and characterization of cDNA encoding cisprenyltransferases from *Hevea brasiliensis*. A key factor participating in natural rubber biosynthesis // Eur. J. Biochem. – 2003. – №270. – R. 4671–4680.
- 21 Post J., van Deenen N., Fricke J., Kowalski N., Wurbs D., Schaller H., Eizenreich W., Huber C., Twyman R.M., Prüfer D., Gronover S.C. Laticifer-specific cis-prenyltransferase silencing affects the rubber, triterpene, and inulin content of *Taraxacum brevicorniculatum* // Plant Physiol. – 2012. – №158. – R. 1406–1417.
- 22 Kirschner J., Štěpánek J., Černý T., De Heer P., van Dijk P.J. Available ex situ germplasm of the potential rubber crop *Taraxacum koksaghyz* belongs to a poor rubber producer, *T. brevicorniculatum* (Compositae-Crepidinae). Genet Resour // Crop. Evol. – 2012. – DOI: 10.1007/s10722-012-9848-0.
- 23 Oh S.K., Kang H., Shin D.H., Yang J., Chow K.-S., Hoong Yeet Yeang H.Y., Wagner B., Breiteneder H., Kyung-Hwan Han K.H. Isolation, Characterization, and Functional Analysis of a Novel cDNA Clone Encoding a Small Rubber Particle Protein from *Hevea brasiliensis*. //J. Biol. Chem. – 1999. – № 274. – R. 17132–17138.
- 24 Kim I.J., Ryu S.B., Kwak Y.S., Kang H. A novel cDNA from *Parthenium argentatum* Gray enhances the rubber biosynthetic activity in vitro. // J. Exp. Bot. – 2004. – № 55. – R. 377–385.
- 25 Post J., van Deenen N., Fricke J., Kowalski N., Wurbs D., Schaller H., Eizenreich W., Huber C., Twyman R.M., Prüfer D., Gronover S.C. Laticifer-specific cis-prenyltransferase silencing affects the rubber, triterpene, and inulin content of *Taraxacum brevicorniculatum*.// Plant Physiol. – 2012. – №158. – R. 1406–1417.
- 26 Schmidt T., Lenders M., Hillebrand A., van Deenen N., Munt O., Reichelt R. Eizenreich W., Fisher R., Prüfer D., Gronover S.C. Characterization of rubber particles and rubber chain elongation in *Taraxacum koksaghyz* // BMC Biochem. – 2010. – №11. – R. 11.
- 27 Boguspaev K.K., Turasheva S.K., Faleev D.G., Amangul, Aksambaeva A.S. Introduction of wild rubber plants *Tau-saghyz* (*Scorzonera tau-saghyz*) in vitro culture. // VII International Congress Biotechnology: State of the Art and Prospects of Development. – Moscow, 2013. – P. 111.
- 28 Dennis M.S., Light D.R. Rubber elongation factor from *Hevea brasiliensis* // J. Biol. Chem. – 1989. – № 264. – R. 18608–1861.

29 Oh S.K., Kang H., Shin D.H., Yang J., Chow K.-S., Hoong Yeet Yeang H.Y., Wagner B., Breiteneder H., Kyung-Hwan Han K.H. Isolation, Characterization, and Functional Analysis of a Novel cDNA Clone Encoding a Small Rubber Particle Protein from *Hevea brasiliensis*. // *J. Biol. Chem.* – 1999. – № 274. – R. 17132–17138.

30 Kim I.J., Ryu S.B., Kwak Y.S., Kang H. A novel cDNA from *Parthenium argentatum* Gray enhances the rubber biosynthetic activity in vitro. // *J. Exp. Bot.* – 2004. – № 55. – R. 377–385.

31 Post J., van Deenen N., Fricke J., Kowalski N., Wurbs D., Schaller H., Eizenreich W., Huber C., Twyman R.M., Prüfer D., Gronover S.C. Laticifer-specific cis-prenyltransferase silencing affects the rubber, triterpene, and inulin content of *Taraxacum officinale*. // *Plant Physiol.* – 2012. – №158. – R. 1406–1417.

32 Rounsley S.D., Last R.L. Shotguns and SNPs: how fast and cheap sequencing is revolutionizing plant biology. // *Plant J.* – 2010. – №61. – R. 922-927.

33 Portnoy V., Diber A., Pollock S., Karchi H., Lev S., Tzuri G., Harel-Beja R., Forer R., Portnoy V.H., Lewinsohn E., Tadmor Y., Burger J., Schaffer A., Karzir N. Use of non-normalized, non-amplified cDNA for 454-based RNA sequencing of fleshy melon fruit. // *Plant Gen.* – 2011. – №4. – R. 36-46.