

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

Некоммерческое акционерное общество «Казахский национальный  
исследовательский технический университет имени К.И.Сатпаева»

Институт геологии и нефтегазового дела им. К. Турысова  
Кафедра «Химическая и биохимическая инженерия»

Амантаева Аружан Саматовна

Культивирование соматических клеток *Hordeum vulgare* L.

## **ДИПЛОМНАЯ РАБОТА**

Специальность 6В05101 – Химическая и биохимическая инженерия

Алматы 2023

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

Казахский национальный исследовательский технический университет имени  
К. И. Сатпаева

Институт геологии и нефтегазового дела им. К. Турысова

Кафедра «Химической и биохимической инженерии»

**ДОПУЩЕН К ЗАЩИТЕ**

Заведующий кафедрой «Химическая и  
биохимическая инженерия», Доктор Ph.D.

А. А. Амитова

«05» июня 2023 г.



### ДИПЛОМНАЯ РАБОТА

На тему: «Культивирование соматических клеток *Hordeum vulgare* L.»

по специальности 6В05101 – «Химическая и биохимическая инженерия»

Выполнила

Амантаева А.С.

Рецензент

Научный руководитель

Доктор Ph.D., профессор  
Кафедры «технология и безопасность  
Пищевых продуктов» КазНАИУ

Доктор биологических наук,  
ассоциированный профессор

 Исакова К. М.

 Анапияев Б.Б.

«08» июня 2023 г.

«05» июня 2023 г.

Алматы 2023

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН  
Казахский национальный исследовательский технический университет имени  
К. И. Сатпаева

Институт геологии и нефтегазового дела им. К. Турысова

Кафедра «Химической и биохимической инженерии»

6B05101 – «Химическая и биохимическая инженерия»

**УТВЕРЖДАЮ**

Заведующий кафедрой «Химическая и  
биохимическая инженерия», Доктор Ph.D.

А. А. Амитова

«05» июня 2023 г.

**ЗАДАНИЕ**

**На выполнение дипломной работы**

Обучающейся Амантаевой Аружан Саматовне

Тема: «Культивирование соматических клеток *Hordeum vulgare* L.»

Утверждена приказом Директора Института № 408 от 23.11.2022

Срок сдачи дипломной работы «05» июня 2023 г.

Исходные данные к дипломной работе: Технопарк КазНИТУ им. Сатпаева,  
лаборатория Биотехнологии

Краткое содержание дипломной работы:

- а) Подбор растительных эксплантов ярового ячменя.
- б) Выбор питательных сред.
- в) Введение в культуру двух сортов ячменя.
- г) Результаты и обсуждения полученных данных.

Перечень графического материала: представлены 10 слайдов презентации  
работы

Рекомендуемая основная литература состоит из 41 наименований




## ГРАФИК

подготовки дипломной работы

Наименование разделов, перечень разрабатываемых вопросов	Сроки представления научному руководителю	Примечание
1. Введение. Обзор литературы	05.11.2022	выполнено
2. Выбор и подготовка питательной среды для культивирования <i>Hordeum vulgare</i> L.	02.04.2023	выполнено
3. Методика проведения эксперимента	15.04.2023	выполнено
4. Результаты исследования и выводы	14.05.2023	выполнено

### Подписи

консультантов и нормоконтролера на законченную дипломную работу (проект) с указанием относящихся к ним разделов работы (проекта)

Наименования разделов	Консультанты, И.О.Ф. (уч. степень, звание)	Дата подписания	Подпись
Основная часть	Б. Б. Анапияев, д.б.н., ассоц. профессор	05.06.2023	
Материалы и методика исследований	Б. Б. Анапияев, д.б.н., ассоц. профессор	05.06.2023	
Нормоконтролер	Б. Б. Анапияев, д.б.н., ассоц. профессор	05.06.2023	

Научный руководитель



Б. Б. Анапияев

Задание принял к исполнению обучающийся



А.С. Амантаева

Дата

« 05 » июня 2023 г.

## АННОТАЦИЯ

В данной работе приведены результаты исследований по введению ячменя обыкновенного (*Hordeum vulgare L.*) в культуру *in vitro*. В исследованиях использовались сорта ярового ячменя «Сауле» и «Арна». В качестве эксплантов были использованы пыльники растения. В качестве питательных сред использовались модифицированные среды Мурасиге-Скуга и Гамборга В5 с добавлением фитогормонов 2,4-Д и БАП соответственно. В ходе исследования были оптимизированы условия культивирования изолированных клеток ячменя в условиях *in vitro*. Были изучены факторы, влияющие на частоту процессов каллусогенеза в культуре ярового ячменя в условиях *in vitro*. В результате культивирования пыльников были получены данные о влиянии состава питательных сред на частоту образования каллусов в культуре *in vitro* ячменя (*Hordeum vulgare L.*).

## АНДАТПА

Бұл жұмыста кәдімгі арпаны (*Hordeum vulgare L.*) культураға *invitro* енгізу бойынша зерттеулердің нәтижелері берілген. Зерттеу жұмысында жаздық арпаның «Сәуле» және «Арна» сорттары пайдаланылды. Эксплант ретінде өсімдік тозаңқылары пайдаланылған болатын. Қоректік орта ретінде сәйкесінше 2,4-D және ВАР фитогормондары қосылған модификацияланған “Мурасиге-Скуга” және “Гамборга В5” орталары қолданылды. Зерттеу барысында оқшауланған арпа жасушаларын *in vitro* жағдайында өсіру жағдайлары оңтайландырылды. Жаздық арпа дақылында *in vitro* жағдайында каллусогенез процестерінің жиілігіне әсер ететін факторлар зерттелді. Антерлерді өсіру нәтижесінде арпаның *invitro* дақылында (*Hordeum vulgare L.*) қоректік орталар құрамының каллус түзілу жиілігіне әсері туралы мәліметтер алынды.

## **ABSTRACT**

This paper presents the results of studies on the introduction of common barley (*Hordeum vulgare* L.) into culture in vitro. In the research, the varieties of spring barley "Saulė" and "Arna" were used. Plant anthers were used as explants. Modified Murashige-Skoog and Hamburg B5 media with the addition of phytohormones 2,4-D and BAP, respectively, were used as nutrient media. In the course of the study, the conditions for cultivating isolated barley cells under in vitro conditions were optimized. The factors influencing the frequency of callusogenesis processes in spring barley culture under in vitro conditions were studied. As a result of the cultivation of anthers, data were obtained on the effect of the composition of nutrient media on the frequency of callus formation in the in vitro culture of barley (*Hordeum vulgare* L.).

## СОДЕРЖАНИЕ

Введение	9
1 Литературный обзор	
1.1 Биология и морфология <i>Hordeum vulgare L.</i>	10
1.2 Химический состав зерновки <i>Hordeum vulgare L.</i>	12
1.3 Использование биотехнологических методов в селекции <i>Hordeum vulgare L.</i>	13
1.4 Основные направления селекции ячменя в Казахстане	14
1.5 Селекция <i>Hordeum vulgare L.</i> на устойчивость к биотическим стрессовым факторам окружающей среды	14
1.6 Селекция <i>Hordeum vulgare L.</i> на устойчивость к абиотическим стрессовым факторам окружающей среды	15
1.7 Использование молекулярных маркеров в селекции ячменя	17
1.8 Использование ячменя в производстве солода	19
1.9 Получение и использование андрогенных гаплоидов ячменя	21
2 Условия культивирования растений <i>in vitro</i>	
2.1 Асептические условия	22
2.2 Подбор питательной среды	22
2.3 Физические факторы	23
3 Результаты исследований и их обсуждения	
3.1 Методика проведения эксперимента	25
3.2 Составы питательных сред	27
3.3 Результаты и обсуждения	29
Заключение	30
Перечень принятых сокращений	31
Список использованной литературы	32



## ВВЕДЕНИЕ

Яровой ячмень (*Hordeum vulgare* L.) является второй культурой по значимости среди зерновых культур в Казахстане. Посевная площадь ячменя в стране составляет около 1,5 млн га от всей площади, занимаемой под зерновыми культурами [1].

Около 15 % мирового ежегодного урожая ячменя употребляется в пищу, а также идет на изготовление солода и пива. Кроме того, наряду с другими зерновыми культурами ячмень может использоваться для производства, возобновляемого биотоплива, а также для синтеза рекомбинантных белков [2].

В Центральном и Западном Казахстане, из-за потепления климата, в производстве продуктов сельского хозяйства ощущаются недостаток влаги, экстремальные температуры, суховеи, в связи с этим перед селекционерами стоит задача в создании новых адаптивных сортов ячменя, но на создание нового устойчивого к стрессу сорта уходят в среднем 10-12 лет [3,4].

Культивирование соматических клеток ячменя *in vitro* представляет собой перспективный подход к получению каллусов, которые могут быть использованы для получения растений, устойчивых к различным стрессовым факторам, а также улучшения качества и урожайности зерна.

Целью данной работы является изучение влияния состава питательных сред на частоту образования соматических каллусов в культуре *in vitro* ячменя (*Hordeum vulgare* L.)

Задачи работы:

- введение в культуру *in vitro* ячменя (*Hordeum vulgare* L.)
- изучение влияния питательных сред на частоту образования соматических каллусов ячменя (*Hordeum vulgare* L.) в условиях *in vitro*.
- практическая оценка полученных результатов.

## 1 Литературный обзор

### 1.1 Биология и морфология *Hordeum vulgare L.*

Культурный ячмень – однолетнее растение ярового, озимого типа или двуручка. В своём жизненном цикле ячмень проходит несколько фаз вегетации: прорастание семян, появление всходов, формирование первых трёх листьев, кущение, выход в трубку, колошение, цветение, налив зерна, созревание [5] (рисунок 1).



Рисунок 1 – *Hordeum vulgare L.*

Продолжительность вегетации растений во многом связана с сортовыми особенностями и условиями выращивания, при этом [5].

Среди яровых зерновых культур ячмень является самой скороспелой с вегетационным периодом от 65 до 120 суток [6].

Процесс прорастания семян возможен при низкой температуре  $+1...+2^{\circ}\text{C}$ , но для полноценного развития оптимальная температура составляет  $+15...+20^{\circ}\text{C}$ , в этом случае семена вырастают в течение 2-5 дней. В процессе набухания семян, необходимого для прорастания, происходит поглощение воды в объеме от 45 до 65 % от сухого вещества. Для дальнейшего роста и развития растений благоприятной считается температура в диапазоне  $+20...+24^{\circ}\text{C}$  [7,8].

В результате прорастания семени появляются молодые всходы. Сначала начинают расти зародышевые корешки, затем стебель. Сверху на стебле располагается колеоптил - видоизмененный влагиалищный лист. Когда колеоптил выходит на поверхность почвы, его рост прекращается. Затем первый настоящий лист разрывает колеоптил и выходит наружу, образуя зеленые всходы. По мере роста, на молодых растениях появляются 3-4 настоящих листа [9].

Во время кушения у ячменя начинается процесс формирования боковых побегов. Кроме того, в этот период происходит укрепление вторичной корневой системы, что помогает растению получить больше питательных веществ из почвы. В ячмене может образоваться до 9 побегов кушения, что способствует образованию более обильного количества цветков и колосков, чем у других культурных злаков [10].

Когда растение достигает фазы выхода в трубку и первый узел виден на поверхности почвы, оно переходит к генеративной стадии развития. Внутри стебля начинается быстрый рост колоса, а также растет масса корней и листьев. Когда четвертый узел появляется, самый верхний лист (флаговый) раскрывается [11]

С появлением 25% колоса начинается его колошение, которое завершается его полным выбрасыванием. Оптимальной температурой для колошения является +18...+20°C [12].

Период цветения наступает, когда первые пыльники начинают появляться на растении. В середине этой фазы, до 50% тычинок созревают. Оптимальная температура для цветения - от +14 до +19°C при наличии достаточного уровня влажности [13].

Соцветие или колос у ячменя состоит из членистого стержня и колосков. Широкая сторона стержня называется лицевой, а узкая – боковой. На концах ветвей расположены колоски.

Цветок имеет нижнюю, или наружную, чешую и верхнюю, или внутреннюю (более тонкую и нежную). Между ними расположены завязь с двумя перистыми рыльцами и три тычинки.

Впоследствии из завязи пестика развивается плод – зерновка [14].

Зерна начинают формироваться с момента оплодотворения. В начальном периоде зерна имеют водянистую консистенцию и содержание воды может достигать 80%. Однако, к моменту перехода от молочной к молочно-восковой спелости, влажность зерна снижается до 50%. В это время зерно остается мягким, но уже не сдавливается под ногтем. Верхние листья и стебель продолжают оставаться зелеными [15,16].

Период созревания зерен проходит через стадии восковой спелости, начиная от мягкой до твердой. Во время мягкой восковой спелости вмятина от ногтя на зерне выпрямляется, а при достижении поздней стадии уже нет. У семян с пленчатой оболочкой зерно крепко склеивается с цветочными чешуями, тогда как у голозерных наоборот, отделяется от пленки. В это время листья и стебель растения приобретают желтую окраску, а стебли становятся менее гибкими [17].

## 1.2 Химический состав зерновки *Hordeum vulgare L.*

Зерновка ячменя имеет сложный химический состав, который зависит от сорта, района произрастания, метеорологических и почвенных условий, массового соотношения отдельных частей зерна. Так, масса зародыша

колеблется от 2,8 до 5 %, цветочных пленок – от 6 до 17 %. Ячмень состоит на 80–88 % из сухого вещества и на 12–20 % из воды. Сухое вещество представляет собой комбинацию органических и неорганических веществ [18].

Основные органические составляющие зерновки это: углеводы, жиры, азотистые вещества, витамины, ферменты.

Углеводы представлены в виде крахмала, целлюлозы, сахариды и др. Крахмал наиболее важный углевод зерновки ячменя [19].

По усреднённым данным, в составе зерна ячменя содержание крахмала (60-68 %). В зерновке ячменя крахмал представлен двумя фракциями полисахаридов – амилоза и амилопектин, с процентным соотношением 15-20 % на 75-80 %, соответственно [5].

В зерновке ячменя может содержаться от 7 до 28 % белка, в зависимости от сорта, условий произрастания, агроклиматических условий. В своем составе белок содержит такие ценные аминокислоты как лизин и триптофан [5].

В ячмене содержится до 5% жиров по сухому весу, большая часть из которых (более 50%) являются триглицеридами - нейтральными жирами. Фосфолипиды составляют от 10 до 20% жиров, а гликолипиды менее 10%. Эти жиры находятся преимущественно в алейроновом слое (6-12% по сухому весу алейронового слоя) и зародыше (10-40% по сухому весу зародыша), в то время как эндосперм почти не содержит липидов (менее 2% от массы эндосперма).

Кроме жиров, ячмень содержит до 1,7% жирных кислот по сухому весу. Большая часть жирных кислот является ненасыщенными [20].

Ячмень является ценным источником многих важных витаминов, таких как D, A, PP, B1, B2. Например, 100 граммов ячменя содержит 0,4 мг витамина B1, 0,12 мг витамина B2 и 1,3 мг витамина PP. Витамины играют важную роль в поддержании жизненных процессов при проращивании ячменя, а также в росте дрожжей и брожения. Кроме того, они участвуют в построении некоторых ферментов [18].

Количество минеральных веществ в ячмене колеблется от 2,4 до 3,0 % на сухую массу зерновки. Основная часть минеральных веществ представлена фосфатами калия, кальция и магния. Количество этих веществ зависит от сорта ячменя и агротехнологии его выращивания, включая количество внесенных фосфорных удобрений [20].

### **1.3 Использование биотехнологических методов в селекции *Hordeum vulgare L.***

Серьезной проблемой традиционного направления селекции является длительный период выведения нового сорта [21]. Стабилизация гибридных линий посредством самоопыления требует временных рамок в 5-7 лет. Следовательно, разработка нового сорта занимает в среднем 10-12 лет, что представляет собой серьезную проблему для растущего населения нашей планеты [4].

Клеточные технологии, основанные на культивировании *in vitro* органов, тканей, клеток и изолированных протопластов высших растений, могут облегчить и ускорить традиционный процесс создания новых сортов и видов [22].

По сравнению с гибридизацией, культивирование клеток *in vitro* сохраняет ценное сочетание генов, достигнутое в результате предыдущей селекции. Вариации затрагивают лишь отдельные участки генома без изменения основного генетического фона [21]. По этой причине эти изменения обычно используют для улучшения отдельных признаков у существующих сортов [4]. В основе этих изменений лежит соматональная изменчивость [21].

Под термином «соматональная изменчивость» понимают разнообразный спектр генетической, цитогенетической, молекулярной изменчивости, обусловленный изменениями в ядерном или цитоплазматических геномах в результате культивирования *in vitro* [23].

Наличие полезных мутаций среди соматоклонов позволяет использовать соматональную изменчивость в создании нового исходного материала для селекции [21].

Для эффективного отбора клеток и тканей с желаемыми характеристиками используется клеточная селекция. Она включает выращивание клеток в селективных условиях, таких как питательные среды с повышенной концентрацией солей (для получения солеустойчивых вариантов), гербицидов (для получения устойчивых к гербицидам культур) и продуктов жизнедеятельности фитопатогенных микроорганизмов (для получения устойчивых к фитопатогенам вариантов). С помощью соматональных вариаций можно отобрать клетки с желаемыми характеристиками в строгих селективных условиях [4].

Метод клеточной селекции позволил получить устойчивые культурные формы для многих видов растений, которые более устойчивы к засолению, засухе, экстремальным температурам, кислым почвам, болезням и вредителям. Путем отбора на средах, содержащих токсические аналоги аминокислот, были получены растения, содержащие белки с повышенным содержанием ценных аминокислот или обогащенные белки с высоким содержанием белка [4].

Клеточная селекция - это эффективный метод селекции, который имеет множество преимуществ перед традиционными методами. В отличие от них, он не зависит от сезонности и позволяет экономить посевные площади. Кроме того, если рассматривать каждую клетку популяции как индивидуальный организм, то в одном опыте можно экспериментировать с миллионами особей [24].

Таким образом, клеточная селекция на основе культуры тканей является экономически эффективным инструментом для создания стресс-толерантных генотипов растений [21].

#### **1.4 Основные направления селекции *Hordeum vulgare* L. В Казахстане**

Ячмень – культура разностороннего использования. Большая часть урожая зерна ячменя используется на нужды животноводства, а также для приготовления разных видов крупы и является основным сырьем пивоваренной промышленности Казахстана [25].

В селекции ярового ячменя можно выделить следующие основные направления: селекция на устойчивость к фитопатогенам; селекция на устойчивость к засухе; селекция на скороспелость; селекция на продуктивность; селекция на устойчивость к полеганию; селекция на качество зерна. Конечным результатом селекционной работы является получение новых конкурентноспособных, высокоурожайных и адаптированных к местным условиям сортов, обладающих рядом хозяйственно ценных признаков, в соответствии с предъявляемыми требованиями производства к получаемой продукции [5].

#### **1.5 Селекция *Hordeum vulgare* L. на устойчивость к биотическим стрессовым факторам окружающей среды**

Ячмень одна из наиболее уязвимых культур для болезней: известно более 40 возбудителей болезней и несколько типов неинфекционных заболеваний [26].

В условиях Казахстана септориоз, пыльная головня и стеблевая ржавчина являются распространенными болезнями, которые наносят серьезный ущерб урожаю. Они приводят к снижению массы 1000 зерен, уменьшению количества зерен в колосе, что может сократить урожайность на 10-65% [3].

Существует множество способов борьбы с болезнями растений, но не все из них являются одинаково эффективными и экологически безопасными. Например, обработка семян фунгицидами может быть надежным и дешевым способом борьбы с болезнями, передающимися через семена. Однако, для борьбы с листовыми болезнями передающихся в основном воздушно-капельным путем, использование химических средств может быть неэффективным и даже вредным для экологии. В таких случаях более эффективным и экологически безопасным решением будет выведение новых болезнеустойчивых сортов [27].

В селекции ячменя на устойчивость к болезням и вредителям основная стратегия развития принадлежит созданию устойчивых к ним сортов [5].

В настоящее время более чем для 20 видов патогенов и вредителей ячменя известны генетические детерминанты устойчивости и их хромосомная локализация [26].

Сорта ячменя, несущие гены Rpt 1b, Rpt 5, Rpt 6 и Pt2, являются ценными донорами для обеспечения устойчивости к возбудителю сетчатой пятнистости. Доминантные гены Un играют роль в устойчивости к пыльной головне, а ген Un8 обеспечивает устойчивость к наиболее распространенным расам *U. nuda*. Изучение генов, таких как Ruh1, Ruh2 и Ruh6, показало, что они являются

наиболее эффективными и часто встречающимися генами, обеспечивающими устойчивость к *U. hordei*. В России ген *Rrs9* обеспечивает высокую резистентность к возбудителю ринхоспориоза, в то время как гены *Rrs4*, *rrs6* и *rrs7* теряют свою эффективность против популяций *Rhynchosporium commune* Zaffarano, B. A. McDonald & A. Linde [5].

### **1.6 Селекция *Hordeum vulgare* L. на устойчивость к абиотическим стрессовым факторам окружающей среды**

В связи с тем, что значительная часть территории Казахстана находится в зоне с ограниченным количеством атмосферных осадков, создание сортов ячменя, устойчивых к засухе и высоким температурам, имеет важное значение для успешного сельского хозяйства. Создание универсального сорта, который бы одинаково хорошо рос в любых климатических условиях, невозможно. Например, сорта, способные выживать в условиях весенней засухи, характерной для северных регионов Казахстана, могут оказаться неэффективными в южных регионах, где засуха наступает в летние месяцы и наносит серьезный ущерб урожаю [28].

Недостаток влаги оказывает отрицательное воздействие на все физиологические процессы растения. Он приводит к повышению концентрации ионов в цитоплазме клеток, что в свою очередь вызывает денатурацию белков и угнетение их ферментативной активности. В результате этого нарушается целостность клеточных мембран. Из-за снижения интенсивности фотосинтеза и транспирации уровень дыхания увеличивается, содержание углеводов в листьях понижается. Это влияет на общий гомеостаз, что приводит к замедлению или остановке роста растения и снижению его продуктивности [21].

В ответ на абиотический стресс растения начинают проявлять значительные изменения в морфологических и физиолого-биохимических процессах, вызывая экспрессию большого числа генов. Однако, для того чтобы восстановить внутренний гомеостаз и клеточную активность растений, одного гена может оказаться недостаточно. Поэтому особую роль приобретают гены, связанные с несколькими метаболическими путями, которые включают в себя транскрипционные факторы, регулирующие экспрессию генов стрессоустойчивости. Большинство факторов транскрипции выделены в различные семейства, такие как AP2/ERF, bZIP, NAC, MYB, MYC, Cys2 His2, zinc-finger, и WRKY, и все они регулируют экспрессию стресс-чувствительных генов [5].

Внедрение клеточных технологий в селекционный процесс значительно увеличивает эффективность повышения устойчивости растений к абиотическим стрессам. Это достигается за счет выращивания изолированных тканей и клеток на специальных селективных средах *in vitro*. Так, разработаны и успешно применяются методики отбора регенеративных, каллусных линий ячменя,

способных в последующем стать новыми, высокоурожайными и конкурентноспособными сортами [5].

Так же одной из проблем современного аграрного производства является загрязнение тяжелыми металлами почв. Кадмий является одним из самых высокоопасных загрязнителей, способных накапливаться в растениях даже при низких концентрациях иона в почвенном растворе [21].

Повышенная подвижность тяжелых металлов в кислых почвах приводит к обширным патологическим изменениям во многих тканях растительного организма. Несмотря на различие физиологических механизмов, все тяжелые металлы нарушают окислительно-восстановительные процессы в клетках растений, что приводит к снижению усвоения основных элементов питания. В результате возникает подавление развития корневой системы, уменьшение интенсивности дыхания и фотосинтеза, хлороз листьев и возможная гибель растения [29].

Различные виды растений имеют специфические механизмы детоксикации для каждого тяжелого металла, что позволяет им проявлять видовую и сортовую устойчивость. Однако существуют также общие механизмы защиты от избыточного содержания металлов в почве, включая удержание ионов либо их удаление за пределы метаболически активных органов (например, вакуоля), а также трансформацию металлов в инертные формы. Помимо специфических, растения используют и неспецифические механизмы защиты, которые работают в условиях высокой концентрации химических веществ в почве [29].

У ячменя, наличие кадмия влияет на уровень транскриптов генов HvHMA2 и HvHMA3, при этом наблюдаются органоспецифические и возрастные различия. Исследования показали, что у трехдневных проростков увеличивалось содержание транскриптов гена HvHMA3 в корне, что способствовало изоляции токсичных ионов в вакуоли и препятствовало их перемещению в надземные органы. В свою очередь, у семидневных проростков увеличивалось содержание транскриптов гена HvHMA2 в листьях, что приводило к усилению поступления ионов кадмия во флоэму и активизации их транспорта из листьев в корни [21].

В условиях кислой реакции почвы ее водно-физические характеристики ухудшаются, емкость катионного обмена снижается, что приводит к увеличению концентрации ряда химических элементов. Эти элементы могут достигнуть уровня, который является токсичным для многих живых организмов. Кроме того, в таких условиях алюминий переходит в водорастворимое состояние ( $Al^{3+}$ ), что делает его легкодоступным для растений [21].

Высокая концентрация алюминия в почвенном растворе существенно влияет на рост растений. Несмотря на то, что низкие концентрации ионов  $Al^{3+}$  стимулируют рост, увеличение концентрации металла в почвенном растворе приводит к негативным последствиям для растений. Эффект токсичности проявляется на различных уровнях, включая морфологические, физиологические, клеточные и молекулярные. Наиболее чувствительны к присутствию алюминия в растениях первые стадии развития, особенно при общем недостатке элементов питания. Алюминий приводит к деформации



корневой системы и замедлению роста тонких корней, что ведет к нарушению углеводного, азотного и фосфатного обменов и снижению поступления в растения ионов Ca, Mg, K, P, Fe. Нарушение корневого питания также уменьшает потребление воды и повышает чувствительность растений к засухе. При таких условиях урожайность зерновых культур, включая ячмень, снижается [21].

Согласно исследованиям, существуют два генетически обусловленных механизма устойчивости к алюминию: внешний и внутренний. Внешний механизм заключается в препятствии поступления алюминия в клетки корня, а внутренний - в детоксикации алюминия в клетках корней. Исследования показали, что наличие генов транспортеров органических кислот может способствовать повышению толерантности к ионам  $Al^{3+}$ . Кроме того, было обнаружено, что суперэкспрессия гена мембранного транспортера цитрата в ксилему HvAACT1 способствует повышению алюмоустойчивости ячменя. Эти результаты могут привести к разработке новых методов улучшения устойчивости растений к алюминию и повышению урожайности зерновых культур [21].

### **1.7 Использование молекулярных маркеров в селекции ячменя**

Маркер-вспомогательная селекция (MAS) – селекция, использующая отбор с помощью молекулярных маркеров (или ДНК-маркеров) [30]. Принцип MAS основан на определении тесной связи между маркером и геномом, который управляет определенным признаком. Эти связи могут быть использованы для создания новых сортов и линий путем комбинации традиционных методов селекции, таких как скрещивание, беккроссирование, самоопыление и отбор. Поэтому использование ассоциаций маркеров и признаков является основополагающим принципом MAS, который позволяет эффективно создавать новые генотипы [31].

Использование ДНК-маркеров значительно ускоряет и упрощает процесс создания новых сортов растений. Благодаря возможности отбирать растения на любых стадиях развития для анализа, включая ранние стадии, объем работы и материалов для анализа значительно сокращается. Это позволяет более эффективно проводить селекционный процесс и создавать новые сорта растений в более короткие сроки [30].

Использование маркеров, которые тесно связаны с целевым геном, является надежным инструментом для предсказания фенотипа. При поиске необходимого аллеля целевого гена, основным методом является использование аллелей ближайшего маркерного локуса, который тесно связан с этим геном. Однако, использование пары маркеров, расположенных близко к геному с обеих его сторон, позволяет достичь более высокой точности при отборе [32].

Для того, чтобы маркер мог быть использован для "непрямой" селекции генов/QTLs, он должен обладать определенными характеристиками:

– широкий полиморфизм, чтобы быть распространенным по всему геному и не иметь связи с условиями окружающей среды;

– кодоминантное наследование, что позволяет выявлять генотипы в гомо- и гетерозиготном состоянии;

– доступность маркера, его низкая стоимость, простота и надежность метода, а также возможность воспроизведения анализа в любое время [31].

Для успешной реализации MAS необходимо, чтобы маркеры были тесно связаны с целевым признаком, а молекулярно-генетические карты были насыщенными. Наличие минимум трех маркеров необходимо для выявления ассоциаций между маркером и признаком: один из них должен косегрегировать с признаком, а два других должны фланкировать донорский генотип и быть эффективными для этапа рекомбинационной селекции [31].

За счет ряда уникальных биологических особенностей ячмень является одним из наиболее перспективных объектов для молекулярно-генетических и геномных исследований в семействе злаковых. Он характеризуется относительно коротким жизненным циклом, самоопылением и диплоидным геномом, что способствует более динамичному продвижению в данной области, чем у других злаковых [32].

Благодаря внедрению сортов с геном Rpg1 потери урожая из-за стеблевой ржавчины (возбудитель – базидиальный гриб *Puccinia graminis Pers.*) в последние 70 лет были минимальны [32].

Существует более 100 генов, ответственных за устойчивость ячменя к мучнистой росе, большинство из которых являются аллелями. Например, ген Mla имеет 34 аллеля, а ген Mlo – более 30 аллелей. Тем не менее, культурный ячмень в Мировой коллекции ВИР демонстрирует очень низкое генетическое разнообразие в отношении устойчивости к мучнистой росе. Для обнаружения устойчивости к этому возбудителю на практике часто используют ген mlo11, который обеспечивает длительную устойчивость к патогену во всем мире [32].

Открытие в ячмене гена HvMYB1, ответственного за устойчивость растения к засухе, поможет повысить урожайность зерновых культур, которые испытывают на себе негативное воздействие изменения климата [32].

На данный момент обнаружено и откартировано большое количество генов и локусов, связанных с устойчивостью ячменя к различным токсинам, включая ионы алюминия, бора, марганца и кадмия. Например, ген HvAACT1 содержит несколько мутаций, которые связаны с алюмоустойчивостью. Разработанные маркеры, такие как 1kb-insertion, HvMATE21indel и Cit7, позволяют определить фенотипическую изменчивость с высокой точностью и эффективностью [30].

Таким образом, методы маркер-ориентированной селекции являются эффективным средством ускорения селекционных процессов в растениеводстве. Они позволяют выбирать нужные гены и генотипы с точностью до одного нуклеотида, что существенно повышает эффективность и точность выбора. Эти методы широко используются в селекции на устойчивость к фитопатогенам и

вредителям, а также в других областях растениеводства, таких как повышение урожайности и качества продукции [32].

## **1.8 Использование ячменя в производстве солода**

Производство пива – сложный процесс, в основе его лежат главным образом биохимические превращения веществ зерна при соложении, многообразные ферментативные процессы метаболизма дрожжей при брожении и дображивании [33].

Качественные показатели используемого сырья и технологические параметры производства солода оказывают существенное влияние на эффективность производства пива. Основным сырьем для производства пива является солод, который получают из ячменя. Чтобы определить пригодность ячменя для пивоваренного производства, необходимо учитывать ряд признаков, отражающих его качество [33].

Ключевым показателем пригодности ячменя для пивоварения является экстрактивность ячменного зерна. Этот показатель определяет количество сухих веществ в ячменном зерне, которые могут раствориться в воде при помощи ферментов ячменного солода. Крахмал является основным экстрактивным веществом, причем высокое содержание крахмала обычно соответствует низкой белковости. Существует несколько градаций экстрактивности: очень низкая (75,0-75,9%), низкая (76,0-77,9%), средняя (78,0-79,9%), высокая (80,0-81,0%) и очень высокая (более 81,0%). Этот показатель является важным при выборе ячменя для использования в производстве пива [5,33].

В пивоварении широко применяется ячмень, содержащий от 60% до 70% крахмала. Научные исследования показали сильную корреляцию между содержанием крахмала и экстрактивностью ячменя, а также между содержанием белка и экстрактивностью. Чем выше содержание крахмала, тем выше экстрактивность, и наоборот, чем выше содержание белка, тем ниже экстрактивность ячменя. Это свидетельствует о значимости этих показателей при выборе сортов пивоваренного ячменя [5].

Одним из важных показателей качества зерна пивоваренного сорта ячменя является содержание в нем белка. содержание белка в зерне пивоваренного ячменя не должно превышать 12 % [33].

При избыточном содержании белка в ячмене снижается выход пива, ухудшается его коллоидная стойкость и повышается риск размножения вредоносных микроорганизмов. Однако, исследования показывают, что для определения качества пивоваренного ячменя необходимо учитывать не только его количественную характеристику, но и качественный и количественный состав белковых фракций. От качества белка зависят такие характеристики пива, как его пенообразующая способность, пеностойкость, питание дрожжей и, соответственно, интенсивность брожения. Биохимические превращения,

которые происходят при производстве солода и пива, также оказывают влияние на качество готового напитка [34].

Также важно учитывать пленчатость зерна при оценке качества ячменя для производства пива. Высокое содержание внешних оболочек может негативно сказаться на экстрактивности зерна и привести к ухудшению вкуса из-за наличия горьких веществ в оболочке. Поэтому при выборе пивоваренных сортов ячменя необходимо обращать внимание на пленчатость зерна, которая не должна превышать 9% [35].

Для того чтобы получить качественный солод, необходимо использовать крупное зерно, которое должно быть выровнено по размеру. Крупное зерно содержит меньше оболочек и больше питательных веществ, а также равномерно замачивается и лучше растворяется в процессе соложения. При этом для зерна первого класса крупность должна превышать 85%, а для зерна второго класса не должна быть ниже 60% [35].

Также к числу учитываемых показателей для зерна пивоваренных сортов ячменя относятся: цвет, запах, состояние зерна, влажность, сорная и зерновая примеси, поражение болезнями и вредителями, натура, содержание белка, крупность, жизнеспособность, масса 1 000 зёрен [5].

Ячмень должен иметь блестящую, светло-желтую, желтую или серовато-желтую поверхность. Если зерно заражено плесенью или было убрано неправильно (при влажной погоде и зерно было мокрым), то оно может иметь серый, желтовато-коричневый, красно-желтый цвета [19,20].

Запах здорового зерна – аналогичен запаху свежей ячменной соломы. Не допускается присутствие затхлого, солодового, плесневого и других не свойственных ячменю запахов. Ячмень, убранный под дождем, обладает затхлым запахом, который удерживается и в готовом солоде после сушки [19,20].

## **1.9 Получение и использование андрогенных гаплоидов ячменя**

Явление андрогенеза *in vitro* было открыто около 50 лет назад. Этот биологический феномен состоит в образовании растения из морфогенетически компетентной клетки пыльника, микроспоры, в которой под действием стрессовых факторов происходит переключение программы развития с гаметофитного пути (образование пыльцевого зерна) на принципиально иной спорофитный путь. В процессе культивирования микроспора делится, давая начало биполярной зародышеподобной структуре (эмбриоиду), которая развивается в гаплоидное растение-регенерант. Этот метод получения гаплоидов *in vitro* является более эффективным и удобным, поскольку он основан на генетически однородном материале и не требует сложных процедур пересадки каллусной ткани, которые зачастую не способны к морфогенезу [36].

Получение андрогенных гаплоидов основано на культивировании пыльников на питательной среде. Гаплоидные микроспоры, подвергнутые

аномальному многократному делению, образуют морфогенные структуры, которые позднее превращаются в растения-регенеранты [37].

Применение гаплоидов основано на следующих положениях:

– гаплоиды содержат только один набор генов, что делает их особенно полезными для мутационной селекции, так как рецессивные аллели проявляются более выразительно.

– гаплоиды могут быть удвоены, образуя гомозиготные диплоиды, что упрощает процесс селекции и позволяет сократить время на создание линий.

– генетическое расщепление у гаплоидов менее сложно, и для выделения определенной комбинации генов нужна меньшая популяция [36].

В конце прошлого века получение андрогенных гаплоидов было достигнуто у большинства выращиваемых культур, включая ячмень. Были проведены многочисленные эксперименты, направленные на изучение факторов, которые влияют на андрогенез. Исходя из литературных исследований, было установлено, что морфогенез в культуре пыльников *in vitro* зависит от генотипа растения-донора пыльников и от условий, в которых происходит получение гаплоидов [38].

Изучение процесса индукции гаплоидов в культуре пыльников и изолированных микроспор показало, что эффективность этого процесса зависит от многих факторов, таких как условия выращивания растений-доноров пыльников, предобработка эксплантов при различных температурных режимах, а также состав питательных сред и растворов осмотически или физиологически активных веществ [39].

## **2 Условия культивирования растений *in vitro***

### **2.1 Условия асептики**

Все операции, связанные с разливом питательных сред, пересадкой (пассированием) каллусов, вычленением эксплантов ведут в специальных комнатах или ламинарных боксах, где обеспечиваются стерильные условия работы [40].

Для обеспечения стерильности в работе с растительными эксплантатами необходимо выполнить ряд процедур. В первую очередь, все поверхности ламинара должны быть обработаны 96% спиртом, а инструменты, которые будут использоваться для работы, должны быть простерилизованы и помещены на стол ламинара, а затем включено УФ-излучение на 20 минут. После этого следует выключить УФ-излучение и включить биофильтры. Для работы в ламинарном боксе следует надеть стерильный халат и шапочку, а руки необходимо обработать спиртом. Пинцеты, скальпели и препарировальные иглы следует поместить в стакан с 96% спиртом, а перед каждой манипуляцией инструменты следует обжигать на пламени спиртовки. Нарушение стерильности может привести к развитию микроорганизмов, таких как грибы и бактерии, которые могут нарушить состав среды и подавить рост растительных эксплантов [22].

Для подготовки стерильных питательных сред, не содержащих термолабильных веществ, применяется метод автоклавирования при давлении 0,5-1 атмосферы. Длительность стерилизации зависит от объема среды в сосуде. Если это культуральные сосуды с объемом среды от 25 до 50 мл, то стерилизация должна проводиться в течение 15-20 минут. Если же объем сосуда достигает от 2 до 4 литров, то необходимо увеличить время стерилизации до 30-40 минут [41].

При работе с растительными эксплантатами необходимо учитывать, что на их поверхности может находиться эпифитная микрофлора, которая может привести к заражению. Для того чтобы избежать этого, проводят поверхностную стерилизацию растительных тканей. Для стерилизации растительных эксплантов применяют растворы соединений, содержащих активный хлор (например, хлорамин, гипохлорит кальция и натрия, сулема), бромную воду, диацид, перекись водорода, спирт или антибиотики. Выбор конкретного метода стерилизации зависит от типа экспланта и его чувствительности к используемым растворам [41].

### **2.2 Подбор питательной среды**

Основными компонентами питательных сред являются минеральные соли (макро- и микроэлементы), источник углеводного питания (сахароза), витамины и регуляторы роста (фитогормоны). Среда по консистенции бывает твердыми или агаризованными, и жидкими, в зависимости от цели исследования. Для приготовления твердых питательных сред используется агар-агар [40].

В состав питательных сред также должны быть включены минеральные соли. Это соединения азота в виде нитратов, нитритов, солей аммония; фосфора – в виде фосфатов; серы – в виде сульфатов; а также растворимых солей  $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$  [22].

Питание большинства культивируемых тканей является гетеротрофным, следовательно, обязательным компонентом питательных сред является источник углерода и энергии [41].

В качестве источника углерода используют углеводы типа сахарозы, глюкозы, фруктозы, галактозы [22].

Большинство тканей, культивируемых *in vitro*, способны синтезировать все необходимые для жизнедеятельности витамины. Но на начальных этапах – при введении в культуру, обязательно добавлять витамины [40]. Используются витамины группы В (В1, В6, В12), С (аскорбиновую кислоту), РР (никотиновую кислоту), мезоинозит [22].

Значение рН среды влияет на стойкость и усвояемость ряда составляющих. Значение рН большинства растительных тканей лежит в пределах от 5,0 до 7,0 [40].

Для контроля над формообразованием в культуре тканей необходимы фитогормоны - биологические регуляторы роста и развития. Эти вещества играют важную роль в дифференциации и дедифференциации клеток и тканей, инициируют гистогенез, стимулируют деление и растяжение клеток, участвуют в процессах старения и созревания, а также могут стимулировать или ингибировать рост и развитие клеточных культур и формирование пола. В биотехнологических исследованиях наиболее распространены фитогормоны, стимулирующие рост и развитие, такие как ауксины, цитокинины и гиббереллины [22].

### **2.3 Физические факторы культивирования растений *in vitro***

Растения, выращиваемые в условиях *in vitro*, зависят от ряда внешних физических факторов, включая температуру, свет, влажность и аэрацию. Одним из наиболее важных факторов является влажность в культуральной комнате, которая должна быть в диапазоне от 60% до 70%. Если воздух слишком сухой, то это может привести к усыханию питательной среды в пробирках и колбах, если они закрыты ватными пробками, изменению ее концентрации и неправильным условиям культивирования [41].

Для культивирования растений *in vitro* обычно поддерживается температура около 25С° [41].

Важное значение для успешного выращивания клеток имеет аэрация. Суспензионная культура без аэрации вообще не может существовать. компетенцией [24].

### 3 Результаты исследований и их обсуждения

#### 3.1 Методика проведения эксперимента

Лабораторные работы проводились в лаборатории Биотехнологии в Технопарке под руководством доктора биологических наук, профессора Анапияева Б.Б.

В исследовании были использованы сорта ярового ячменя «Арна» и «Сауле». В качестве эксплантов были использованы пыльники растения.

Предварительно стебли *Hordeum vulgare* L. Подвергались холодной предобработке. Стебли сорта «Сауле» охлаждались в течении четырех суток, а стебли сорта «Арна» в течении двух суток при температуре 7° С.

Поверхности колосьев на стадии трубкования обрабатывались 96% спиртом, затем из колосьев были выделены пыльники (рисунок 2).



Рисунок 2 – колосья на стадии трубкования

Выделенные пыльники были посажены на агаризованные питательные среды МС и среду Гамборга В5 с добавлением фитогормонов 2,4-Д и БАП соответственно (рисунок 3). Пыльники, выделенные из одного колоса, были посажены на 2 типа питательных сред (рисунок 3). Таким образом, можно вернее судить о влиянии типа питательной среды на культивирование эксплантов.





Рисунок 3 – Выделенные пыльники *Hordeum vulgare L.*

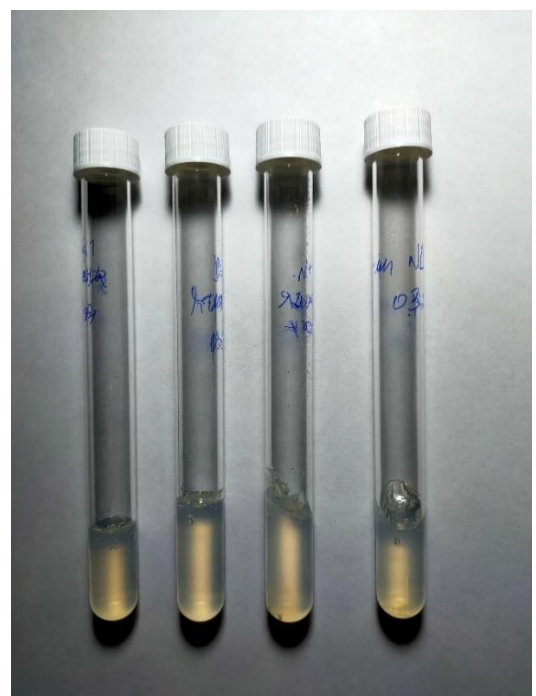


Рисунок 4– Пыльники ячменя, посаженные на питательные среды МС и Гамборга В5.

Пробирки с пыльниками, высаженными на питательные среды, хранились в термостате при температуре 22°C без доступа света (рисунок 5).

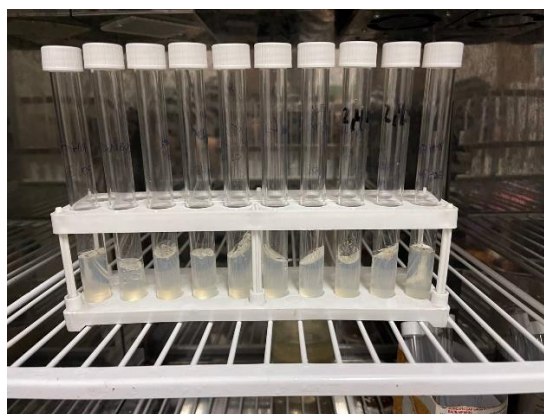


Рисунок 5 – пробирки с пыльниками в термостате

### 3.2 Состав питательных сред

Ниже в таблице 1 и 2 представлены составы модифицированных питательных сред Мурасиге-Скуга и Гамборга В5, использованных в исследовании по изучению влияния состава питательных сред на частоту образования каллуса в культуре *in vitro* ячменя (*Hordeum vulgare* L.)

Таблица 1 – состав питательной среды Мурасиге-Скуга

Компонент	Формула	Концентрация (мг/л)
Соли		
Нитрат калия	$KNO_3$	1900
Нитрат аммония	$NH_4NO_3$	1650
Хлорид кальция	$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	440
Сульфат магния	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	370
Фосфат калия	$KH_2PO_4$	170
Фосфат натрия	$NaH_2PO_4 \cdot H_2O$	17
Микроэлементы		
Сульфат железа	$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	27
Сульфат марганца	$MnSO_4 \cdot 4H_2O$	2.2
Сульфат цинка	$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	8.6
Сульфат меди	$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	0.025
Молибдат натрия	$Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$	0.25
Борная кислота	$H_3BO_3$	6.3

Компонент	Формула	Концентрация (мг/л)
Глицин		2.0
Никотиновая кислота		0.5
Пиридоксин		0.5
Тиамин		1.0
2.4-Д		2.0
Сахароза		30 000

Таблица 2 – состав питательной среды Гамборга В5

Компонент	Формула	Концентрация (мг/л)
Соли		
Нитрат аммония	$\text{NH}_4\text{NO}_3$	2500
Хлорид кальция	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	150
Сульфат магния	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	250
Сульфат аммония	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	130
Сульфат железа	$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	27.95
Фосфат натрия	$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	150
Сульфат марганца	$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	10
Сульфат цинка	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	2.0
Йодид калия	KI	0.75
Сульфат меди	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.025
Молибдат натрия	$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.25
Борная кислота	$\text{H}_3\text{BO}_3$	3.0
Глицин		2.0
Никотиновая кислота		1.0
Пиридоксин		1.0
Тиамин		10.0
БАП		2.0
Сахароза		30 000

### 3.3 Результаты и обсуждения

Эффективность андрогенеза оценивалась числом пыльников с новообразованиями (эмбриодами, калуссом в процентах от общего числа высаженных пыльников (рисунок б).

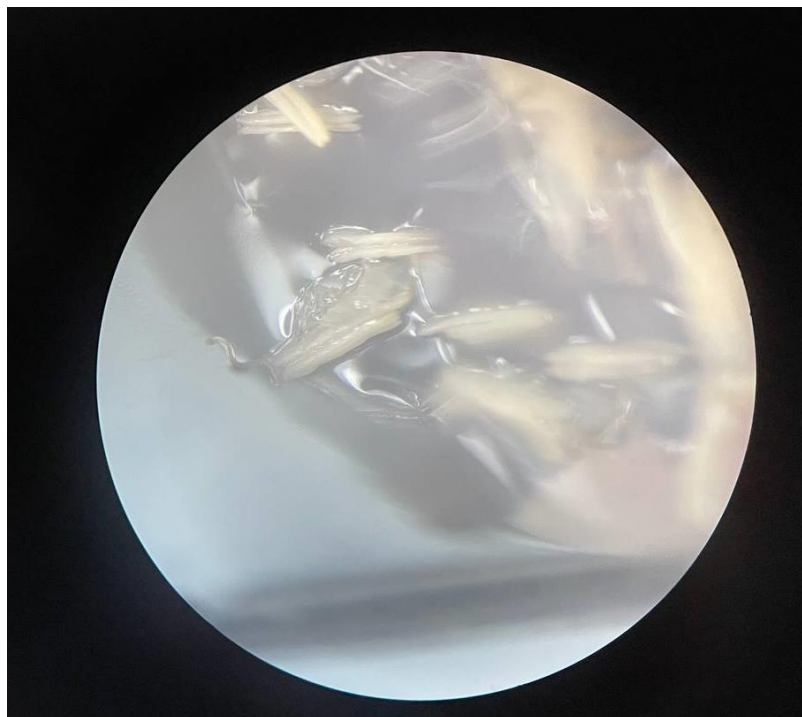


Рисунок б– каллус, образованный из пыльников *Hordeum vulgare L.*

Данные об эксперименте приведены в таблице 3.

Таблица 3 – Изучение влияния состава питательных сред на частоту процессов каллусогенеза в культуре изолированных пыльников ячменя

№	Генотип	К-во пыльников	К-во каллусов	%	Холодовая предобработка	Среда
1	Сауле	218	7	3,21	4	МС
2	Сауле	342	5	1,46	4	В5
3	Арна	66	1	0,66	2	МС
4	Арна	180	2	1,11	2	В5

Полученные результаты позволяют заключить, что для сорта ячменя «Сауле» более оптимальной, в подобранных нами условиях, является среда МС, где частота каллусообразования составила 3.21%. Для сорта «Арна» более подходящей стала среда Гамборга В5, где частота каллусогенеза составила 1.11%.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате выполненной дипломной работы были получены следующие результаты:

1. Ячмень обыкновенный (*Hordeum vulgare L.*) был введен в культуру *in vitro* и были оптимизированы условия для культивирования изолированных клеток ячменя (*Hordeum vulgare L.*) в условиях *in vitro*;
2. Изучены факторы, влияющие на частоту процессов каллусогенеза в культуре изолированных пыльников ярового ячменя (*Hordeum vulgare L.*) в условиях *in vitro*;
3. Для сорта ярового ячменя сорта «Сауле» в наших условиях оптимальными были среда Мурасиге-Скуга, где частота каллусогенеза составила 3,21 %. Для сорта ярового ячменя сорта «Арна» оптимальной было среда Гамборга В5, где частота каллусогенеза составила 1,11 %.

## **ПЕРЕЧЕНЬ ПРИНЯТЫХ СОКРАЩЕНИЙ**

БАП-6 – бензиламинопурин

2,4-Д – 2,4-дихлорфеноксисукусная кислота

MAS – маркер вспомогательная селекция

B1 - тиамин

B2 - рибофлавин

B6 – пиридоксин

C – аскорбиновая кислота

PP – никотиновая кислота

MC – Мурасиге-Скуга

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Исходный материал для селекции ярового ячменя в условиях Центрального Казахстана М.В. Абрамова, Г.А. Середина, Р.С. Порхун, Л.А. Кротова // Вестник Алтайского государственного аграрного университета № 11 (145), 2016. – С. 5-10.
- 2 И.В. Танасиенко Оценка эффективности каллусообразования и регенерации яровых сортов ячменя, районированных на территории Украины // Цитология и генетика. 2009. №4. – С. 12-19.
- 3 Результаты экологического изучения сортообразцов ярового ячменя международной коллекции в условиях Центрального и Северного Казахстана А.А. Байдюсен, Р.Ж. Кушанова, С.А. Джатаев // Вестник Алтайского государственного аграрного университета № 1 (195), 2021. – С. 21-28.
- 4 Решетников В.Н., Спиридович Е.В., Носов А.М. Биотехнология растений и перспективы её развития // Физиология растений и генетика. 2014. Т. 46, № 1. – С. 3-18.
- 5 Тетяников Н. В., Боме Н. А. Генетические ресурсы ячменя и их использование в селекции: монография // 2022. – 215 с.
- 6 Трофимовская А. Я. Ячмень (эволюция, классификация, селекция). – Л.: Колос, 1972. – 296 с.
- 7 Демина Ю. С., Никитенко Г. Ф. Ячмень – М: Колос. 1973. – 255с.
- 8 Посыпанов Г. С., Долгодворов В. Е., Жеруков Б. Х. и др. Растениеводство / под ред. Г. С. Посыпанова. – М: КолосС, 2007. – 612 с.
- 9 Вавилов П.П. Практикум по растениеводству/П.П. Вавилов, В.В. Гриценко, В.С. Кузнецов; Под ред. П.П. Вавилова. – М.: Колос, 1983. – 352с.
- 10 Никляев В.С. Основы технологии сельскохозяйственного производства. Земледелие и растениеводство/под ред. В.С. Никляева. – М.: «Былина», 2000. – 555с.
- 11 Шпаар Д. Зерновые культуры (Выращивание, уборка, доработка и использование)/ Д. Шпаар. – Издательство: ИД ООО «DLV АГРОДЕЛО», 2008. – 656 с.
- 12 Фирсов И.П. Технология растениеводства/И.П. Фирсов, А.М. Соловьев, М.Ф. Трифонова. – М.: КолосС, 2006. – 472 с.
- 13.Коледа К.В. Современные технологии возделывания сельскохозяйственных культур: рекомендации / К.В. Коледа и др.; под общ. ред. К.В. Коледы, А.А. Дудука. – Гродно: ГГАУ, 2010 – 340 с.
- 14 Растениеводство. Хлеба 1-й группы: учебно-методическое пособие / С. С. Камасин, В. Г. Тарануха. – Горки: БГСХА, 2018. – 103 с.
- 15 Стрижова Ф.М. Растениеводство: учебное пособие/Ф.М. Стрижова, Л.Е. Царева, Ю.Н. Титов. – Барнаул: Изд-во АГАУ, 2008. – 219 с.
- 16 Перспективная ресурсосберегающая технология производства ярового ячменя: Метод. рекомендации. — М.: ФГНУ «Росинформагротех», 2009. – 60 с.
- 17 Долгачева В. С. Растениеводство / В. С. Долгачева. – М.: Издательский центр «Академия», 1999. – 368 с.

- 18 Типсина Н. Н., Пуляева О. С. Биологическая ценность продуктов переработки ячменя // Вестник КрасГАУ. – 2013. – №8. – С. 226-229.
- 19 Общая промышленная биотехнология: Технология бродильных производств: Учеб. Пособие / Н.Ф. Клещев, М.П. Бенько. – Харьков: НПУ «ХПИ», 2007. – 200с.
- 20 Меледина Т.В., Прохорчик И.П., Кузнецова Л.И. Биохимические процессы при производстве солода: Учеб. пособие. – СПб.: НИУ ИТМО; ИХиБТ, 2013. – 89 с.
- 21 Шуплецова О. Н. Селективные системы для получения генотипов ячменя с комплексной устойчивостью к почвенным стрессовым факторам – Дис. кан. биол. наук. - ФГБНУ ФАНЦ Северо-Востока, 2019. – 291 с.
- 22 Основы биотехнологии растений Широков А.И., Крюков Л.А. Электронное учебно-методическое пособие. – Нижний Новгород: Нижегородский госуниверситет, 2012. – 49 с.
- 23 Першина Л. А. Основные методы культивирования *in vitro* в биотехнологии растений: Учеб. пособие. 2-е изд., перераб. и доп. / Новосиб. гос. ун-т. Новосибирск, 2005. –142 с.
- 24 Учебно-методическое пособие для самостоятельной работы студентов по дисциплине «Основы биотехнологии: биотехнология растений» / С.К. Турашева, С.Б. Оразова, Г.Ж. Валиханова – Алматы: Қазақ университеті, 2014. – 258 с.
- 25 Направления селекции ячменя в Казахском НИИ земледелия и растениеводства и их результаты за последние 30 лет [Электронный ресурс] / Казахский научно-исследовательский институт земледелия и растениеводства; под ред. Ш.Т. Каракозы, С.К. Зейнолдиной. - Алматы, 2020. - Режим доступа: <https://kazniizr.kz/napravleniya-selektsii-yachmenya-v-kazahskom-nii-zemledeliyai-rastenievodstva-i-ih-rezultaty-za-poslednie-30-let/> (дата обращения: 30.04.2023)
- 26 Современное состояние исследований генетики устойчивости ячменя к болезням Афанасенко О.С. // Труды по прикладной ботанике, генетики и селекции. – Т.171. СПб.: ВИР, 2013. – С. 3-8.
- 27 Эффективная устойчивость ячменя к листовым грибным болезням (карликовая ржавчина, мучнистая роса, темно-бурая листовая пятнистость) Л.Г. Тырышкин, М.Э. Гашимов, Н.С. Петров // Труды по прикладной ботанике, генетики и селекции. – Т.171. СПб.: ВИР, 2013. – С. 57-60.
- 28 Селекция ячменя на юге и юго-востоке Казахстана Сариев Б.С., Абугалиева А.И. // Алматы: 2012. –140 с.
- 29 Шуплецова О. Н., Широких И. Г. Повышение устойчивости ячменя к токсичности металлов и осмотическому стрессу путем клеточной селекции. Зерновое хозяйство России. 2015. –С. 57-62.
- 30 Молекулярные маркеры в селекции сортов ячменя, устойчивых к ионной токсичности (обзор) Н. В. Новоселова, А. В. Бакулина // Agricultural Science Euro-North-East, 2020;21(1):07-17.



31 Молекулярные маркеры: использование в селекции зерновых культур для идентификации, интрогрессии и пирамидирования генов И.Н. Леонова // Вавиловский журнал генетики и селекции, 2013. Том 17, №2. С. 314-325.

32 Возможности маркер-ориентированной селекции для создания сортов ячменя, устойчивых к биотическим и абиотическим факторам (обзор) А.А. Новикова, О.В. Богданова // Животноводство и кормопроизводство Т. 104 № 1. 2021. – С. 138-148.

33 Влияние сортов пивоваренного ячменя на качество пива Калмыкова Е. В., Ефремова Е. Н., Хоссаин А. // Вестник АПК Ставрополя №4(16), 2014. – С. 52-55.

34 Фракции белка пивоваренного ячменя Г.В. Шабурова // Пиво и напитки. 2004. – №3. – С. 18.

35 Продуктивность и качество пивоваренного ячменя Е.М. Титова, М.А. Внукова // Вестник ОрелГАУ 3'(08), 2008. – С. 5-8.

36 И.В. Голованова Экспериментальная гаплоидия у мягкой пшеницы *Triticum aestivum* L. // «Проблемы ботаники Южной Сибири и Монголии» – XI П Международная научно-практическая конференция / Барнаул. 2014. – С. 60-63.

37 Эффективность получения андрогенных гаплоидов ячменя в зависимости от способа регенерации растений, состава питательной среды и плотности инокуляции пыльников Е.В. Белинская // Известия Самарского научного центра Российской академии наук 22350 Т0 35, № 5 – С. 1571-1574.

38 Наследование способности к андрогенезу *in vitro* у ярового ячменя Е.В. Белинская // Цитология и генетика. № 4. 2008. – С. 27-37.

39 Проявление генотипических особенностей морфогенеза в культуре пыльников ярового ячменя Е.В. Белинская // Цитология и генетика. 2010. № 2 – С. 38-44.

40 Авксентьева О. А., Петренко В. А. Биотехнология высших растений: культура *in vitro* – учебно-методическое пособие. – Х.: ХНУ имени В. Н. Каразина, 2011. – 60 с.

41 Т.И. Дитченко Культура тканей и органов растений // курс лекций. – БГУ–Минск. 2007. – 102с.

## РЕЦЕНЗИЯ

на дипломную работу

Амантаевой Аружан Саматовны

6B05101 – «Химическая и биохимическая инженерия»

На тему: Культивирование соматических клеток *Hordeum vulgare* L.

- а) графическая часть на 5 листах
- б) пояснительная записка на 30 страницах

### ЗАМЕЧАНИЯ К РАБОТЕ

Тема дипломной работы Амантаевой А.С. «Культивирование соматических клеток *Hordeum vulgare* L.» является очень актуальной и посвящена исследованию факторов влияющих на частоту процессов каллусогенеза в культуре изолированных клеток ячменя.

Цели и задачи сформулированы точно в соответствии с темой дипломной работы. Теоретическая часть работы была обоснована с использованием обширной базы литературных источников.

В процессе проведенных исследований были выявлены основные факторы, которые влияют на частоту процессов каллусогенеза в культуре изолированных клеток ячменя *Hordeum vulgare* L.

Научные данные, полученные в ходе проведенных исследований, соответствуют поставленной цели и задачам исследования. Дипломная работа соответствует требованиям государственного стандарта, направлению и профилю профессиональной подготовки студента.

Существенных недостатков работа не имеет.

### Оценка работы

Подводя итог можно отметить, что тема дипломной работа Амантаевой А. очень актуальна, отличается теоретической и практической ценностью. Считаю, что дипломная работа Амантаевой Аружан соответствует всем требованиям для присвоения квалификации бакалавр по специальности 6B05101 – «Химическая и биохимическая инженерия» и заслуживает очень высокой оценки «Отлично» - 97 %.

### Рецензент

Доктор Ph.D., профессор

Кафедры «технология и безопасность

Пищевых продуктов» КазНТУ

«ЗЕРТТЕУ УНИВЕРСИТЕТІ» КЕАҚ  
Искакова К.М.  
«30» \_\_\_\_\_ 2023  
«ЗООИНЖЕНЕРИЯ ЖӘНЕ ТАҒАМ  
ӨНДІРІСІНІ ТЕХНОЛОГИЯСЫ»  
ФАКУЛЬТЕТІ

## ОТЗЫВ

### НАУЧНОГО РУКОВОДИТЕЛЯ

На Дипломную работу

Амантаевой Аружан Саматовны

6B05101 – «Химическая и биохимическая инженерия»

Тема: «Культивирование соматических клеток *Hordeum vulgare* L.»

Дипломная работа логически структурирована и последовательна. В работе четко указана актуальность работы, заключающаяся в создании новых стресс устойчивых сортов ярового ячменя. Сформулированы цели и задачи, соответствующие теме заданной работе и заключающиеся в подборе оптимального состава питательной среды для культивирования пыльников *Hordeum vulgare* L. в условиях *in vitro*.

В литературном обзоре Амантаева Аружан продемонстрировала умение обрабатывать и анализировать большое количество литературных источников и выделять первостепенно важную информацию.

Цели и задачи сформулированы точно в соответствии с темой дипломной работы. Теоретическая часть работы была сконструирована из обширной базы источников, и она была всесторонне изучена.

При выполнении дипломной работы Амантаева А. выказала самостоятельность в проведении исследований. Выполненные исследования отвечают поставленной цели. После полученных результатов были сформулированы и обоснованы четкие выводы.

Оформление дипломной работы соответствует нормативным требованиям.

Подводя итог можно отметить, что тема дипломной работа Амантаева А. очень актуальна, отличается теоретической и практической ценностью. Считаю, что дипломная работа Амантаева Аружан соответствует всем требованиям для присвоения квалификации бакалавр по специальности 6B05101 – «Химическая и биохимическая инженерия» и заслуживает высокой оценки «Отлично» - 97 %.

#### Научный руководитель

Доктор биологических наук,

Профессор

 Анапияев Б. Б.

« 05 » \_\_\_\_\_ ИЮНЯ \_\_\_\_\_ 2023 г.



## Metadata

Title

**Культивирование соматических клеток *Hordeum vulgare* L.pdf**

Author(s)

**Амантаева Аружан Саматовна**

Coordinator






**Бакытжан Анапияев**

Organizational unit

**ИГИНГД**

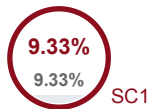
## List of possible text manipulation attempts

In this section, you can find information regarding text modifications that may aim at temper with the analysis results. Invisible to the person evaluating the content of the document on a printout or in a file, they influence the phrases compared during text analysis (by causing intended misspellings) to conceal borrowings as well as to falsify values in the Similarity Report. It should be assessed whether the modifications are intentional or not.

Characters from another alphabet		2
Spreads		0
Micro spaces		0
Hidden characters		0
Paraphrases (SmartMarks)		32

## Record of similarities

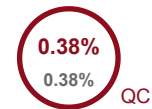
Please note that high coefficient values do not automatically mean plagiarism. The report must be analyzed by an authorized person.

**25**

The phrase length for the SC 2

**5844**

Length in words

**44523**

Length in characters

## Active lists of similarities

Scroll the list and analyze especially the fragments that exceed the SC 2 (marked in bold). Use the link "Mark fragment" and see if they are short phrases scattered in the document (coincidental similarities), numerous short phrases near each other (mosaic plagiarism) or extensive fragments without indicating the source (direct plagiarism).

### The 10 longest fragments

Color of the text

NO	TITLE OR SOURCE URL (DATABASE)	NUMBER OF IDENTICAL WORDS (FRAGMENTS)	
1	<a href="http://referat.bookap.info/work/133704/Dejstvie-ekstrakta-griba-fusarium">http://referat.bookap.info/work/133704/Dejstvie-ekstrakta-griba-fusarium</a>	58	0.99 %
2	<a href="https://pandia.ru/text/77/474/80445.php">https://pandia.ru/text/77/474/80445.php</a>	29	0.50 %
3	<a href="https://stud.wiki/biology/2c0a65635a3ac68a4d53b89521216c37_1.html">https://stud.wiki/biology/2c0a65635a3ac68a4d53b89521216c37_1.html</a>	27	0.46 %
4	<a href="https://textarchive.ru/c-1694057-pall.html">https://textarchive.ru/c-1694057-pall.html</a>	26	0.44 %
5	<a href="https://docplayer.ru/35879937-Biotehnologiya-vysshih-rasteniy-kultura-in-vitro.html">https://docplayer.ru/35879937-Biotehnologiya-vysshih-rasteniy-kultura-in-vitro.html</a>	23	0.39 %
6	<a href="http://plantphysiol-bio.univer.kharkov.ua/materials/Biotehnologija%20roslyn.pdf">http://plantphysiol-bio.univer.kharkov.ua/materials/Biotehnologija%20roslyn.pdf</a>	22	0.38 %
7	<a href="https://docplayer.ru/35879937-Biotehnologiya-vysshih-rasteniy-kultura-in-vitro.html">https://docplayer.ru/35879937-Biotehnologiya-vysshih-rasteniy-kultura-in-vitro.html</a>	22	0.38 %

8	<a href="https://infopedia.su/16x2dab.html">https://infopedia.su/16x2dab.html</a>	18	0.31 %
9	<a href="http://www.booksshare.net/index.php?id1=4&amp;category=biol&amp;author=sheveluha-ea&amp;book=1998&amp;page=6">http://www.booksshare.net/index.php?id1=4&amp;category=biol&amp;author=sheveluha-ea&amp;book=1998&amp;page=6</a>	18	0.31 %
10	<a href="https://docplayer.ru/35879937-Biotehnologiya-vysshih-rasteniy-kultura-in-vitro.html">https://docplayer.ru/35879937-Biotehnologiya-vysshih-rasteniy-kultura-in-vitro.html</a>	17	0.29 %

from RefBooks database (0.00 %) 

NO	TITLE	NUMBER OF IDENTICAL WORDS (FRAGMENTS)
----	-------	---------------------------------------

from the home database (0.00 %) 

NO	TITLE	NUMBER OF IDENTICAL WORDS (FRAGMENTS)
----	-------	---------------------------------------

from the Database Exchange Program (0.00 %) 

NO	TITLE	NUMBER OF IDENTICAL WORDS (FRAGMENTS)
----	-------	---------------------------------------

from the Internet (9.33 %) 

NO	SOURCE URL	NUMBER OF IDENTICAL WORDS (FRAGMENTS)	
1	<a href="https://docplayer.ru/35879937-Biotehnologiya-vysshih-rasteniy-kultura-in-vitro.html">https://docplayer.ru/35879937-Biotehnologiya-vysshih-rasteniy-kultura-in-vitro.html</a>	62 (3)	1.06 %
2	<a href="https://tou.edu.kz/arm/upload/umk_pdf/102076.pdf">https://tou.edu.kz/arm/upload/umk_pdf/102076.pdf</a>	59 (8)	1.01 %
3	<a href="http://referat.bookap.info/work/133704/Dejstvie-ekstrakta-griba-fusarium">http://referat.bookap.info/work/133704/Dejstvie-ekstrakta-griba-fusarium</a>	58 (1)	0.99 %
4	<a href="https://pandia.ru/text/77/474/80445.php">https://pandia.ru/text/77/474/80445.php</a>	52 (3)	0.89 %
5	<a href="https://zinref.ru/000_uchebniki/04600_raznie_3/783_lekcii_raznie_16/879.htm">https://zinref.ru/000_uchebniki/04600_raznie_3/783_lekcii_raznie_16/879.htm</a>	52 (7)	0.89 %
6	<a href="https://knowledge.allbest.ru/agriculture/2c0a65625b2ac78a4c43a89421306d36_0.html">https://knowledge.allbest.ru/agriculture/2c0a65625b2ac78a4c43a89421306d36_0.html</a>	34 (3)	0.58 %
7	<a href="https://infopedia.su/16x2dab.html">https://infopedia.su/16x2dab.html</a>	33 (2)	0.56 %
8	<a href="http://plantphysiol-bio.univer.kharkov.ua/materials/Biotehnologija%20roslyn.pdf">http://plantphysiol-bio.univer.kharkov.ua/materials/Biotehnologija%20roslyn.pdf</a>	29 (2)	0.50 %
9	<a href="https://www.kaznu.kz/content/files/news/folder23845/%D0%9C%D0%B5%D0%BB%D0%B4%D0%B5%D0%B1%D0%B5%D0%BA%D0%BE%D0%B2%D0%B0%20%D0%90_%D0%9B%D0%95%D0%9A_%D0%9F%D1%80%D0%B8%D0%BD%D1%86%D0%B8%D0%BF%D1%8B_%D0%BC%D0%B5%D1%82%D0%BE%D0%B4%D1%8B_%D0%BA%D1%83%D0%BB%D1%8C%D1%82%D0%B8%D0%B2.pdf">https://www.kaznu.kz/content/files/news/folder23845/%D0%9C%D0%B5%D0%BB%D0%B4%D0%B5%D0%B1%D0%B5%D0%BA%D0%BE%D0%B2%D0%B0%20%D0%90_%D0%9B%D0%95%D0%9A_%D0%9F%D1%80%D0%B8%D0%BD%D1%86%D0%B8%D0%BF%D1%8B_%D0%BC%D0%B5%D1%82%D0%BE%D0%B4%D1%8B_%D0%BA%D1%83%D0%BB%D1%8C%D1%82%D0%B8%D0%B2.pdf</a>	28 (2)	0.48 %
10	<a href="https://stud.wiki/biology/2c0a65635a3ac68a4d53b89521216c37_1.html">https://stud.wiki/biology/2c0a65635a3ac68a4d53b89521216c37_1.html</a>	27 (1)	0.46 %
11	<a href="https://textarchive.ru/c-1694057-pall.html">https://textarchive.ru/c-1694057-pall.html</a>	26 (1)	0.44 %
12	<a href="https://unnat.fedcdo.ru/wp-content/uploads/2021/09/JuNNAT-2021-Stolyarova-Anastasiya-Nachalnye-etapy-mikroklonalnogo-razmnozheniya.pdf">https://unnat.fedcdo.ru/wp-content/uploads/2021/09/JuNNAT-2021-Stolyarova-Anastasiya-Nachalnye-etapy-mikroklonalnogo-razmnozheniya.pdf</a>	23 (2)	0.39 %
13	<a href="http://www.booksshare.net/index.php?id1=4&amp;category=biol&amp;author=sheveluha-ea&amp;book=1998&amp;page=6">http://www.booksshare.net/index.php?id1=4&amp;category=biol&amp;author=sheveluha-ea&amp;book=1998&amp;page=6</a>	18 (1)	0.31 %
14	<a href="https://nauchkor.ru/pubs/vvedenie-v-kulturu-in-vitro-nekotoryh-predstaviteley-semeystva-zveroboynye-hypericaceae-i-astrovye-asteraceae-60d21897e4dde50001566101">https://nauchkor.ru/pubs/vvedenie-v-kulturu-in-vitro-nekotoryh-predstaviteley-semeystva-zveroboynye-hypericaceae-i-astrovye-asteraceae-60d21897e4dde50001566101</a>	11 (1)	0.19 %
15	<a href="https://www.semanticscholar.org/paper/The-Impact-of-the-Degree-of-Coalification-on-the-of-Katarzyna-Barbara/db2cf097be8f72ad666d6704a413de5335539db1">https://www.semanticscholar.org/paper/The-Impact-of-the-Degree-of-Coalification-on-the-of-Katarzyna-Barbara/db2cf097be8f72ad666d6704a413de5335539db1</a>	10 (1)	0.17 %

16	<a href="http://vcvetu.ru/rasteniya/6709/index.html">http://vcvetu.ru/rasteniya/6709/index.html</a>	10 (2)	0.17 %
17	<a href="https://vitamingid.ru/articles/vitaminy-po-murasige-i-skugu/">https://vitamingid.ru/articles/vitaminy-po-murasige-i-skugu/</a>	8 (1)	0.14 %
18	<a href="https://knowledge.allbest.ru/agriculture/3c0a65635a2bd68a4d53a88521206d27_0.html">https://knowledge.allbest.ru/agriculture/3c0a65635a2bd68a4d53a88521206d27_0.html</a>	5 (1)	0.09 %

### List of accepted fragments (no accepted fragments)

---

NO	CONTENTS	NUMBER OF IDENTICAL WORDS (FRAGMENTS)
----	----------	---------------------------------------

---