

Сулейманова Ш.С., Исаева В.К., Оторбаева А.Ж.

**БУУДАЙДЫН ЧАҢДЫКТАРЫНЫН КУЛЬТУРАСЫНДА
КАЛЛУСТУН ПАЙДА БОЛУУСУНА ФИТОГОРМОНДОРДУН
ТИЙГИЗГЕН ТААСИРИН ИЗИЛДӨӨ**

Сулейманова Ш.С., Исаева В.К., Оторбаева А.Ж.

**ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ФИТОГОРМОНОВ НА
КАЛЛУСООБРАЗОВАНИЕ В КУЛЬТУРЕ ПЫЛЬНИКОВ ПШЕНИЦЫ**

Sh. Suleymanova, V. Isaeva, A. Otorbaeva

**STUDYING OF PHYTOHORMONE'S EFFECT TO THE CALLUS
FORMATION ON WHEAT ANTHER CULTURE**

УДК: 633.11:664.74(575.2) (04)

Бул изилдөө фитогормондордун ар кандай концентрациясынын 2,4-D, ИУК, кинетин жана 6-БАП айкалышынын буудай чаңдык культуурасында каллустун индукциясына тийгизген таасирин баалоо үчүн жүргүзүлгөн. Бул үчүн Мурасиге Скуганын азык чөйрөсү колдонулган. Бардык үлгүлөрдүн ичинен каллустун эффективдүү индукциясы төмөнкү концентрацияларды (г/л) камтыган азык чөйрөсүндө байкалган: ИУК-1; 2,4-D-1 жана кинетин -0.1. Бул курама каллус алууга мүмкүндүк берди. Изилдөө Ж.Баласагын атындагы Кыргыз улуттук университетинин биология факультетинин Ботаника жана өсүмдүктөрдүн физиологиясы кафедрасынын Биотехнология лабораториясында жүргүзүлдү. Изилдөө объектиси буудай менен тритикале кесилишинен алынган түрлөр аралык гибриддик үлгүлөр болгон: Миссим × Интенсивная, Алеша × Интенсивная.

Негизги сөздөр: фитогормондор, каллус, азык чөйрө, чаңдык культуурасы, түрлөр, гибриддик айкалыштар, буудай.

Данное исследование проведено для оценки влияния комбинации различных концентраций фитогормонов 2,4-D, ИУК, кинетина и 6-БАП на индукцию каллуса в культуре пыльников пшеницы. Для этого была использована питательная среда Мурасиге Скуга. Среди всех образцов, эффективная индукция каллуса наблюдалась в питательной среде, содержащей следующие концентрации (г/л): ИУК-1; 2,4-D-1 и кинетин -0.1. Этот состав позволил получить каллус в культуре пыльников. Исследование было проведено в лаборатории Биотехнологии кафедры Ботаники и Физиологии растений факультета Биологии Кыргызского национального университета им. Ж.Баласагына. Объектом исследования были межвидовые гибридные образцы, полученные при скрещивании пшеницы и тритикале: Миссим × Интенсивная, Алеша × Интенсивная.

Ключевые слова: фитогормоны, каллус, питательная среда, культура пыльников, виды, гибридные комбинации, пшеница.

This study was performed to evaluate the effect of a combination of different concentrations of phytohormones 2,4-D, IUC-1, kinetin, and 6-BAP on callus induction in wheat anther culture. Murasige Skoog nutrient medium was used for this purpose. Among all samples, effective callus induction was observed in nutrient medium containing the following concentrations (g/L): IUC-1; 2,4-D-1 and kinetin -0.1. This composition allowed the production of callus in anther culture. The study was conducted in the Laboratory of Biotechnology of the Department of Botany and Plant Physiology, Faculty of Biology, Zh.Balasagyn Kyrgyz National University. The object of the study was interspecific hybrid specimens obtained by crossing wheat and triticale: Missim × Intensive, Alyosha × Intensive.

Key words: phytohormones, callus, nutrient medium, anther culture, types, hybrid combinations, wheat.

Целью исследования является определение оптимальных доз фитогормонов в культуре пыльников пшеницы.

Актуальность темы. Пшеница является ведущей продовольственной культурой в мировом земледелии. Она занимает более 30% посевных площадей всех зерновых культур. Улучшение пшеницы и создание новых сортов тесно связано с благосостоянием людей во всем мире. Сегодня для создания сортов пшеницы традиционными методами селекции требуется 8-10 лет интенсивной работы [1]. Развитие технологии культуры пыльников, приводящей к гаплоидам, является ценным инструментом ускорения процесса улучшения культур, при применении которого экономия времени может быть существенной - до 3-4 лет.

Преимущества данной технологии состоят в получении за сравнительно короткое время гомозиготных константных гаплоидных гибридов, сохраняющих в генотипе признаки родительских форм, и значительно облегчает отбор ценных генотипов, возникающих в результате рекомбинации генетических данных родительских форм. Лабораторные условия позволяют регулировать процесс культивирования пыльников адекватными изменениями содержания экзогенных гормонов в питательных средах [2]. Состав среды, включая органические и неорганические элементы и регуляторы роста, генотип сортов и культуральная среда после инокуляции являются важными факторами культуры пыльников [3].

Введение. Пшеница является доминирующим зерном в мировой торговле и основным продуктом питания миллионов людей во всем мире. Он часто используется для производства большого разнообразия продуктов, включая множество видов и типов хлеба, тортов, лапши, крекеров, продуктов для завтрака и кондитерских изделий. Пшеница, после риса, является второй по важности сельскохозяйственной культурой в Индии и мире. Это основной продукт питания для трети населения земного шара [4].

Также пшеница является достаточно богатым источником витаминов, тиамина, энергетической и минеральной пригодности пшеницы для многих продук-

тов питания, зависит от ее уникального белка. Повышенное содержание белка в зерне и его качество влияют на хлебопекарные свойства пшеницы. Промышленное использование пшеницы включает производство крахмала, глютена, спиртовых напитков, солода и т. д. Пшеничные отруби богаты белком (14-18%) и витаминами. Его также используют для кормления скота. Пшеничная солома используется в качестве корма, подстилки для животных, компоста и для изготовления гофрированной бумаги [5,6].

В зерне пшеницы содержится крахмал (60-70%), белок (10-17%), клетчатка (2-2,5%), жир (1,5-2,0%), сахар (2-3%) и минеральные вещества (1,5-2,0%). Во всем мире пшеницу выращивают на площади около 232 миллионов гектаров с годовым объемом производства около 640 миллионов тонн. В глобальном масштабе за последние пять лет общее производство пшеницы сокращается, и в 2006-2007 годах было произведено всего 587 миллионов тонн пшеницы [7].

Материалы и методы исследования: Исследование проводилось в лаборатории биотехнологии кафедры ботаники и физиологии растений факультета биологии. В качестве объектов были использованы межвидовые гибриды Миссим × Интенсивная, Алеша × Интенсивная.

Для культивирования использовалась питательная среда Мурасиге Скуга (МС) с различными соотношениями и комбинациями фитогормонов. Для получения каллусной культуры использовались пыльники гибридов, полученных при скрещивании тритикале и пшеницы. Собранные на стадии колошения колосья промывали дистиллированной воде, далее несколько секунд стерилизовали 95%-ным этанолом, снова ополаскивали в дистиллированной воде, затем замачивали в 9% растворе гипохлорида натрия NaOCl на 5 минут и промывали 3 раза стерильной дистиллированной водой по 5 минут. Стерилизованные колосья разрезали, выделяли пыльники. Всего в каждую чашку Петри, содержащую 10 мл среды для индукции каллуса, инокулировали 10 пыльников [8].

Были использованы четыре среды с различными концентрациями фитогормонов: первый вариант – 2,4-Дихлорфеноксиуксусная кислота (2,4-Д) – 1г/л и 6-бензиламинопурина (БАП) – 0,1г/л, второй – 2,4-Дихлорфеноксиуксусная кислота (2,4-Д) – 1г/л и кинетин – 0,1г/л, третий – индолилуксусная кислота (ИУК) – 1г/л и 6-бензиламинопурина (БАП) – 0,1г/л, четвертый – индолилуксусная кислота (ИУК) – 1г/л и кинетин – 0,1г/л.

Таблица 1

Состав питательных сред, используемых для каллусообразования *in vitro* (мг/л)

Компоненты	Среды для каллусообразования			
	МС 1	МС 2	МС 3	МС 4
Макросоли				
NH_4NO_3	1650	1650	1650	1650
KNO_3	1900	1900	1900	1900
$\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$	440	440	440	440
$\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	370	370	370	370
KH_2PO_4	170	170	170	170
$\text{Na}_2\text{ЭДТА}$	37,3	37,3	37,3	37,3
Микросоли				
H_3BO_3	6,2	6,2	6,2	6,2
$\text{MnSO}_4 \times 4\text{H}_2\text{O}$	22,3	22,3	22,3	22,3
$\text{ZnSO}_4 \times 4\text{H}_2\text{O}$	8,6	8,6	8,6	8,6
KI	0,75	0,75	0,75	0,75
$\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$	0,025	0,025	0,025	0,025
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$	0,25	0,25	0,25	0,25
$\text{CoCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$	0,025	0,025	0,025	0,025
Тиамин	1,0	1,0	1,0	1,0
Пиридоксин	1,0	1,0	1,0	1,0
Сахароза	20000	20000	20000	20000
Агар	7000	1000	3000	4000

Для каждой комбинации готовили по пять повторов. Культивированные пыльники инкубировали в термостате в течение шести недель при температуре 25°C и относительной влажности 60-85%. Пыльники проверяли на образование каллуса с недельными интервалами. Частоту индукции каллуса регистрировали через 5 недель после инокуляции. Были подсчитаны все каллусы, происходящие из одного пыльника [9,10].

Результаты исследования. Регуляторы роста играют важную роль в морфологии каллуса пшеницы. Его концентрация в комбинации или без нее определяет тип каллуса, а также цвет каллуса в определенных средах.

Считается, что цитокинины являются основными стимуляторами деления клеток растений, однако добавление в питательную среду ауксинов, усиливают

деление клеток. Однако механизмы влияния ауксинов и цитокининов на этот процесс различны. Исследование последних десятилетий показало, что образование каллуса в культуре *in vitro* зависит от выбора правильной концентрации фитогормонов. Концентрация и соотношение ауксинов и цитокининов в культуральной среде обычно зависят от сорта и выбираются в зависимости от типа культуры, а также от цели выращивания [11].

В данной работе было важно определить оптимальный фитогормональный состав культуральной среды для инициации каллусообразования. В результате было установлено, что концентрации фитогормонов индолилуксусной кислоты (ИУК) и кинетина в соотношении 0,1-1 г/л, 2,4-Дихлорфеноксиуксусная кислота (2,4-Д) – 1г/л и кинетин– 0,1г/л являлись более оптимальными для образования каллуса (рис. 1).

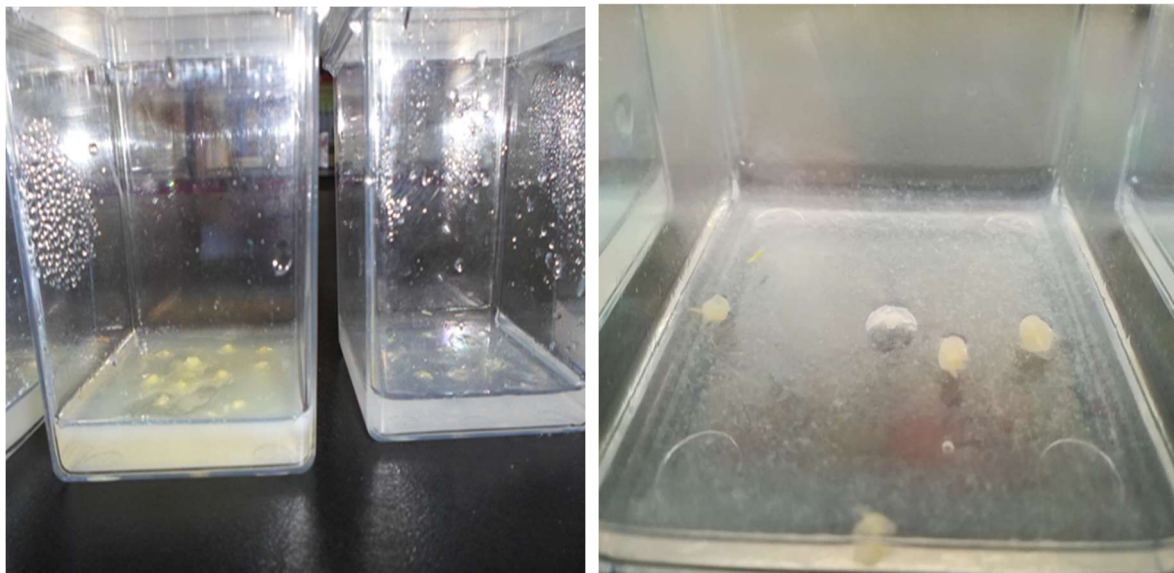


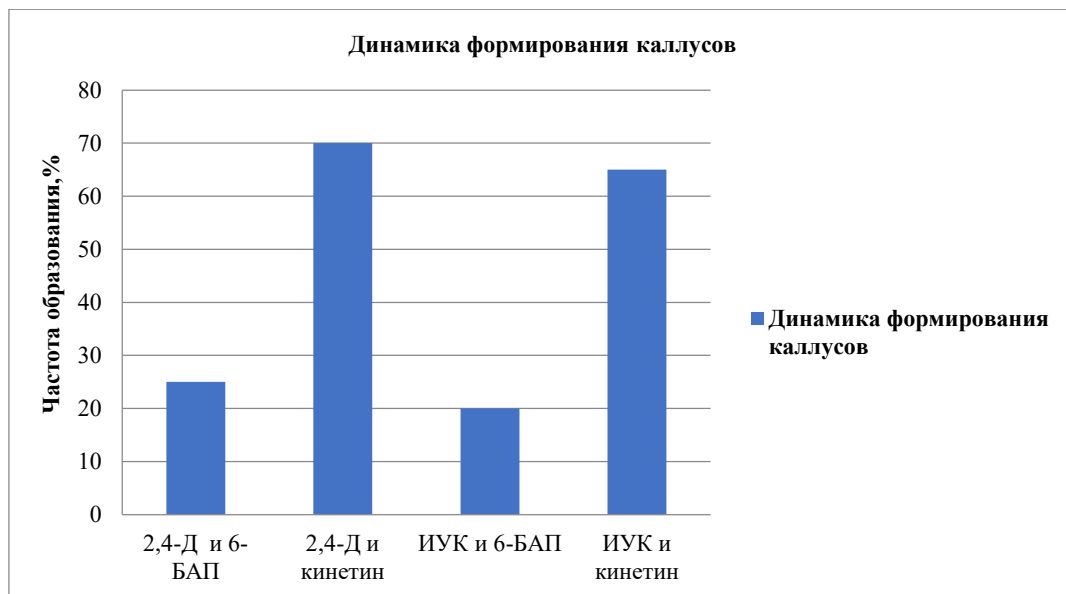
Рис. 1. Образование каллуса в культуре пыльников пшеницы.

На среде, содержащей 2,4-Д – 1г/л и 6-БАП – 0,1г/л, ИУК – 1г/л и 6-БАП – 0,1г/л каллусная ткань образовывалась менее интенсивно.

Таблица 2

Каллусообразование в культуре пыльников пшеницы в зависимости от концентрации фитогормонов

Среда	Концентрация фитогормонов мг/л								Образование каллуса	
	2,4-Д	6-БАП	2,4-Д	К	ИУК	6-БАП	ИУК	К	%	время, начало
МС1	1,0	0,1	-	-	-	-	-	-	-	
МС2	-	-	1,0	0,1	-	-	-	-	70	3-я нед.
МС3	-	-	-	-	1,0	0,1	-	-	-	
МС4	-	-	-	-	-	-	1,0	0,1	65	4-я нед.



Выводы. Результаты показали, что питательные среды с фитогормонами содержащих индолилуксусную кислоту (ИУК) и кинетин, 2,4-Дихлорфеноксиуксусную кислоту (2,4-Д) и кинетин значительно влияют на образование каллусов. Использование таких питательных сред повышало потенциал индукции каллуса по сравнению со средами 2,4-Дихлорфеноксиуксусной кислоты (2,4-Д) и 6-бензиламинопурина (БАП), индолилуксусной кислоты (ИУК) и 6-бензиламинопурина (БАП). Таким образом, питательные среды, содержащие индолилуксусную кислоту (ИУК) и кинетин, 2,4-Дихлорфеноксиуксусную кислоту (2,4-Д) и кинетин являются более эффективными в получении гаплоидных растений в культуре пыльников, которые могут быть полезны во многих программах селекции пшеницы.

Литература:

- Атабеков И.Г. Биотехнологические методы в безвирусном растениеводстве / И.Г. Атабеков, М.Э. Тальянский // В сборнике Достижения с.-х. науки. - М., 1987. - С. 121-136.
- Павлючук С.И., Браткова Л.Г. Андрогенез озимой пшеницы и тритикале в культуре пыльников. Отчет ГНУ СНИИСХ РАСХН. - Омск, 2013.
- Дитченко Т.И. Культура клеток, тканей и органов растений. - Минск, 2007.
- Абакарова Р.Ш. Проблемы повышения конкурентоспособности продовольственной продукции // Казанская наука. - №3. - 2012. - С. 45-47.
- Сельскохозяйственная биотехнология: Учебник / В.С. Шевелуха, Е.А. Калашникова, Е.З. Кочиева и др. / Под ред. В.С. Шевелухи -3-е изд., перераб. и доп. - М.: Высшая школа, 2008. - 163 с.
- Егорова Т.А. Основы биотехнологии. / Т.А. Егорова, С.М. Клунова, Е.А. Живухина. - М., 2003. - 208 с.
- Мурамцев Г.С. Биотехнология в растениеводстве / Г.С. Мурамцев // Селекция и семеноводство. - 1990. - № 4. - С. 2-9.
- Бутенко Р.Г. Биотехнология на основе культивируемых in vitro клеток растений / Р.Г. Бутенко. // Аграрная наука. - 1993. - №6. - С. 25.
- Бутенко Р.Г. Культура изолированных тканей и физиология морфогенеза растений. / Р.Г. Бутенко. - М.: Наука, 1964. - С. 205-213.
- Бутенко Р.Г. Культура клеток растений и биотехнология. - М.: Наука, 1986.
- Джордж Х.Л. Прямое получение гаплоидов пшеницы через культуру пыльников. / Crop Science, 1987. - 27. - 336-339.
- Костюкова Ю.А. Особенности каллусогенеза и морфогенеза в культуре тканей различных видов гречихи. - Казань, 1999.
- Бекболотова К.Н., Шекеков А.Ш. Оценка генотипов яровой мягкой пшеницы с участием изолированных зародышей на селективных средах in vitro, имитирующих к дефициту влаги. Наука, новые технологии и инновации Кыргызстана. 2023. №. 1. С. 19-22.