

Морфогенетический потенциал сортов картофеля сибирской селекции в культуре *in vitro*

С.М. Ибрагимова¹✉, А.В. Романова¹, Г.Х. Мызгина², А.В. Кочетов^{1,2,3,4}

¹ Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

² Сибирский научно-исследовательский институт растениеводства и селекции – филиал ИЦиГ СО РАН, Новосибирская область, Новосибирский район, пос. Краснообск, Россия

³ Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия

⁴ Новосибирский государственный аграрный университет, Новосибирск, Россия

Картофель – одна из важнейших пищевых культур в мире, подвержен поражению вирусами, грибами, бактериями, что снижает его урожайность и приносит большой экономический ущерб. Достижения современной биотехнологии позволяют создавать устойчивые сорта растений, для которых традиционные методы селекции затруднены, путем модификации их генома. Необходимы эффективные и воспроизводимые методики регенерации картофеля в культуре *in vitro*. Три сорта сибирской селекции Тулеевский, Кемеровчанин, Сафо и два контрольных сорта Голубизна и Никулинский использовали в работе в качестве модельных для оценки их морфогенетического потенциала в культуре *in vitro*. Экспланты стебля получали от растений, выращенных *in vitro* в пробирках. Стеблевые экспланты исследуемых сортов культивировали на основной среде Мурасиге–Скуга с добавлением 1 мг/л транс-зеатина, 0.1 мг/л индолилуксусной кислоты, 10 мг/л гиббереллина и витаминов (среда P1). Все этапы культивирования, вплоть до получения полноценных растений-регенерантов, проводили на среде P1. Каждые две недели экспланты переносили на свежие питательные среды. Все сорта формировали каллус, но различались по срокам каллусообразования и типу формируемого каллуса. При дальнейшем культивировании сортов на среде того же состава наблюдали морфогенез – образование побегов на раневых поверхностях экспланта. Высокую регенерационную способность проявили сорта Тулеевский, Кемеровчанин и Голубизна (73–97.7 %), низкую – сорт Сафо (63 %). Обнаружен внутрисортной полиморфизм по способности к регенерации у сибирских сортов. Регенеранты укоренялись на среде Мурасиге–Скуга, без добавления фитогормонов на седьмой день культивирования. В контроле (на среде без добавления фитогормонов) стеблевые экспланты всех пяти сортов не формировали каллус и не развивали побеги на раневых поверхностях. Предлагаемый способ индукции морфогенеза в культуре *in vitro* у картофеля прост, эффективен и может быть использован для других сортов.

Ключевые слова: картофель; *Solanum tuberosum* L.; сорта; стеблевые экспланты; морфогенез *in vitro*; биотехнология; селекция.

The morphogenic potential of Siberian potato cultivars in tissue cultures

S.M. Ibragimova¹✉, A.V. Romanova¹, G.Kh. Myzgina², A.V. Kochetov^{1,2,3,4}

¹ Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia

² Siberian Research Institute of Plant Production and Breeding – Branch of the Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Krasnoobsk, Novosibirsk region, Russia

³ Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

⁴ Novosibirsk State Agrarian University, Novosibirsk, Russia

Potato is an important crop widely cultivated throughout the world. It is prone to several pathogenic fungi, viruses, and bacteria, which cause severe economic loss every year. Recent advances in plant biotechnology have made it possible to produce resistant cultivars by plant genome editing. This approach allows crop modifications that would be difficult to obtain by conventional breeding techniques. A successful and reproducible plant system requires a responsive *in vitro* regeneration system. Three Siberian potato cultivars – Kemerovchani, Tuleevsky, and Sapho – and two control cultivars – Golubizna and Nikulinsky – were chosen for *in vitro* response tests. The stem explants were excised from *in vitro* grown plantlets. Their stem explants were incubated on Murashige&Skoog (MS) medium supplemented with 1 mg/L *trans*-zeatin, 0.1 mg/L IAA, and 10 mg/L GA₃ with vitamins (medium P1). All the stages of cultivation up to obtaining full-fledged regenerating plants were carried out on medium P1. Every two weeks the explants were transferred to fresh nutrient media. All cultivars formed calluses but differed in terms of callus formation and in callus type. With further cultivation on the medium of the same composition, morphogenesis was observed: shoots formed on wound surfaces of the stem explants. Cultivars Tuleevsky, Kemerovchani, and Golubizna showed high regeneration ability (73–97.7 %), while that of Sapho (63 %) was poor. All the Siberian cultivars were variable with regard to their morphogenic potentials. Root formation was observed in the shoots within 7 days on hormone-free MS. In the control (hormone-free medium), stem explants of all cultivars did not form calluses or develop shoots on the wound surfaces. The protocol described here is simple and efficient. It can be applied to other potato cultivars.

Key words: potato; *Solanum tuberosum* L.; cultivars; stem explants; regeneration *in vitro*; biotechnology; breeding.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ:

Ибрагимова С.М., Романова А.В., Мызгина Г.Х., Кочетов А.В. Морфогенетический потенциал сортов картофеля сибирской селекции в культуре *in vitro*. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2018;22(3):316-320. DOI 10.18699/VJ18.366

HOW TO CITE THIS ARTICLE:

Ibragimova S.M., Romanova A.V., Myzgina G.Kh., Kochetov A.V. The morphogenic potential of Siberian potato cultivars in tissue cultures. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2018;22(3):316-320. DOI 10.18699/VJ18.366 (in Russian)

УДК 635.21:631.524.5

Поступила в редакцию 10.01.2018

Принята к публикации 04.03.2018

© АВТОРЫ, 2018

Современные достижения в биотехнологии позволяют создавать новые формы растений, влияя на агрономические и хозяйственно ценные показатели различных культур, улучшение которых ограничено генетическими особенностями вида.

Картофель – одна из важнейших сельскохозяйственных культур в мире, продукт с высокой питательной ценностью, второй хлеб. Он поражается многочисленными вредителями и болезнями, что делает его важным объектом для генетических исследований. Стерильность, тетраплоидность в сочетании с высоким уровнем гетерозиготности снижают эффективность применения традиционных методов селекции в отношении культурного картофеля *Solanum tuberosum* L. (Muthoni et al., 2015). Обогащение сортового разнообразия культурного картофеля *S. tuberosum* L. гермоплазмой диких видов рода ограничено ввиду наличия барьеров несовместимости на разных этапах гибридизации (Гавриленко, Ермашин, 2017).

Методы биотехнологии растений (соматическая гибридизация, трансгенез, геномное редактирование) являются эффективными способами преодоления барьеров нескрещиваемости, ускорения создания новых источников гермоплазмы картофеля, которые в дальнейшем можно вовлекать в селекционный процесс (Barrell et al., 2013; Andersson et al., 2017). В основе современных биотехнологических методов лежит тотипотентность – уникальное свойство растительной клетки, способность реализовать генетическую информацию и развить целое растение в культуре *in vitro* из отдельного органа или же ткани (Бутенко, 1970). При этом для каждого из исследуемых видов растений необходимо знать условия реализации уникального свойства растительной клетки на практике.

Семейство Пасленовые (*Solanaceae* L.), к которому наряду с такими модельными объектами, как табак и петунья, относится картофель, обладает высоким морфогенным потенциалом в культуре *in vitro* (Gebhardt, 2016). У сортов культурного вида картофеля *S. tuberosum* L. получены растения-регенеранты практически из всех органов: из черешков листа (Yee et al., 2001), листовых пластинок (Andersson et al., 2003; Banerjee et al., 2006), стеблевых эксплантов (Kaur et al., 2017), клубневых дисков (Vasquez, Clarence, 2002), протопластов (Ehsanpour, Jones, 2001; Craig et al., 2005).

Однако существует немало сложностей при индукции морфогенеза у картофеля в культуре *in vitro*. Они определяются генетическими особенностями сорта, возрастом растения, выбором экспланта, компонентами питательной среды, соотношением ростовых гормонов, условиями культивирования, временем года (Hussain et al., 2005).

Важную роль при культивировании органов и тканей растения имеет выбор экспланта. Еще в первых работах по трансформации картофеля было показано преимущество стеблевых эксплантов (междоузлий) по сравнению с листовыми. У стеблевых эксплантов быстрее происходят процессы каллусообразования и регенерации (DeBlock, 1988), а также успешно проходит трансформация (Beaujean et al., 1998). Экспланты листьев, в силу своего анатомического строения, более нежны и сильно повреждаются в процессе культивирования, процессы каллусообразования и регенерации у них более длительные,

часто наблюдается соматическая изменчивость (Larkin, Scowcroft, 1981).

В мировой практике для выполнения генно-инженерных работ в качестве сортов-моделей используют такие сорта картофеля, как Desiree, Russet Burbank, Bintje, обладающие высокой регенерационной способностью в культуре *in vitro*. Среди отечественных сортов в качестве модельных чаще всего используют сорта Юбилей Жукова, Жуковский ранний, Скороплодный, Голубизна, Невский, Никулинский. Сорт Голубизна отмечен как обладающий высоким морфогенетическим потенциалом в культуре *in vitro* (Стародубцева и др., 2004). Информация о морфогенетическом потенциале сортов сибирской селекции и их использовании в генно-инженерных работах в известной нам литературе отсутствует. Чаще всего освещаются вопросы получения оздоровленного безвирусного картофеля, микроклубней *in vitro*, в связи с низким уровнем качества семенного материала исследуется влияние различных фитогормонов на ризогенез у пробирочных растений картофеля (Гусева и др., 2013; Артюхова, Киргизова, 2014).

Цель настоящей работы – исследование морфогенетического потенциала сортов картофеля сибирской селекции в процессе культивирования стеблевых эксплантов пробирочных растений в культуре *in vitro*, выявление перспективных сортов для выполнения генно-инженерных работ.

Материал и методы

Растительный материал включал пять сортов картофеля отечественной селекции: Никулинский и Голубизна из сортовой коллекции *in vitro* ФИЦ ИЦиГ СО РАН (г. Новосибирск) и сорта сибирской селекции Тулеевский, Кемеровчанин и Сафо из сортовой коллекции *in vitro* СибНИИРС (пос. Краснообск, Новосибирская область). Исследуемые сорта оценивали по способности к регенерации в культуре *in vitro*. Исходные растения, свободные от вирусной и виroidной инфекции, культивировали в асептических условиях в культуре *in vitro* при температуре 20 ± 2 °C и освещенности 8000 люкс. При подготовке материала верхушечный побег длиной 2.5–3 см помещали в пробирки размером 200 × 23 мм и культивировали на среде Мурасиге–Скуга (далее – МС) (Murashige, Skoog, 1962). К основной среде МС добавляли 20 г/л сахарозы и 6 г/л агар и культивировали в течение трех-четырех недель, до формирования растения. Пробирки закрывали ватно-марлевыми пробками. Для каждого сорта в каждом варианте опыта выращивали не менее 30 пробирочных растений, для получения не менее 100 эксплантов. Эксперименты повторяли дважды в период с апреля по июль. Все процедуры культивирования исходного материала проводили согласно общепринятым методикам (Першина, 2005).

Подготовка эксплантов. Использовали стеблевые экспланты верхних трех-четырех междоузлий пробирочных растений. Кусочки стебля длиной 6–8 мм, без пазушной почки, нарезали скальпелем. Вдоль экспланта наносили надрез тонким скальпелем глубиной 0.5–1 мм, пораненной поверхностью экспланты раскладывали на среду в чашки Петри (100 × 20 мм).

Состав питательных сред для индукции морфогенеза. Для индукции морфогенеза у изучаемых сортов

использовали состав среды, разработанный для картофеля во Всероссийском НИИ картофельного хозяйства им. А.Г. Лорха с некоторыми модификациями (Бутенко и др., 1984). В среду P1, на основе питательной среды МС, добавляли 20 г/л сахарозы, 1 мг/л транс-зеатина (trans-zeatine, Sigma), 0.1 мг/л индолилуксусной кислоты (3-indoleacetic acid, Sigma), 10 мг/л гиббереллина (gibberellic acid, Sigma), 6 г/л агара (agar type E, Sigma), а также витамины: 1 г/л тиамина и по 0.5 г/л пиридоксина и никотиновой кислоты (аптечный вариант); рН среды до автоклавирования 5.7–5.8. Стерильные растворы фитогормонов добавляли в среду P1 после ее автоклавирования. Каждые две недели экспланты переносили на свежие питательные среды. После появления признаков каллусообразования экспланты переносили в плоскодонные колбы с ватно-марлевыми пробками. Полностью регенерировавшие растения размером от 1 до 3 см укореняли в пробирках, на базовой среде МС с добавлением 20 г/л сахарозы и 6 г/л агара, без добавления фитогормонов для укоренения.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью пакета программ Microsoft Excel.

Результаты и обсуждение

Исследуемые сорта внесены в Государственный реестр сортов России (<http://reestr.gossort.com>). Они различались между собой по срокам созревания: все три сорта сибирской селекции – Тулеевский, Кемеровчанин, Сафо, а также сорт Голубизна относятся к сортам среднераннего созревания, сорт Никулинский – среднепозднего срока созревания.

С целью оценки объемов необходимого для выполнения исследований материала был проведен морфометрический анализ пробирочных растений используемых в работе сортов. Сорта различались между собой по числу формируемых междоузлий, их длине, а также по числу листьев. Полученные данные приведены в табл. 1.

Стеблевые экспланты всех пяти сортов не формировали каллус и не развивали морфогенные структуры на раневых поверхностях на среде МС без добавления фитогормонов. У всех изученных сортов морфогенезу предшествовала стадия каллусообразования.

Рассматриваемые сорта оказались чувствительными к экзогенным гормонам, содержащимся в среде P1. Каллус вначале формировался на одном из концов стеблевого экспланта. У некоторых эксплантов на более поздних этапах культивирования каллус формировался и на другом конце. Наиболее интенсивно каллусообразование происходило у сортов среднераннего срока созревания (Голубизна, Сафо, Кемеровчанин, Тулеевский) и составляло 100 % от общего количества эксплантов в эксперименте. У среднепозднего сорта Никулинский интенсивность каллусообразования была несколько ниже – 85 % (табл. 2).

Межсортные различия наблюдали по срокам формирования первичного каллуса. У среднеранних сортов каллусообразование начиналось на 7–8-й день от начала культивирования на среде P1, у сорта Никулинский – на 21–28-й день. Интенсивное каллусообразование у среднеранних сортов наблюдалось на 30–35-й день от начала культивирования, у позднеспелого сорта Никулинский –

на 40–45-й день. По типу формируемого каллуса сорта различались между собой. Сорта среднераннего срока созревания Сафо, Тулеевский, Кемеровчанин формировали более рыхлый светло-зеленый каллус (рис. 1, а, в), сорт Голубизна – темно-зеленый рыхлый каллус, что соответствует особенностям данного сорта, среднепоздний сорт Никулинский – плотный зеленый каллус.

В процессе культивирования эксплантов каллус становился морфогенным или неморфогенным. Образование морфогенных структур из каллуса у всех изучаемых сортов шло через органогенез: наблюдали образование монополярных структур – побегов, не всегда имеющих на ранних стадиях развития хорошо развитую листовую пластинку (см. рис. 1, б, г). Интенсивное побегообразование у сортов среднераннего срока созревания наблюдали спустя 2.5–3 месяца от начала пассирования эксплантов на среду P1 (рис. 2, б–г), у среднепозднего сорта Никулинский – через 3–3.5 месяца (рис. 2, а). В обоих случаях формировались побеги с нормально развитыми листовыми пластинками.

Наибольшей способностью к индукции морфогенного каллуса на среде P1 среди изученных сортов отличались Голубизна, Кемеровчанин и Никулинский (см. табл. 2). По своей морфогенетической активности сорт Кемеровчанин (96 %) приближался к сортам Голубизна (98 %) и Никулинский (92 %) и достоверно отличался по этому показателю от сортов Сафо (63 %) и Тулеевский (73 %). У всех сортов были получены растения-регенеранты. Из морфогенного каллуса у сортов формировалось от 4 до 12 побегов. Высоким выходом регенерантов характеризовался сорт Кемеровчанин: от одного морфогенного каллуса удавалось получить до 12 растений-регенерантов. По данному показателю сорт достоверно отличался от сортов Голубизна, Никулинский, а также Тулеевского и Сафо (см. табл. 2).

Сорта сибирской селекции – Кемеровчанин, Тулеевский и Сафо – оказались полиморфными по числу образуемых побегов на один эксплант: Кемеровчанин формировал от 2 до 34 побегов, Тулеевский – от 1 до 20, Сафо – от 1 до 15 побегов. Возможно, такой полиморфизм связан с гибридным происхождением исследуемых нами сортов.

Результаты наших исследований показали, что сорта сибирской селекции чувствительны к комбинации фитогормонов, содержащихся в среде P1 для культивирования. При сравнении реакции сортов на культивирование *in vitro* установлено, что все сорта способны к каллусогенезу на среде P1, а частота образования морфогенного каллуса и количество растений-регенерантов определялись генотипическими особенностями сортов. Все полученные регенеранты укоренялись на среде МС, без добавления фитогормонов на 6–7-й день культивирования.

Оптимальным условием для регенерации растений из культивируемых органов и тканей является наличие в среде цитокининов и ауксинов, находящихся в определенном соотношении. У картофеля важную роль в регенерационных процессах играют цитокинины. Морфогенетическая активность разных форм цитокининов – зеатина, зеатинрибозид, транс-зеатина, бензил-аминопурина – показана для различных сортов и эксплантов картофеля (Аветисов, Мелик-Саркисов, 1985; Chakravarty, Wang-Pruski, 2010;

Таблица 1. Характеристика исходных сортов *in vitro*

| Сорт | Среднее число междоузлий \pm sd | Средняя длина междоузлий (мм) \pm sd | Среднее число листьев на растении \pm sd |
|--------------|-----------------------------------|--|--|
| Кемеровчанин | 8.1 \pm 0.83 | 8.5 \pm 4.4 | 8.4 \pm 1.17 |
| Сафо | 5.7 \pm 0.86 | 10.5 \pm 5.2 | 6.8 \pm 0.52 |
| Тулеевский | 13.2 \pm 1.79 | 9.9 \pm 3.67 | 16.2 \pm 2.7 |
| Голубизна | 9.4 \pm 1.42 | 8.1 \pm 2.15 | 12.6 \pm 0.96 |
| Никулинский | 9.6 \pm 0.74 | 9.4 \pm 2.71 | 10.9 \pm 1.92 |

Таблица 2. Морфогенез *in vitro* на среде P1 у сортов

| Сорт | Частота, % | | Число побегов на один эксплант, $x \pm m$ |
|--------------|----------------------------|--------------------------|---|
| | каллусогенеза ¹ | морфогенеза ² | |
| Кемеровчанин | 100 | 96.0 \pm 4.3 | 12.7 \pm 0.74 |
| Сафо | 100 | 63 \pm 12.0* | 4.8 \pm 0.38*** |
| Тулеевский | 100 | 73 \pm 10.0* | 5.9 \pm 0.36*** |
| Голубизна | 100 | 97.7 \pm 3.2 | 5.9 \pm 0.09*** |
| Никулинский | 85 | 92 \pm 5.8 | 4.3 \pm 0.09*** |

¹ Частоту реакции определяли от общего числа эксплантов; ² частоту реакции определяли от числа эксплантов с каллусами.

* $p < 0.05$; *** $p < 0.001$.

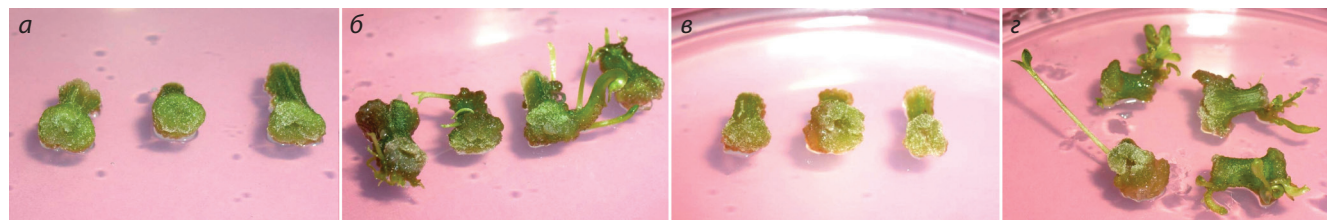


Рис. 1. Образование первичного каллуса и морфогенных структур из стеблевых эксплантов: сорт Кемеровчанин (а, б) и сорт Сафо (в, з).

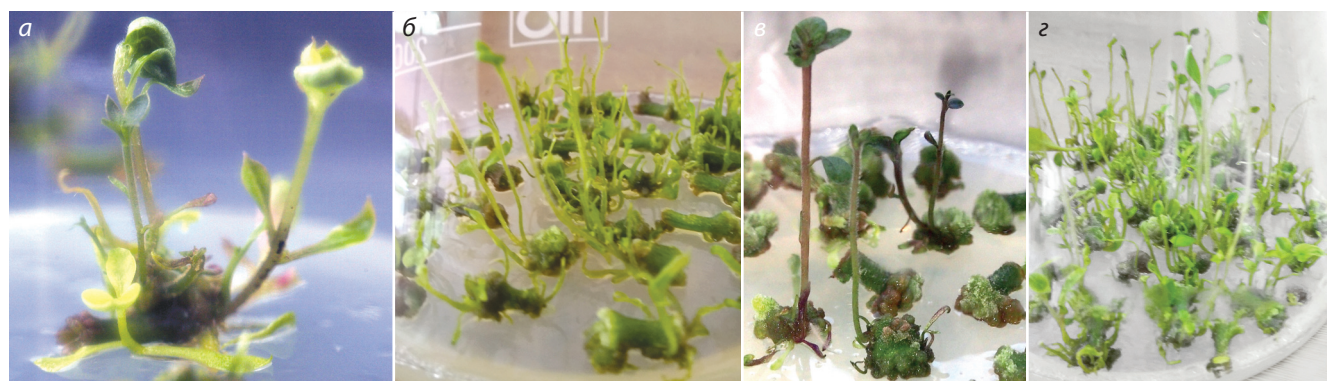


Рис. 2. Регенерация побегов из каллусных культур сортов на среде P1: а – сорт Никулинский; б – Тулеевский; в – Голубизна; з – Кемеровчанин.

Kaur et al., 2017). В наших исследованиях показана активность транс-зеатина в сочетании с гиббереллином и индолилуксусной кислотой в регенерационных процессах для всех пяти изучаемых сортов. Транс-зеатин способствовал формированию хорошо развитых побегов, гиббереллин – их удлинению, индолилуксусная кислота – укоренению. Такое сочетание фитогормонов в среде в различных кон-

центрациях – цитокинины, ауксины и гиббереллины – стимулировало регенерационные процессы у эксплантов других сортов картофеля (Yee et al., 2001; Hussain et al., 2005; Banerjee et al., 2006).

В результате проведенных нами экспериментов впервые изучены особенности морфогенеза в культуре *in vitro* у сортов картофеля сибирской селекции. Показан высокий

морфогенетический потенциал сибирских сортов Кемеровчанин, Тулеевский, а также сорта Голубизна. В литературе отмечается существенная зависимость процесса регенерации в культуре *in vitro* у картофеля от исходного генотипа (Coleman et al., 1990). В настоящем исследовании показана возможность индукции морфогенеза в культуре *in vitro* у всех пяти изучаемых сортов с использованием на всех этапах культивирования только одного типа питательной среды (P1).

Преимуществом данного метода являются: использование пробирочных культур сортов картофеля, что ускоряет получение асептического материала; применение одного типа сред (среда P1) на всех этапах культивирования, вплоть до полного развития полноценных побегов; короткий срок индукции процесса морфогенеза – в среднем от трех до четырех месяцев.

Предложенный способ позволил получить растения-регенеранты у изучаемых сортов. Различия в интенсивности побегообразования могут быть в дальнейшем нивелированы путем модификации состава питательной среды для каждого из сортов. Данный способ индукции морфогенеза в культуре *in vitro* у картофеля может использоваться и для других сортов картофеля.

Благодарности

Работа поддержана Российским научным фондом, грант № 16-16-04073. Полученные растения-регенеранты выращивали в тепличном комплексе ИЦиГ СО РАН (финансируется в рамках бюджетного проекта № 0324-2018-0018).

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

Аветисов В.А., Мелик-Саркисов О.С. Генотипические особенности морфогенеза в каллусных культурах различных сортов картофеля. С.-х. биология. 1985;3:67-70.

Артюхова С.И., Киргизова И.В. Биотехнологический способ размножения оздоровленного картофеля Западной Сибири микроклубнями в условиях *in vitro*. Современ. наукоёмкие технологии. 2014;12:107-108.

Бутенко Р.Г. Тотипотентность растительной клетки. Культура изолированных органов, тканей и клеток растений. М.: Наука, 1970.

Бутенко Р.Г., Хромова Л.М., Седнина Г.В. Методические указания по получению вариантных клеточных линий и растений у разных сортов картофеля. М.: ВАСХНИЛ, 1984.

Гавриленко Т.А., Ермишин А.П. Межвидовая гибридизация картофеля: теоретические и прикладные аспекты. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2017;21(1):16-29. DOI 10.18699/VJ17.220.

Гусева К.Ю., Бородулина И.Д., Мякишева Е.П., Таварткиладзе О.К. Изучение ризогенеза сортов картофеля (*Solanum tuberosum* L.) в культуре *in vitro*. Изв. Алт. ун-та. 2013;1:57-60. DOI 10.14258/izvasu(2013)3.2-13.

Першина Л.А. Основные методы культивирования *in vitro* в биотехнологии растений. Новосибирск: Изд-во Новосиб. ун-та, 2005.

Стародубцева (Камионская) А.М., Белоусова М.Б., Конов А.Л., Скрыбин К.Г. Способ получения генетически модифицированных растений картофеля сорта Голубизна с помощью *Agrobac-*

terium tumefaciens. Пат. на изобретение № 2231551 от 27 июня 2004.

Andersson M., Trifonova A., Andersson A.B., Johansson M., Bulow L., Hofvander P. A novel selection system for potato transformation using a mutated AHAS gene. Plant Cell Rep. 2003;22:261-267.

Andersson M., Turesson H., Nicolia A., Fält A.S., Samuelsson M., Hofvander P. Efficient targeted multiallelic mutagenesis in tetraploid potato (*Solanum tuberosum*) by transient CRISPR-Cas9 expression in protoplasts. Plant Cell Rep. 2017;36:117-128. DOI 10.1007/s00299-016-2062-3.

Banerjee A.K., Prat S., Hannapel D.J. Efficient production of transgenic potato (*S. tuberosum* L. ssp. *andigena*) plants via *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation. Plant Sci. 2006;170:732-738. DOI.org/10.1016/j.plantsci.2005.11.007.

Barrell P.J., Meiyalaghan S., Jacobs J.M., Conner A.J. Applications of biotechnology and genomics in potato improvement. Plant Biotechnol. J. 2013;11:907-920. DOI 10.1111/pbi.12099.

Beaujean A., Sangwan R.S., Lecardonnel A., Sangwan-Norreel B.S. *Agrobacterium*-mediated transformation of three economically important potato cultivars using sliced internodal explants: an efficient protocol of transformation. J. Exp. Bot. 1998;49:1589-1595. DOI.org/10.1093/jxb/49.326.1589.

Chakravarty B., Wang-Pruski G. Rapid regeneration of stable transformants in cultures of potato by improving factors influencing *Agrobacterium*-mediated transformation. Adv. Biosci. Biotechnol. 2010; 1:409-416. DOI 10.4236/abb.2010.

Coleman M., Waugh R., Powell W. Genetical analysis of *in vitro* cell and tissue culture response in potato. Plant Cell Tissue Organ Cult. 1990;23:181-186.

Craig W., Gargano D., Scotti N., Nguyen T.T., Lao N.T., Kavanagh D.A., Dix H.J., Cardi T. Direct gene transfer in potato: a comparison of particle bombardment of leaf explants and PEG-mediated transformation of protoplasts. Plant Cell Rep. 2005;24:603-611.

DeBlock M. Genotype-independent leaf disc transformation of potato (*Solanum tuberosum*) using *Agrobacterium tumefaciens*. Theor. Appl. Genet. 1988;76:767-774.

Ehsanpour A.A., Jones M.G.K. Plant regeneration from mesophyll protoplasts of potato (*Solanum tuberosum* L.) cultivar Delaware using silver thiosulfate (STS). J. Sci. I. R. Iran. 2001;12(2):103-110.

Gebhardt C. The historical role of species from the Solanaceae plant family in genetic research. Theor. Appl. Genet. 2016;1(29):2281-2294.

Hussain I., Muhammad A., Chaudhry Z., Asghar R., Naqvi S.M.S., Rashid H. Morphogenic potential of three potato (*Solanum tuberosum*) cultivars from diverse explants, a prerequisite in genetic manipulation. Pak. J. Bot. 2005;37:889-898.

Kaur A.M., Reddy S., Kumar A. Efficient, one step and cultivar independent shoot organogenesis of potato. Physiol. Mol. Biol. Plants. 2017;23:461-469. DOI 10.1007/s12298-017-0418-y.

Larkin P.J., Scowcroft W.R. Somaclonal variation – a novel source of variation from cell cultures for plant improvement. Theor. Appl. Genet. 1981;60:197-214.

Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant. 1962;15:473-497. DOI 10.1098/rstb.2000.0713.

Muthoni J., Kabira J., Shimelis H., Melis R. Tetrasomic inheritance in cultivated potato and implications in conventional breeding. Aust. J. Crop Sci. 2015;9:185-190.

Vásquez J.N., Clarence A.R., Jr. The systemin precursor gene regulates both defensive and developmental genes in *Solanum tuberosum*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2002;99:15818-15821.

Yee S., Stevens B., Coleman S., Seabrook J.E.A., Li X.-Q. High-efficiency regeneration *in vitro* from potato petioles with intact leaflets. Am. J. Potato Res. 2001;78:151-157.