

**Л.С. Абеуова^{1,2}, Б.Р. Қали^{1,2}, А.О. Рахимжанова¹,
С.С. Беккужина¹, Ш.А. Манабаева^{1,2}**

¹Национальный центр биотехнологии КН МОН РК, Казахстан, г. Нур-Султан

²Евразийский национальный университет имени Л.Н. Гумилева, Казахстан, г. Нур-Султан,
e-mail: laura.ols91@mail.ru, manabayeva@biocenter.kz

ОСОБЕННОСТИ ПРЯМОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ ОТЕЧЕСТВЕННЫХ СОРТОВ КАРТОФЕЛЯ В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO*

В мировом производстве продукции растениеводства картофель занимает четвертое место после пшеницы, риса и кукурузы. В связи с пищевой ценностью данной культуры необходимо применять современные методы биотехнологии, в частности, редактирования генома данной культуры. В связи с чем эффективная система прямой регенерации *in vitro* является важным этапом для дальнейшего успешного использования данной технологии.

В результате экспериментов подобраны оптимальные питательные среды для получения прямой регенерации из отечественных сортов. Из восьми вариантов сред с различными комбинациями и концентрациями фитогормонов выявлена наиболее эффективная среда, содержащая 1,0 мг/л зеатина, 7 мг/л гибберелловой кислоты и 0,1 мг/л ИУК. Из всех сортов получены растения-регенеранты. Наибольшей регенерационной способностью обладали стеблевые экспланты по сравнению с листовыми. Количество микропобегов из одного экспланта варьировало от 1 до 25 в зависимости от сорта и варианта питательной среды для прямой регенерации. Таким образом, сорта картофеля казахстанской селекции обладали более высокой способностью к прямому органогенезу, образуя множество побегов на один эксплант.

Ключевые слова: прямая регенерация, картофель, отечественные сорта, регенерант, *in vitro*.

L.S. Abeuova^{1,2}, B.R. Kali^{1,2}, A.O. Rakhimzhanova¹,
S.S. Bekkuzhina¹, Sh.A. Manabayeva^{1,2}

¹National center for biotechnology, Kazakhstan, Nur-Sultan

²L.N. Gumilyov Eurasian National University, Kazakhstan, Nur-Sultan,
e-mail: laura.ols91@mail.ru, manabayeva@biocenter.kz

Direct regeneration features of local potato cultivars *in vitro* culture

Potatoes are in fourth place in global crop production, after wheat, rice and corn. In connection with the nutritional value of this crop it is necessary to apply modern methods of biotechnology, in particular, editing the genome of this crop. For this, an effective system of *in vitro* direct regeneration is an important step for further successful use of this technology.

As a result of experiments, optimal culture media have been selected to obtain direct regeneration from local potato cultivars. The most effective medium containing 1.0 mg/l zeatin, 7 mg/l gibberellic acid and 0.1 mg/l IAA was identified from eight media variants with different combinations and concentrations of phytohormones. Regenerate plants were obtained from all varieties. Stem explants had the highest regenerative capacity as compared to leaf explants. The number of micro shoots from one explant varied from 1 to 25 depending on the variety and variant of culture medium for direct regeneration. Thus, the Kazakh potato cultivars possessed higher ability to direct organogenesis, forming many shoots on one explant.

Key words: direct regeneration, potato, domestic cultivars, regenerant, *in vitro*.

Л.С. Абеуова^{1,2}, Б.Р. Қали^{1,2}, А.Ө. Рахимжанова¹,
С.С. Беккужина¹, Ш.А. Манабаева^{1,2}

¹Ұлттық биотехнология орталығы ҒК БҒМ ҚР, Қазақстан, Нұр-Сұлтан қ.

²Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, Қазақстан, Нұр-Сұлтан қ.,
e-mail: laura.ols91@mail.ru, manabayeva@biocenter.kz

Отандық картоп сұрыптарының *in vitro* культурасындағы тікелей регенерация ерекшеліктері

Дүниежүзілік өсімдік шаруашылығы өндірісінде картоп бидай, күріш және жүгеріден кейін төртінші орынды алады. Картоп дақылы аса жоғары тағамдық құндылыққа ие болғандықтан, биотехнологияның заманауи әдістерін, атап айтқанда, картоп геномын редактірлеуді талап етеді. Сондықтан, *in vitro* тікелей регенерацияның тиімді жүйесі осы технологияны одан әрі сәтті қолдану үшін маңызды қадам болып табылады.

Тәжірибелер нәтижесінде отандық сұрыптардан тікелей регенерация үшін оңтайлы қоректік орта таңдалды. Фитогормондардың әртүрлі комбинациясы мен концентрациясы бар ортаның сегіз нұсқасының ішінен 1,0 мг/л зеатин, 7 мг/л гиббереллин қышқылы және 0,1 мг/л индолилсірке қышқылы бар ең тиімді орта анықталды. Регенерантты өсімдіктер барлық сұрыптардан алынды. Регенерациялық жиілік жапырақ экспланттарымен салыстырғанда сабақтарда жоғары көрсеткішті көрсетті. Тура регенерациялауға арналған қоректік ортаның нұсқасына және сұрыптарға байланысты бір экспланттағы кіші өркендер саны 1-ден 25-ке дейін өзгерді. Осыған орай, отандық селекция сұрыптарының тікелей органогенезге жоғары қабілеттілігі анықталды.

Түйін сөздер: тікелей регенерация, картоп, отандық сұрыптар, регенерант, *in vitro*.

Введение

Картофель принадлежит к числу важнейших сельскохозяйственных культур. В мировом производстве продукции растениеводства картофель занимает четвертое место, после пшеницы, риса и кукурузы [1]. Среднее потребление картофеля на душу населения в Казахстане составляет 120–130 кг в год на человека, т.е. картофель для казахстанцев по-прежнему является «вторым хлебом». В настоящее время картофель в нашей стране возделывается на площади 180–190 тыс.га, урожайность картофеля в среднем по республике составляет 161,8 ц/га. Прогнозный валовой сбор картофеля в среднем составляет порядка 3,7 млн тонн в год [2]. Используется как важнейшая продовольственная, техническая и кормовая культура, также на картофелепродукты, основными из которых являются чипсы, картофель-фри, пюре и другие. На долю которой приходится около 20% посевных площадей в мире и примерно 15% мировой продукции [3, 4].

С помощью современных методов генетической инженерии можно создать новые формы растений, улучшая ценные признаки и агрономические качества, которые ограничены генетическими особенностями данного вида. Важным условием использования методов генетической инженерии растений в селекционных программах служит разработка простых и эффективных методов регенерации растений из культивируе-

мых *in vitro* тканей и клеток. Известно, что технологии *in vitro* и методы генетической инженерии растений имеют ряд преимуществ перед традиционными методами селекции. Однако есть немало сложностей при индукции морфогенеза у картофеля в культуре *in vitro*, которые определяются генетическими особенностями сорта, возрастом растения, выбором экспланта, компонентами питательной среды, соотношением ростовых гормонов и условиями культивирования. В связи с выше сказанным является важным моментом изучение особенностей каллусогенеза и регенерации различных генотипов картофеля в зависимости от типа выбранного экспланта, состава питательной среды и фитогормонов. Регенерационная способность растений зависит от многих факторов: от состава питательной среды, подбора оптимальных соотношений регуляторов роста (цитокинины и ауксины); от типа экспланта (стеблевые, листовые, корневые) а также от источника углеводов. При этом генотип картофеля является решающим фактором успеха в культуре *in vitro*. У сортов культурного вида картофеля *S. tuberosum* L. получены растения-регенеранты практически из всех органов: из черешков листа [5], листовых пластинок [6], стеблевых эксплантов [7], клубневых дисков [8], протопластов [9, 10].

Конечная цель данных экспериментальных исследований является разработка технологии редактирования генома для коммерческих от-

еественных сортов картофеля, где определение наиболее оптимального способа регенерации побегов из разных эксплантов решает эффективность поставленных задач.

Таким образом, в данной статье обсуждается регенерационная способность эксплантов разных сортов картофеля.

Материалы и методы

В качестве объектов исследований использовали четыре сорта картофеля отечественной селекции – Астаналык, Памятник Кунаева, Тохтар и Аксор. Сорт Аксор – выведен в Казахском НИИ картофелеводства и овощеводства. Получен методом ступенчатой, внутривидовой гибридизации. Включен в Государственный реестр селекционных достижений РК в 1998г. Сорт Тохтар – среднеранний, высокоурожайный, с высокой полевой устойчивостью к вирусным и грибным болезням. Относительно жаростоек и засухоустойчив. Сорт Астаналык – соматоклон сорта Карасайский, высокоустойчив к сухой фузариозной гнили и вирусным болезням. Сорта Тохтар и Аксор – устойчивые к вирусным болезням и

жарким почвенноклиматическим условиям, районированы в Южном Казахстане.

В качестве базовой питательной среды для прямой регенерации картофеля использовали среду Мурасиге-Скуга [11] и МСВ (МС соли с витаминами МС). Для культуры вегетативных органов картофеля использованы ауксины, такие как β -индолил-3-уксусной кислоты (ИУК), α -нафтил-1-уксусная кислота (НУК); цитокинины, такие как кинетин, 6-бензиламинопурин (БАП), зеатин и гибберелловая кислота в различных концентрациях и комбинациях. В качестве источника углеводов использовали сахарозу – 20 и 30 г/л.

В наших экспериментах варианты питательных сред для прямой регенерации (ПР) обозначили от I до VIII. Варианты экспериментов по повышению эффективности регенерации картофеля, изученные на 8 вариантах питательных сред на основе МС с витаминами и комбинациями фитогормонов зеатина (0,5 мг/л, 1,0 мг/л и 2,0 мг/л), гибберелловой кислоты (0,1 мг/л, 1,0 мг/л, 3,0 мг/л, 5,0 мг/л, 7,0 мг/л), БАП (1,0 мг/л и 2,0 мг/л), НУК (0,05 мг/л, 0,1 и 0,2 мг/л) и ИУК 0,1 мг/л показаны в таблице 1.

Таблица 1 – Комбинации фитогормонов в питательной среде МС для индукции прямой регенерации

МС +	ПР-I	ПР-I	ПР-III	ПР-IV	ПР-V	ПР-VI	ПР-VII	ПР-VIII
Зеатин	0,5	1,0	2			2,0	2,0	1,0
ГКЗ	3,0	5,0	7	1,0	1,0	0,1	0,1	7,0
6-БАП				1,0	2,0			
НУК	0,5	0,1	0,2			0,1		
ИУК							0,1	0,1

Примечание: МС+ – среда Мурасиге-Скуга с витаминами МС, ПР – Прямая регенерация, ГКЗ – гибберелловая кислота, 6-БАП – 6-бензиламинопурин, НУК – α -нафтил-1-уксусная кислота, ИУК – β -индолил-3-уксусной кислоты.

Эксперименты по культивированию картофеля проводили по общепринятой методике [12]. Питательные среды предварительно автоклавировали («MELAtronic 23 EN», Германия) в течение 40 мин (давление – 1,0 атм, температура – 121°C) доводили pH питательной среды до значения 5,6 – 5,8 с помощью 1 М NaOH. Регуляторы роста и витамины стерилизовали фильтрованием с помощью фильтрующих насадок («ГРР», Швейцария, диаметр пор 0,22 мкм) и добавляли в остывшую среду. Сегменты листьев и стеблей культивировали на агаризованной питательной среде МС, содержащей различные комбинации и концентрации ростовых регуляторов. В качестве

источника желирующего агента использовали фитогель в количестве 2 г/л. Экспланты культивировали в асептических условиях на свету при температуре 26-28°C и 16-часовом фотопериоде. Стебли и листья разрезали, делая поранения со всех сторон, затем пораненной стороной раскладывали на чашки Петри по вариантам сред, и через каждые две недели ткани пассировали. Побегообразующие экспланты пересаживали в широкие пробирки с крышками, затем в мадженты-боксы в асептических условиях.

Полученные результаты исследований анализировали, используя компьютерную программу Microsoft Excel.

Результаты и обсуждение

Известно, что подбор питательной среды является одним из важных элементов повышения частоты выхода морфогенных структур и регенерации. Для культивирования растений *in vitro* создавали специальные условия с целью получения целого растения из эксплантов картофеля. Необходимым компонентом питательной среды являются витамины и фитогормоны – соединения, которые участвуют в регуляции физиологических процессов у растений. Известны три класса фитогормонов, действующих преимущественно как стимуляторы роста, это – ауксины, цитокинины и гиббереллины. Фитогормоны в культуре изолированных тканей необходимы для дедифференцировки клеток и индукции клеточных делений. Согласно теории гормональной регуляции, направление морфогенеза контролируется соотношением концентрации экзогенных фитогормонов в среде, в основном ауксинов и цитокининов. Высокое содержание цитокининов по отношению к ауксинам способствует образованию побегов. Например, добавление в питательную среду зеатина является наиболее эффективным для прямой регенерации [13]. Известны определенная роль гибберелловой кислоты.

По результатам экспериментальных данных выявлено, что использованные питательные среды индуцировали побегообразование, но при этом необходимо отметить сортовую специфику ответа отзывчивости на условия культивирования. Результаты показали, что стеблевые экспланты всех сортов индуцировали побеги на всех испытываемых средах, отличающиеся различными комбинациями и концентрациями ростовых веществ. В данной серии экспериментов определена эффективная среда для прямой регенерации побегов, как ПР-VIII с добавлением 0,1 мг / л IAA, 1,0 мг / л зеатина и 7,0 мг / л ГКЗ, где сорт Астаналык дал наибольшую индукцию побегов (90,0%) из стеблевых эксплантов, затем Аксор (87,5%) и Тохтар (70,0%). Кроме того, на данной среде листовые экспланты сортов Аксор и Тохтар дали лучшие результаты, индуцируя 67,5% и 30,0% побегов (рисунок 1). Наши результаты согласуются с данными литературных источников, где продемонстрировано, что GA3 является одним из важных растительных гормонов, обладающих способностью вызывать ряд ответных

реакций растений, включая прямую регенерацию побегов [14, 15], а также известно, что сочетание ауксинов и цитокининов в присутствии GA3 усиливает регенерацию побегов [16, 17].

Интересно отметить и результаты, полученные при сочетании гормонов НУК, зеатин и ГКЗ в различных концентрациях, в частности, на средах ПР-I, II и III стеблевые экспланты всех изучаемых сортов проявили способность к побегообразованию. Ранее сообщалось, что среда с комбинацией гормонов БАП и ГКЗ вызывает побегообразование с частотой 94,1% у сорта картофеля Kufri Jyoti [18]. Однако, в наших экспериментах данные комбинации фитогормонов дали не самые лучшие результаты, например, у сортов Памятник Кунаева и Астаналык.

Таким образом, для прямой регенерации побегов из отечественных сортов картофеля комбинации фитогормонов зеатин и ГКЗ с ИУК и НУК оказались более эффективными, чем комбинация БАП и ГКЗ.

При визуальной оценке побегообразующей способности эксплантов картофеля также наблюдали сортовые различия. Например, сорта Тохтар и Аксор формировали плотные, твердые каллусы зелено-коричневого цвета с обеих сторон стеблевых и листовых эксплантов после 12-13 дней первого пассажа (рисунок 2 – б и г). У сортов Астаналык и Памятник Кунаева наблюдались рыхлые каллусы желто-зеленого цвета у стеблевых эксплантов на 17-24 день (рисунок 2 – а и в).

Известно, что существуют генотипические различия картофеля по частоте образования микропобегов. Результаты наших экспериментов показывают, что данный показатель зависит от типов экспланта. Стеблевые экспланты образовывали микропобеги большей степени чем листовые экспланты, но в то же время сорт Аксор проявил способность к прямой регенерации как из стеблевых, так и из листовых эксплантов (рисунок 3).

Из всех сортов получены растений-регенеранты. Количество микропобегов из одного экспланта варьировала от 1 до 25 в зависимости от сорта и варианта питательной среды для прямой регенерации. Сорта Аксор, Тохтар и Астаналык обладали более высокой способностью к прямому органогенезу, образуя множество побегов на один эксплант. (таблица 2).

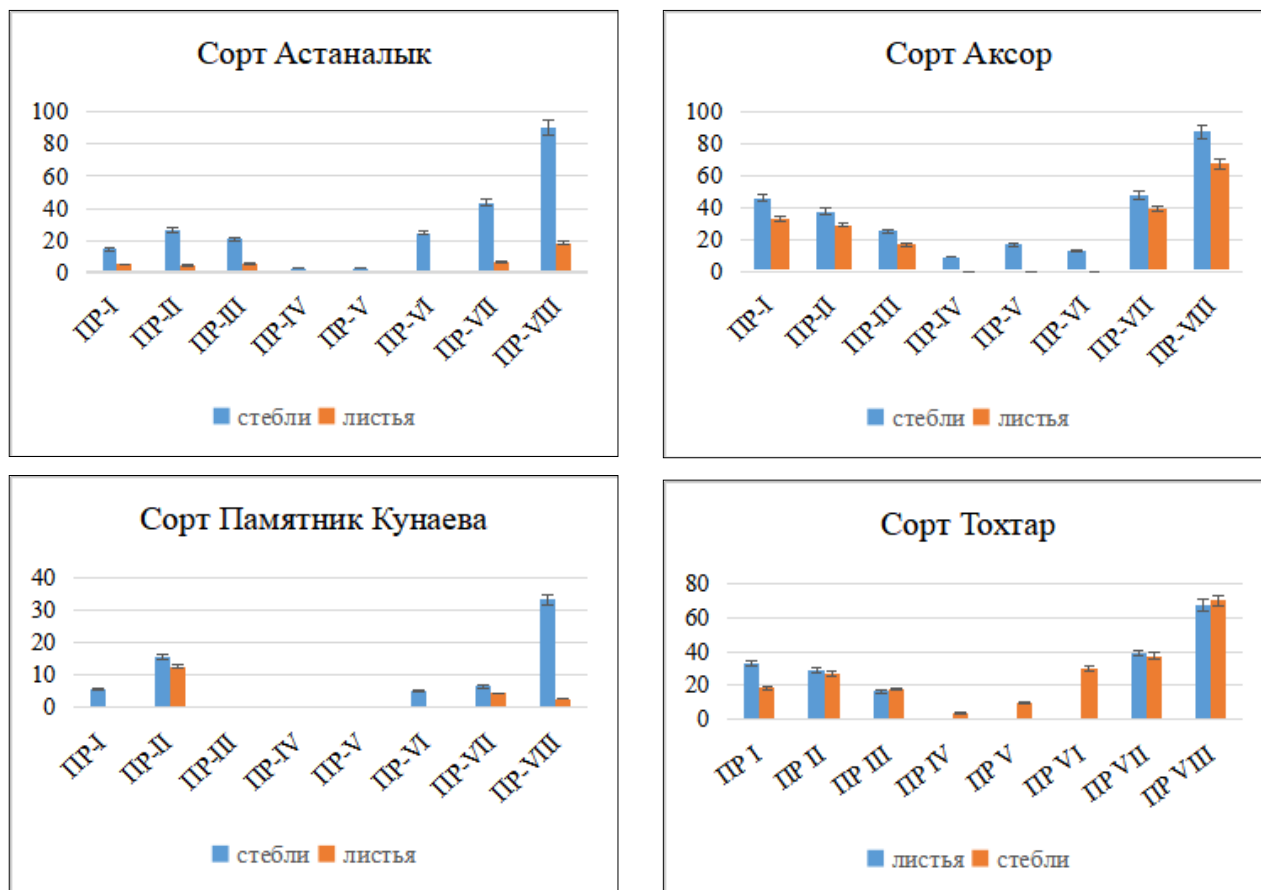


Рисунок 1 – Частота регенерации стеблевых и листовых эксплантов у отечественных сортов картофеля на разных вариантах сред (%); А – сорт Астаналык, Б – сорт Аксор, В – сорт Тохтар и Г – сорт Памятник Кунаева

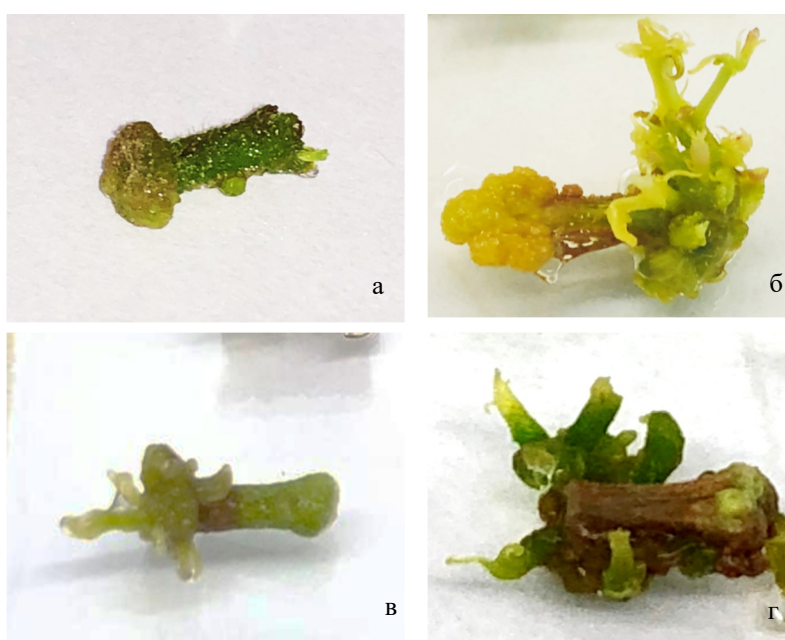


Рисунок 2 – Процесс образования микропобегов на стеблевых эксплантах картофеля: а – Памятник Кунаева, б – Аксор, в – Астаналык, г – Тохтар.

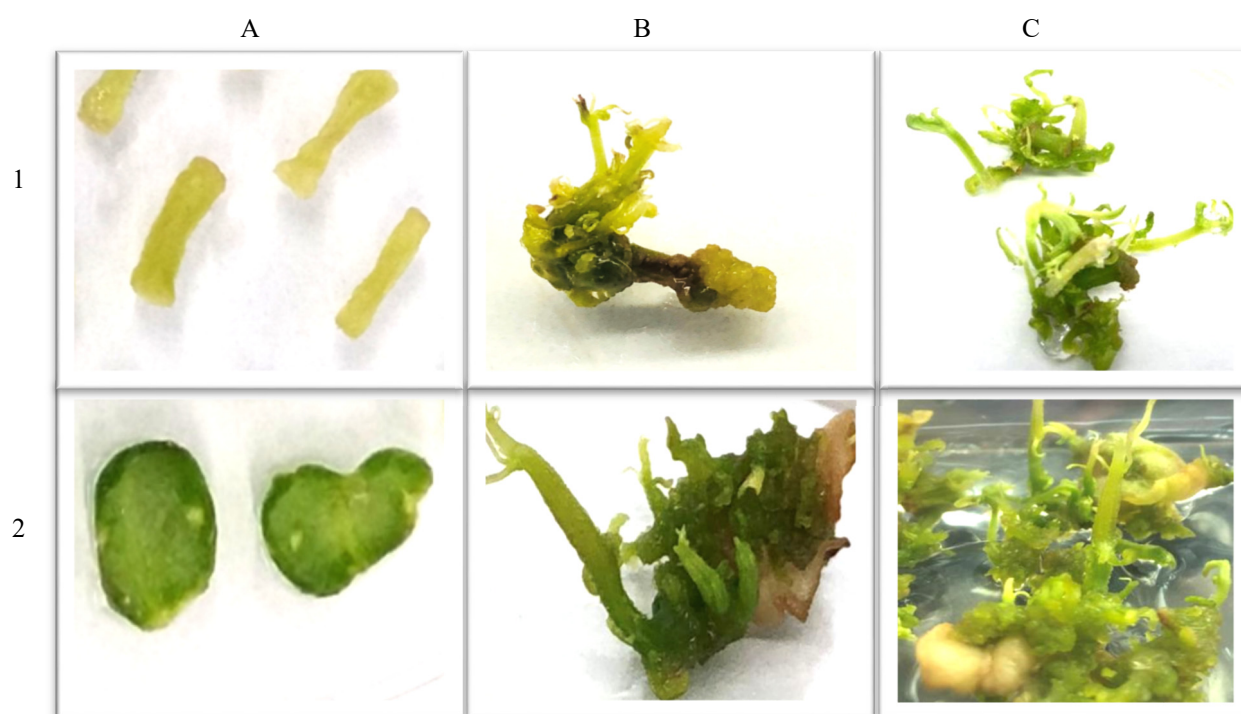


Рисунок 3 – Прямая регенерация разных эксплантов картофеля сорта Аксор:
 1 – прямая регенерация из сегментов стебля. 2 – прямая регенерация из листьев.
 А – 2-х недельные экспланты; В – 4- недельные экспланты;
 С – 6-недельные экспланты с микропобегами

Таблица 2 – Среднее число побегов (шт) на один эксплантов картофеля отечественных сортов на разных питательных средах

Вариант питательной среды	Сорт/тип эксплантов							
	Аксор		Астаналык		Тохтар		Памятник Кунаева	
	стебл.	лист.	стебл.	лист.	стебл.	лист.	стебл.	лист.
ПР-I	6,45±1,45	6,2±1,36	4,3±1,13	2,5±0,43	5,8±1,63	4,0±1,44	1,0±0,2	0,0±0,0
ПР-II	5,1±0,65	3,33±1,51	2,5±0,44	1,5±0,06	6,25±1,56	2,3±1,07	1,0±0,3	1,0±0,21
ПР-III	6,4±1,35	4,75±1,25	3,5±1,02	2,7±0,98	3,5±1,51	3,33±1,1	0	0
ПР-IV	8,3±1,72	0	4,5±1,3	0	1,0±0,03	0	0	0
ПР-V	6,5±1,32	0	2,0±0,26	0	9,0±1,41	0	0	0
ПР-VI	4,85±1,43	0	3,0±1,33	0	6,0±1,70	1,5±0,71	1,0±0,2	0
ПР-VII	5,5±2,05	4,3±0,92	2,2±0,78	2,0±0,34	5,5±1,16	4,5±1,62	2,0±1,1	1,5±0,9
ПР-VIII	10,0±2,91	8,0±1,98	6,2±1,43	2,5±0,91	9,0±2,14	6,0±1,72	3,0±1,4	2,5±1,02

И так, показатели прямой регенерации варьировали от 1 до 10 побегов на эксплант, при этом наилучший результат достигнут на среде ПР-VIII, содержащей IAA, зеатин и ГКЗ в концентрациях 0,1, 1,0 и 7,0 мг/л соответственно.

Заключение

В данной статье проведен поиск эффективных культуральных условий, включая подбор комбинации и концентрации различных ростовых регуляторов, также типов экспланта для прямой регенерации картофеля.

Стеблевые эксплантаты показали более высокий регенерационный потенциал, чем листовые экспланты. Сорт Астаналык отличился способностью индуцировать побеги из стеблевых эксплантов (90,0%). Несмотря на то что многочисленные результаты исследования акцентируют внимание на высокие способности

стеблевых эксплантов индуцировать прямой органогенез, необходимо отметить важность индуцирования процесса регенерации из листовых эксплантов. Эффективность получения растений-регенерантов из листовых эксплантов имеет актуальность при получении регенератов из протопластов. Регенерация растений из протопластов снижает риск множества проявлений соматической изменчивости. Полученные нами данные, подтверждающие возможность индукции прямой регенерации из листовых эксплантов является положительным результатом проведенных экспериментальных исследований.

Таким образом, отбор высокоэффективных сортов в культуре *in vitro* и оптимизирование условий культивирования будут использоваться для применения новой технологии геномного редактирования для улучшения хозяйственно-ценных признаков культуры картофеля.

Литература

- 1 Программа по развитию АПК в РК на 2013 – 2020 г. «Агробизнес– 2020». – Астана, 2012.
- 2 <https://inbusiness.kz/ru/last/pereproizvodstvo-kartofelya-zhdet-kazahstan>
- 3 Шпаар Д. Картофель // Торжок. ООО «ЛВД Агродело». – 2010. – С. 474.
- 4 Граскова И. А., Кузнецов Е.В., Живетьев М.А., Чекуров В.М., Войников В.К. Детекция влияния обработки аналогами препарата «Силк» растений картофеля в полевых условиях // *Journal of Stress Physiology & Biochemistry*. – 2009. – Т. 5, № 1-2. – С. 39-44.
- 5 Yee S., Stevens B., Coleman S., Seabrook JEA, Li X.Q. High efficiency regeneration *in vitro* from potato petioles with intact leaflets // *Am J Potato Res.* – 2001. – Vol 78. – P. 151–157.
- 6 Yadav NR, Sticklen MB. Direct and efficient plant regeneration from leaf explants of *Solanum tuberosum* L. cv. Bintje // *Plant Cell Reports*. – 1995. – Vol. 14. – P. 645-647.
- 7 Kaur A.M., Reddy S., Kumar A. Efficient, one step and cultivar independent shoot organogenesis of potato // *Physiol. Mol. Biol. Plants*. – 2017. – Vol. 23. – P. 461-469.
- 8 Javier Narváez-Vásquez, Clarence A Ryan. The system in precursor gene regulates both defensive and developmental genes in *Solanum tuberosum* // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2002. – Vol. 23-99, No. 24. – P.15818-15821.
- 9 Ehsanpour A.A., Michael G.K. Jones. Evaluation of direct shoot regeneration from stem explants of potato (*Solanum tuberosum* L.) cv. Delaware by Thidiazuron (TDZ) // *J. Sci. Tech. Agric.* – 2000. – Vol. 3. – P. 47-54.
- 10 Craig W., Gargano D., Scotti N., Nguyen T.T. Direct gene transfer in potato: A comparison of particle bombardment of leaf explants and PEG-mediated transformation of protoplasts // *Plant Cell Reports*. – 2006. – Vol. 24, No. 10. – P. 603-611.
- 11 Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures // *Physiol Plant*. – 1962. – Vol. 15, No. 3. – P. 473–497.
- 12 Першина Л.А. Основные методы культивирования *in vitro* в биотехнологии растений: учебное пособие. Изд. 2-е, перераб. и доп. – Новосибирск. – 2005. – Т. 138, № 4. – С. 138.
- 13 Turhan, H. Callus induction and growth in transgenic potato genotypes // *African Journal of Biotechnology*. – 2004. – Vol.3. – P. 375-378.
- 14 Roest S., Bokelmann G.S. Vegetative propagation of *Solanum tuberosum* L. *in vitro* // *Potato Research*. – 1976. – Vol. 19. – P. 173-178.
- 15 Ibragimova S.M., Romanova A.V., Myzgina G.K., Kochetov A.V. The morphogenic potential of Siberian Potato Cultivars in tissue cultures // *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. – 2018. – Vol. 22, No.3. – P. 316-320.
- 16 Campos N.A., Silva G.J., Paula M.F.Bd., Rodrigues T.B. A direct organogenesis protocol from shoot segments of *Solanum tuberosum* cv. Monalisa // *Australian Journal of Crop Science*. – 2016. – Vol. 10, No. 07. – P. 964-968.
- 17 Kumlay A.M. Combination of the auxins NAA, IBA, and IAA with GA3 improves the commercial seed-tuber production of potato (*Solanum tuberosum* L.) under *in vitro* conditions // *Biomed Res Int*. – 2014. – Vol. 2014, No. 439259.
- 18 Tara S.R., Krishnaprasad B.T., Anil. V.S. Direct and Indirect Regeneration of Potato Cultivar Kufri Jyoti // *Journal of Biotechnology and Biochemistry*. – 2017. – Vol. 3, No. 4. – P. 31-34.

References

- 1 Programma po razvitiyu APK v RK na 2013 – 2020 g (2012) [Agro-industrial complex development program in the Republic of Kazakhstan for 2013 – 2020]. «Agrobiznes– 2020».
- 2 <https://inbusiness.kz/ru/last/pereproizvodstvo-kartofelya-zhdet-kazahstan>
- 3 Shpaar D. (2010) Kartofel' [Potato]. Torzhok. OOO «LVD Agrodelo», pp. 474.
- 4 Graskova I. A., Kuznetsov E.V., Zhivet'ev M.A., Chekurov V.M., Voinikov V.K. (2009) Detektsiya vliyaniya obrabotki analogami preparata «Silk» rastenii kartofelya v polevykh usloviyakh [Detection of the influence of processing potato plants in the field by analogues of the Silk preparation]. *Journal of Stress Physiology & Biochemistry*, vol. 5, no 1-2, pp. 39–44.
- 5 Yee S, Stevens B, Coleman S, Seabrook JEA, Li XQ (2001) High efficiency regeneration in vitro from potato petioles with intact leaflets. *Am J Potato Res.*, vol. 78, pp. 151–157.
- 6 Yadav NR, Sticklen MB (1995) Direct and efficient plant regeneration from leaf explants of *Solanum tuberosum* L. cv. Bintje. *Plant Cell Reports*, vol. 14, pp. 645-647.
- 7 Kaur A.M., Reddy S., Kumar A. (2017) Efficient, one step and cultivar independent shoot organogenesis of potato. *Physiol. Mol. Biol. Plants.*, vol. 23, pp. 461-469.
- 8 Javier Narváez-Vásquez, Clarence A Ryan (2002) The system in precursor gene regulates both defensive and developmental genes in *Solanum tuberosum*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 99, no 24, pp. 15818-21.
- 9 Ehsanpour A.A., Michael G.K. Jones (2000) Evaluation of direct shoot regeneration from stem explants of potato (*Solanum tuberosum* L.) cv. Delaware by Thidiazuron (TDZ). *J. Sci. Tech. Agric.*, vol. 3, pp. 47-54.
- 10 Craig W, Gargano D, Scotti N, T T Nguyen (2006) Direct gene transfer in potato: A comparison of particle bombardment of leaf explants and PEG-mediated transformation of protoplasts. *Plant Cell Reports*, vol. 24, no 10, pp. 603-11.
- 11 Murashige T, Skoog F. (1962) A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant*, vol 15, no 3, pp. 473–497.
- 12 Pershina L.A. (2005) Osnovnye metody kul'tivirovaniya in vitro v biotekhnologii rastenii: uchebnoe posobie [Basic in vitro cultivation methods in plant biotechnology: a training manual], vol. 138, no 4, pp. 138.
- 13 Turhan, H. (2004) Callus induction and growth in transgenic potato genotypes. *African Journal of Biotechnology*, vol. 3, pp. 375-378.
- 14 Roest S., Bokelmann G.S. (1976) Vegetative propagation of *Solanum tuberosum* L. in vitro // *Potato Research*, vol. 19, pp. 173-178.
- 15 Ibragimova SM, Romanova AV, Myzgina GK, Kochetov AV. (2018) The Morphogenic Potential of Siberian Potato Cultivars in Tissue Cultures. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*, vol. 22, no 3, pp. 316-320.
- 16 Campos N.A., Silva G.J., Paula M.F.Bd., Rodrigues T.B. (2016) A direct organogenesis protocol from shoot segments of *Solanum tuberosum* cv. Monalisa. *Australian Journal of Crop Science*, vol. 10, no. 07, pp. 964-968.
- 17 Kumlay A.M. (2014) Combination of the auxins NAA, IBA, and IAA with GA3 improves the commercial seed-tuber production of potato (*Solanum tuberosum* L.) under in vitro conditions. *Biomed Res Int.*, vol. 2014, no. 439259.
- 18 Tara S.R., Krishnaprasad B.T., Anil. V.S.(2017) Direct and Indirect Regeneration of Potato Cultivar Kufri Jyoti. *Journal of Biotechnology and Biochemistry*, vol. 3, no. 4, pp. 31-34.