

**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 химической и биохимической инженерии

Ракаев Арман Кабдрешевич

Биотехнология культивирования изолированных клеток тритикале

**ДИПЛОМНАЯ РАБОТА**

6B05101 – Химическая и биохимическая инженерия

Алматы 2023

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 химической и биохимической инженерии



**ДИПЛОМНАЯ РАБОТА**

На тему: «Биотехнология культивирования изолированных клеток тритикале»

6B05101 – Химическая и биохимическая инженерия

Выполнил

Ракаев А.К.

Рецензет

доктор PhD, профессор

Искакова К.М.

«08» июня 2023 г.

Научный руководитель

д.б.н., профессор

Анапияев Б.Б.

«05» июня 2023 г.

Алматы 2023

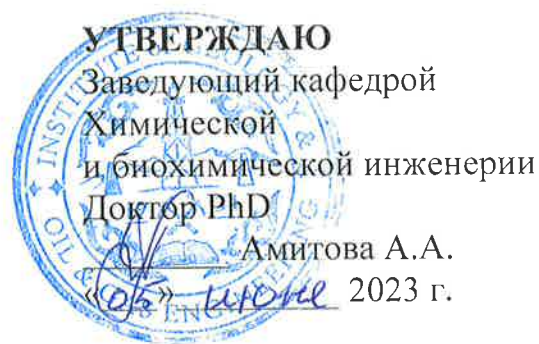
МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ  
КАЗАХСТАН

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

Институт геологии и нефтегазового дела им. К. Турысова

Кафедра химической и биохимической инженерии

6B05101 – Химическая и биохимическая инженерия



**ЗАДАНИЕ**

**на выполнение дипломной работы**

Обучающемуся: Ракаеву Арману Кабдрешевичу

Тема: Биотехнология культивирования изолированных клеток тритикале

Утверждена *приказом* Проректором Университета № 408 – П/Ө от «23» ноября 2022 г.

Срок сдачи законченной работы «05» ноя 2023 г.

Исходные данные к дипломной работе: Технопарк КазНТУ им. К.И.Сатпаева

Краткое содержание дипломной работы:

а) Культивирование изолированных клеток тритикале *Triticosecale* в условиях in vitro;

б) Получение каллусов *Triticosecale* в условиях культивирования in vitro

в) Изучения влияния питательных сред на интенсивность процессов каллусогенеза тритикале *Triticosecale* в условиях in vitro;

Перечень графического материала (с точным указанием обязательных чертежей):  
представлены слайдов презентации работы


Рекомендуемая основная литература: из 34 наименований

**ГРАФИК**  
подготовки дипломной работы

Наименование разделов, перечень разрабатываемых вопросов	Сроки представления научному руководителю	Примечание
Литературный обзор по дипломной работе	Февраль	Выполнено
Культивирование изолированных клеток тритикале в условиях <i>in vitro</i> в лаборатории	Март-Апрель	Выполнено
Анализ полученных результатов и оформление дипломной работы	Май	Выполнено

**Подписи**

консультантов и нормоконтролера на законченную дипломную работу с указанием относящихся к ним разделов работы

Наименования разделов	Консультанты, И.О.Ф. (уч. степень, звание)	Дата подписания	Подпись
Нормоконтроллер	Анапияев Б.Б., д.б.н., профессор	05.06.2023	

Научный руководитель

 Анапияев Б.Б.

Задание принял к исполнению обучающийся

 Ракаев А.К.

Дата

« 05 » июня 2023 г.

## АННОТАЦИЯ

Дипломная работа "Биотехнология культивирования изолированных клеток тритикале" в бумажном виде состоит из 35 страниц. Работа состоит из введения, 3 разделов, заключения, 7 рисунков и 3 таблиц, списка с указанием 34 научных статей и учебных пособий.

В дипломной работе были изучены факторы, влияющие на процесс каллусогенеза при росте изолированных клеток тритикале (*Triticosecale*) в условиях *in vitro*. В дипломной работе представлен информационный обзор происхождения, распространения, использования и эффективности тритикале *Triticosecale* в сельском хозяйстве. Биотехнология культивирования изолированных клеток тритикале открывает многообещающие возможности для улучшения растений и генетических манипуляций. Это ценный инструмент для изучения биологии клеток тритикале, генерирования генетических вариаций и выведению новых сортов тритикале с улучшенными признаками и агрономическими характеристиками. Продолжающиеся исследования и достижения в этой области обладают огромным потенциалом для решения глобальных проблем сельского хозяйства и повышения продуктивности сельскохозяйственных культур.

*Ключевые слова:* тритикале (*Triticosecale*), каллус, каллусогенез, питательная среда, *in vitro*.

## АНДАТПА

"Тритикале оқшауланған жасушаларын өсіру биотехнологиясы" тезисі қағаз түрінде 35 беттен тұрады. Жұмыс кіріспеден, 3 бөлімнен, қорытындыдан, 7 сурет пен 3 кестеден, 34 ғылыми мақалалар мен оқу құралдарын көрсететін тізімнен тұрады.

Дипломдық жұмыс *in vitro* жағдайда оқшауланған тритикале (*Triticosecale*) жасушаларының өсуіндегі каллусогенез процесіне әсер ететін факторларды зерттеді. Диссертацияда *triticosecale*-дің ауыл шаруашылығындағы шығу тегі, таралуы, қолданылуы және тиімділігі туралы ақпараттық шолу берілген. Тритикале оқшауланған жасушаларды өсіру биотехнологиясы өсімдіктерді жақсарту және генетикалық манипуляциялар үшін перспективалы мүмкіндіктер ашады. Бұл тритикале жасушаларының биологиясын зерттеуге, генетикалық вариацияларды құруға және жақсартылған белгілері мен агрономиялық сипаттамалары бар жаңа тритикале сорттарын өсіруге арналған құнды құрал. Осы саладағы үздіксіз зерттеулер мен жетістіктер жаһандық ауыл шаруашылығы мәселелерін шешуге және дақылдардың өнімділігін арттыруға үлкен әлеуетке ие.

Түйінді сөздер: тритикале (*Triticosecale*), каллус, каллусогенез, қоректік орта, *in vitro*.

## ANNOTATION

The thesis "Biotechnology of cultivation of isolated triticales cells" in paper form consists of 35 pages. The work consists of an introduction, 3 sections, a conclusion, 7 drawings and 3 tables, a list indicating 34 scientific articles and textbooks.

In the thesis, the factors influencing the process of callusogenesis during the growth of isolated Triticosecale cells *in vitro* were studied. The thesis provides an information overview of the origin, distribution, use and effectiveness of Triticosecale in agriculture. The biotechnology of cultivating isolated triticales cells opens up promising opportunities for plant improvement and genetic manipulation. It is a valuable tool for studying the biology of triticales cells, generating genetic variations and breeding new triticales varieties with improved traits and agronomic characteristics. Ongoing research and advances in this field have enormous potential to solve global agricultural problems and increase crop productivity.

*Keywords:* Triticosecale, callus, callus formation, nutrient medium, *in vitro*.

## СОДЕРЖАНИЕ

	Введение	9
1	Литературный обзор	10
1.1	История культуры	10
1.2	Описание культуры	11
1.3	Распространение и площадь возделывания	13
1.4	Применение тритикале	13
1.5	Яровой и озимой тритикале и их проблемы	14
1.5.1	Яровое тритикале	14
1.5.2	Озимая тритикале	14
1.6	Селекция тритикале	15
1.7	Устойчивость к абиотическим стрессовым факторам окружающей среды	18
1.7.1	Устойчивость тритикале к засухе	18
1.7.2	Устойчивость тритикале к холоду	19
1.7.3	Устойчивость тритикале к дефициту минеральных солей	19
1.8	Устойчивость тритикале к болезням	19
1.8.1	Грибковые возбудители	20
1.8.2	Бактериальные патогены	20
1.9	Использование биотехнологических методов в селекции тритикале	21
1.9.1	Применение молекулярных маркеров в селекции	21
1.9.2	Культивирование соматических и репродуктивных клеток	21
2	Объекты, материалы и методы	23
2.1	Объект исследования	23
2.2	Материалы исследования	24
2.3	Методы исследования	24
2.4	Выбор и приготовление питательной среды	25
3	Результаты исследования	28
	Заключение	31
	Перечень принятых сокращений	32
	Список использованной литературы	33



## ВВЕДЕНИЕ

Актуальность. Тритикале — гибрид злаков, полученный путем скрещивания пшеницы (*Triticum*) с рожью (*Secale*). Тритикале сочетает в себе черты пшеницы и ржи, в том числе высокий потенциал урожайности, хорошую питательную ценность, агротехническую адаптируемость и устойчивость к болезням. Одним из важнейших факторов, влияющих на успешное культивирование изолированных клеток, является оптимизация состава питательных сред. Питательные среды должны содержать необходимые микроэлементы, витамины, углеводы и фитогормоны, необходимые для роста и развития клеток и тканей тритикале. Выбор питательной среды и ее гормональный состав могут существенно повлиять на эффективность индукции каллуса и регенерации растений.

Цель исследования:

Изучение факторов, влияющих на частоту каллусогенеза в культуре изолированных клеток тритикале (*Triticosecale*) в условиях *in vitro*;

Задачи исследования:

1. Введение в культуру изолированных клеток тритикале (*Triticosecale*) в условиях *in vitro*;
2. Изучение факторов влияющих на частоту процессов каллусогенеза в культуре изолированных клеток тритикале (*Triticosecale*) условиях *in vitro*;
3. Практическая оценка полученных результатов в культуре изолированных клеток тритикале (*Triticosecale*) в условиях *in vitro*;

# 1 Литературный обзор

## 1.1 История культуры

Тритикале — это культура, полученная путем скрещивания пшеницы и ржи, и ее название отражает ее происхождение от сочетания названий двух родов *Triticum* и *Secale*.

Первый тритикале был получен шотландским ботаником А. Стивенсом Уилсоном в 1875 г., когда ему удалось опылить пшеницу пылью ржи. Однако эти растения тритикале производили стерильную пыльцу и, следовательно, не могли давать жизнеспособного потомства [1].

Первый ржано-пшеничный гибрид был создан В. Римпау в Германии в 1889 г., что сделало его первым искусственно созданным человеком культурным растением, содержащим хромосомы как пшеницы, так и ржи. Первоначально он назывался *Triticosecale rimpaui*, но позже был переименован Э. Элером в *Triticale*. [2].

Гибриды, полученные в Европе в конце XIX века, обладали низкой плодovitостью.

В 1937 году в широком масштабе стали получать новые формы тритикале, когда тетраплоидные и гексаплоидные тритикале были выделены с использованием полиплоидизирующего действия колхицина В.Н. Лебедевым и А.И. Державиным.

В 1941 году В.Е. Писарев создал первые яровые октоплоидные формы тритикале на основе сибирских сортов пшеницы и ржи. А в 1945 году, скрещивая озимую пшеницу Яранка с озимой рожью Житкинская, ученый создал первую озимую форму 56-хромосомных тритикале - АД 72, отличающийся высокой зимостойкостью [3].

Первая программа селекции тритикале в Северной Америке была создана в 1953 году в Университете Манитобы в Виннипеге, Канада, с целью создания высокоурожайного, засухоустойчивого тритикале для потребления человеком на малоплодородных землях. Результатом этих усилий стал *Rosner*, первый лицензированный сорт ярового тритикале в Канаде.

Доктор Н.Е. Борлоуг инициировал программу исследований тритикале в Международном центре улучшения кукурузы и пшеницы (СІММУТ) в Мексике в 1964 году.

К началу 1960-х годов скрещивание гексаплоида и октоплоида в Венгрии привело к появлению нескольких вторичных популяций тритикале (Т-30, Т-57 и Т-64), которые использовались для инициации внутривидовых испытаний на песчаных почвах [4].

В 1970-х годах канадские селекционеры Рознер и Уэлш создали первые коммерческие сорта тритикале, используя его гибриды.

В Казахстане селекцию тритикале начали в 1970 году в Казахском научно-исследовательском институте сельского хозяйства и растениеводства (КазНИИЗиР) под руководством академика Уразалиева Рахима Алмабековича, в результате чего выведено множество сортов озимого и ярового тритикале кормового и хлебопекарного назначения, как в чистом виде и в смеси с пшеницей [5].

С 2000 года в Казахстане начала возделываться тритикале, благодаря выведению и внедрению новых сортов таких как Таза, Орда, Кожа, Азиада. В разработке находятся сорта Балауса, Галия, Зернокормовая 5 [6].

В настоящее время в Казахстане муку в основном производят из пшеницы и ржи, а зерно тритикале не используют. Озимые сорта тритикале Таза, Орда и Балауса рекомендуются для выращивания в южной части страны. Однако информации о свойствах современных сортов тритикале, созданных казахстанскими селекционерами, недостаточно, а его технологические особенности как сырья для производства муки до конца не изучены. Поэтому необходимы исследования для понимания качественных характеристик зерна тритикале, его технологических свойств и способов его эффективного использования в пищевой промышленности. Особенно важно изучение размеров частиц муки прямым микроскопическим методом [7].

## 1.2 Описание культуры

Тритикале имеет сходную с пшеницей морфологию с некоторыми чертами, унаследованными от ржи (Рис.1).

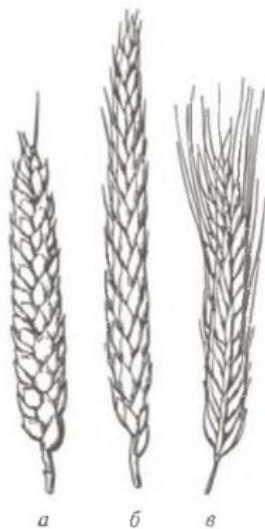


Рисунок 1 - а - пшеница, б - тритикале, в – рожь

Тритикале имеет сильно развитую мочковатую корневую систему, которая может проникать на глубину 1,5-2,5 метра и более, что делает его более устойчивым к дефициту влаги, кислым и малопродуктивным почвам.

Высота растений тритикале широко варьируется в зависимости от условий выращивания, при этом длина стебля зависит от водного и питательного режимов почвы, густоты растений и предшественников. Растение может вырасти до 2 метров в высоту с одним вертикальным стеблем, поддерживающим соцветие. Стебель и листья обычно голые, то есть на них нет волосков или трихом.

Листья тритикале крупные, удлинённые и узкие, с заметной средней жилкой и заостренным кончиком, покрытые сильным восковым налетом.

Соцветие тритикале представляет собой колосовидную структуру, известную как колос, который содержит множество мелких цветков, называемых колосками. Колоски расположены попарно вдоль центрального стебля колоса, причем один колосок обращен наружу, а другой внутрь. Каждый колосок содержит несколько цветков, которые являются репродуктивными структурами растения. Соцветия окружены прицветниками, называемыми колосками, которые защищают развивающиеся семена.

Тритикале обладает высоким потенциалом повышения продуктивности колоса за счет сочетания характерной для ржи многоколосности с многоцветковостью пшеницы.

Семена тритикале по форме похожи на семена пшеницы, но немного длиннее и уже. Они покрыты жестким внешним слоем, называемым шелухой или мякиной, которую необходимо удалить, прежде чем семена можно будет использовать в пищу или в посадке. Семена тритикале обычно используются в качестве источника муки для выпечки, а также для производства кормов для животных и производства этанола.

Форма и внешний вид зерна тритикале разнообразны, от продолговатых до округлых, гладких и морщинистых, белых и красных, стекловидных и мучнистых, с более продолговатым и более выпуклым зародышем, чем у пшеницы (Рис.2) [8].

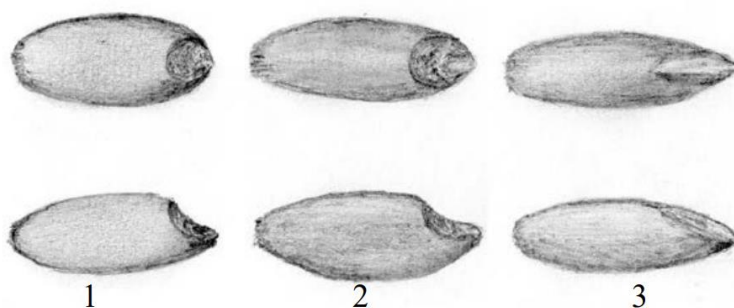


Рисунок 2 - Зерно: 1 – пшеницы, 2 – тритикале, 3- ржи. (верхний ряд – вид сверху, нижний ряд – вид сбоку)

### **1.3 Распространение и площадь возделывания**

Тритикале — это культура, которую обычно выращивают в развивающихся странах Северной Америки, Латинской Америки, Австралии, Азии и Европы. Производство тритикале значительно выросло за эти годы: мировое производство увеличилось примерно со 167 000 тонн в 1980 году до 4,5 миллионов тонн в 1990 году, а затем до 14 миллионов тонн к 2013 году. Этот рост особенно примечателен по сравнению с производством одного родительской культуры тритикале - ржи, поскольку текущее производство тритикале всего на 3 миллиона тонн меньше, чем у ржи. Однако производство тритикале по-прежнему остается скромным по сравнению с пшеницей, мировое производство которой составляет 713 миллионов тонн.

Европа является крупнейшим производителем тритикале, при этом ведущими производителями являются Польша, Германия, Франция и Россия. В Северной Америке тритикале в основном выращивают в Канаде и США, а Аргентина является основным производителем в Южной Америке. Австралия также является крупным производителем тритикале. Современные сорта тритикале в этих странах способны давать высокие урожаи зерна до 8,5-11,6 т/га. Например, самые высокие урожаи тритикале отмечены в Болгарии (116 ц/га), Италии (110 ц/га), Ирландии (107 ц/га), Германии (92 ц/га), Швеции (86 ц/га), Польше (85 ц/га), Беларуси (99 ц/га) [9].

Согласно последним данным, опубликованным ФАО, посевная площадь тритикале в мире в 2015 году составила 3,6 млн га, при этом Украина и Россия не включены из-за отсутствия статистических данных. Урожай имеет самые большие посевные площади в Польше, занимая более 1,2 млн га, а также в Германии с 404 тыс. га и Франции с 331 тыс. га. Что касается средней урожайности в 2006 г., то в Германии урожайность составила 55,9 ц/га, а во Франции – 51,2 ц/га. В Польше и Беларуси урожайность была ниже – 26,8 ц/га и 26 ц/га соответственно [10].

В Казахстане в 2015 году тритикале выращивали на площади более 350 тыс. га, и выращивание этой культуры продолжает расширяться. Ожидается, что в ближайшие годы в Казахстане тритикале будет возделываться на площади 500-600 тыс. га, причем самые большие посевные площади будут сосредоточены в Южном, Центральном, Северном и Восточном регионах страны. В перспективе ожидается, что тритикале будет составлять не менее 10% зернового клина в южных районах и до 15% в более северных районах [11].

### **1.4 Применение тритикале**

Применение тритикале можно рассматривать с трех основных точек зрения:

1) Тритикале в основном используется в качестве корма для животных, поскольку является важным компонентом их рациона. Например, в Польше разработана технология, которая позволяет зерну тритикале составлять до 80%

рациона при откорме свиней и бройлеров. Тритикале также является важной частью зеленой конвейерной системы, которая играет решающую роль в организации кормления животных в летнее время. Высокий биологический потенциал урожая тритикале также способствует его кормовой ориентации.

2) Биологическая ценность зерна тритикале превышает таковую пшеницы и ржи. При включении в рацион зерна тритикале животные, как правило, прибавляют в весе больше в день по сравнению с кормлением зерном пшеницы, ячменя или кукурузы, а затраты корма на единицу прироста веса снижаются.

3) Мука, полученная из зерна тритикале, используется в качестве основного сырьевого компонента в кондитерской промышленности, например, в бисквитах, печенье, кексах, крекерах и быстрых завтраках. Широко потребляются хлебобулочные изделия, которые предполагают сочетание муки из различных злаков с участием тритикале.

Генетический потенциал тритикале, сочетающий потенциал пшеницы и ржи, привел к созданию культуры, превосходящей обоих родителей по урожайности зерна и пищевой ценности [12].

## **1.5 Яровой и озимой тритикале и их проблемы**

### **1.5.1 Яровое тритикале**

Яровой тритикале — это новый вид растений, полученный путем скрещивания пшеницы и озимой ржи, который отличается универсальностью использования в сельском хозяйстве. Зерно яровой тритикале пригодно для кормления скота и птицы, а из обильной зеленой массы растения можно приготовить сенаж, силос, брикеты, гранулы, травяную муку. Зерно ярового тритикале также может быть использовано в хлебопекарной промышленности для производства диетических и лечебных хлебобулочных изделий.

Яровой тритикале имеет более короткий вегетационный период и обычно высевается после сбора урожая других культур. Требуется хорошо дренированных почв и достаточного увлажнения в течение вегетационного периода. Яровой тритикале обычно используется на корм животным, и его можно собирать раньше, чем озимого тритикале, что позволяет своевременно сажать следующую культуру. Однако урожайность ярового тритикале ниже по сравнению с озимым тритикале, а качество зерна может быть не таким хорошим [13].

### **1.5.2 Озимое тритикале**

Озимое тритикале, с другой стороны, имеет более длительный вегетационный период и может давать более высокие урожаи, чем яровое тритикале. Он также более устойчив к болезням и вредителям из-за длительного периода роста. Озимое

тритикале можно использовать как в корм животным, так и в пищу людям, и оно может помочь улучшить качество почвы благодаря своей обширной корневой системе. Однако озимому тритикале требуется хорошая влажность почвы в зимние месяцы, и слишком ранняя посадка может привести к плохому укоренению [14].

## 1.6 Селекция тритикале

Селекция тритикале включает в себя отбор и скрещивание желаемых признаков разных сортов для создания новых и улучшенных сортов. Процесс селекции тритикале аналогичен процессу селекции других культур с целью создания растений с желаемыми характеристиками, такими как высокая урожайность, устойчивость к болезням, улучшенные хлебопекарные качества и пищевая ценность.

Схема селекции тритикале включает в себя три основных этапа:

- а) синтез гибридных популяций путем внутривидовой, межвидовой и межродовой гибридизации;
- б) изучение гибридов и созданных линий на всех этапах селекции;
- в) всестороннее изучение перспективных линий в разных агроэкологических условиях. (Рис.3) [15].

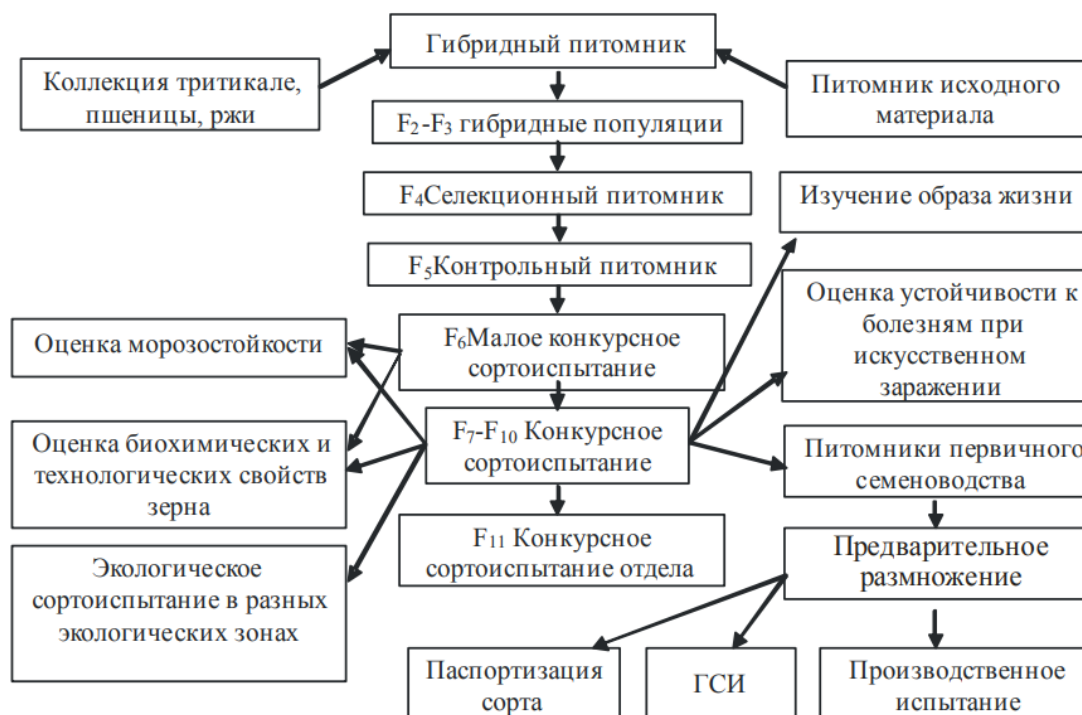


Рисунок 3 - Схема селекционного процесса тритикале

Первый отбор проводится в F3 внутривидовых, F4-F5 отдаленных скрещиваний, при условии достаточного размера популяций. Повторные отборы начинаем в расщепляющихся линиях селекционного (F4- F5) и контрольного питомника (F5- F6).

Тритикале является перспективной культурой благодаря своей адаптации к почвам с низким плодородием и экологическим стрессам, устойчивости к болезням и высокому содержанию незаменимых аминокислот. Однако отсутствие генетического разнообразия является серьезной проблемой для его улучшения, и использование геномики и селекции с помощью маркеров может способствовать его улучшению. Зародышевая плазма тритикале также сталкивается с биотическими и абиотическими проблемами, включая уязвимость ко многим болезням и вредителям, а также стрессы, такие как кислые и щелочные почвы, дефицит и токсичность питательных микроэлементов, а также нехватку влаги. В дополнение к этим проблемам, для полного использования потенциала тритикале в сельскохозяйственном производстве необходимо решить проблемы с низким уровнем принятия фермерами, ограниченным использованием и ограниченным использованием в продуктах питания человека, таких как хлеб.

Некоторые из традиционных методов селекции, используемых для улучшения тритикале, включают обратное скрещивание, родословную, массовую и односемянную селекцию, рекуррентную селекцию и гибридные тритикале. Эти методы аналогичны тем, которые используются для самоопыляющихся культур, таких как пшеница и ячмень. Но селекция тритикале требует особого внимания из-за возможности перекрестного опыления и фенотипической изменчивости при скрещивании образцов тритикале. Поэтому ранние поколения селекции тритикале должны быть направлены на восстановление баланса между геномами пшеницы и ржи [16].

Успех программы селекции тритикале зависит от наличия зародышевой плазмы с соответствующей генетической изменчивостью. Первичные популяции тритикале основаны на гибридизации пшеницы и ржи, при этом большая часть генетических вариаций существует у гексаплоидного тритикале. Применяются методы селекции самоопыляемых культур, а выбор родительских линий, количество родителей, размер популяции и стратегии селекции диктуются целями селекции. Трехстороннее или сложное скрещивание требует тщательного планирования, при этом генотипический отбор с использованием ДНК-маркеров иногда применяется к сложным растениям F1 перед скрещиванием. Используются такие методы селекции, как племенной, объемный, обратного скрещивания и метод двойных гаплоидов, а модифицированный массовый подход является методом выбора для программы селекции тритикале в Сельском хозяйстве и агропродовольственном центре Канады, Исследовательский центр Летбриджа. Двойные гаплоидные методы были успешными в Австралии, Канаде, Дании и Германии.



В целом, разведение и селекция тритикале сталкиваются с проблемами из-за генетических ограничений и необходимости сбалансировать несколько желаемых признаков. Тем не менее, продолжающиеся исследования и селекционные усилия могут привести к созданию новых и улучшенных сортов тритикале с более высоким потенциалом урожайности, устойчивостью к болезням и качеством конечного использования [17].

Проблемы селекции озимой тритикале. Выбор озимого тритикале также сталкивается с некоторыми трудностями. Одной из основных проблем является необходимость баланса зимостойкости и потенциала урожайности. Озимое тритикале должно быть достаточно выносливым, чтобы пережить зиму и дать урожай весной, но в то же время оно должно иметь достаточно высокий потенциал урожайности, чтобы быть экономически выгодным.

Еще одной проблемой при селекции озимого тритикале является устойчивость к болезням, в частности, восприимчивость к снежной плесени и септориозу, слабую устойчивость к выпреванию и вымоканию. Озимое тритикале также подвержено в том числе фузариозу колоса, который может значительно снизить урожайность и качество зерна. Селекционерам необходимо идентифицировать и включать гены устойчивости к этим заболеваниям в новые сорта.

Кроме того, озимый тритикале сталкивается с конкуренцией со стороны других озимых культур, таких как озимая пшеница и озимый ячмень, которые выращиваются более широко и имеют устоявшиеся рынки сбыта. Это затрудняет развитие рынка озимого тритикале и может ограничивать его использование фермерами [18].

Проблемы селекции яровой тритикале. В отличие от других зерновых культур яровое тритикале более стрессовыносливо. Культура малотребовательна к условиям выращивания: на низком агрофоне тритикале всегда превосходит яровую пшеницу по урожайности и физическим параметрам зерна. Яровое тритикале проявляет иммунитет к наиболее распространенным болезням хлебных злаков, отрицательно влияющих на урожайность и качество зерна. Благодаря устойчивости к мучнистой росе, твердой и пыльной головне, зерно перед посевом не протравливают, что позволяет избежать больших производственных затрат и сохранить экологический баланс почв.

Селекция ярового тритикале также сталкивается с рядом проблем. Одной из основных проблем является создание сортов с высоким потенциалом урожайности при сохранении хороших качественных признаков. Яровой тритикале обычно используют на корм скоту, поэтому важно, чтобы зерно имело высокое содержание белка и хорошую усвояемость.

Еще одной проблемой селекции ярового тритикале является необходимость создания сортов, устойчивых к различным заболеваниям и вредителям, в том числе

к фузариозу, листовой ржавчине, тле. Эти болезни и вредители могут нанести значительный ущерб урожаю и снизить урожайность.

Кроме того, существует необходимость в создании сортов ярового тритикале, хорошо адаптированных к различным условиям окружающей среды, таким как разные типы почв, уровень влажности и температурный режим. Это может быть особенно сложной задачей, учитывая разнообразие условий выращивания по всему миру [19].

## **1.7 Устойчивость к абиотическим стрессовым факторам окружающей среды**

Интерес к изучению реакции и адаптации тритикале к абиотическим стрессам возник в конце 20 века с расширением селекции тритикале. В то время как исследования реакции тритикале на стресс в 21 веке сократились, последние разработки в области исследований геномики сельскохозяйственных культур дают надежду на улучшение селекции тритикале с точки зрения устойчивости к абиотическим стрессам, качества зерна и качества выпечки. Тритикале обладает высокой биомассой и потенциалом урожайности, лучшей адаптацией к ограниченному водоснабжению и проблемным почвам, чем пшеница, и большим генетическим разнообразием для устойчивости к абиотическим стрессам, полученным из исходных материалов. Однако морозоустойчивость тритикале не так хороша, как у лучшей озимой пшеницы, из-за неизвестных факторов в родительском геноме пшеницы. Выбор подходящих родителей пшеницы и ржи посредством предварительных исследований важен для селекции превосходного тритикале на устойчивость к абиотическому стрессу [20].

### **1.7.1 Устойчивость к засухе**

Недавние исследования добились значительных успехов в понимании физиологии стресса от засухи, а также в характеристике и выявлении засухоустойчивых растений. Генетические и физиологические механизмы, лежащие в основе стресса и адаптации растений к засухе, хорошо изучены, и теперь селекция зерновых может улучшить производство растений в условиях ограниченных водных ресурсов. Эффективное использование воды количественно связано с устойчивым тургором, устойчивой устьичной проводимостью и устойчивой ассимиляцией по мере истощения почвенной влаги. Отсроченное старение кроны после цветения может иметь важное значение для поддержания наполнения зерна, а превосходная способность использовать резервы стебля для наполнения зерна в условиях засухи или теплового стресса является основным механизмом устойчивости при терминальном стрессе.

В разных исследованиях также была обнаружена высокая урожайность тритикале в стрессовых условиях по сравнению со стандартными адаптированными сортами пшеницы. Более высокая засухоустойчивость тритикале может быть связана с ранним колошением и, возможно, с большей способностью извлекать почвенную влагу [21].

### **1.7.2 Устойчивость к холоду**

Рожь более устойчива к холоду, чем пшеница, из-за генетических факторов, но, когда создается тритикале, холодостойкость ржи подавляется родительской пшеницей. Это не связано с цитоплазматическими эффектами или геномом D пшеницы. При изучении 10 линий пшеницы и 18 линий тритикале было подтверждено, что пшеница более вынослива, чем тритикале, с точки зрения выживаемости в поле [22].

Для получения холодостойкого тритикале необходимо использовать холодостойкие родительские сорта пшеницы, поскольку одного компонента генома ржи недостаточно для обеспечения холодоустойчивости [23].

### **1.7.3 Устойчивость при дефиците минералов**

Тритикале более устойчива к дефициту цинка, чем пшеница и ячмень, при выращивании на неплодородных и известковых почвах. Рожь наиболее эффективно усваивает цинк, за ней следуют тритикале, ячмень, мягкая пшеница, овес и твердая пшеница. Рожь также более эффективно усваивает марганец, медь и фосфор, чем пшеница. Тритикале может унаследовать эффективность меди от ржи, в зависимости от ее генотипа и pH почвы. Рожь, как правило, более эффективна, чем пшеница и тритикале, в усвоении фосфора, но тритикале также может быть эффективным в зависимости от его генотипа [24].

Также есть исследования об эффективности использования азота в тритикале, но генетические различия в эффективности использования минералов могут способствовать дальнейшему улучшению [25].

### **1.8 Устойчивость тритикале к болезням**

Биотический стресс у растений вызывается живыми организмами, такими как бактерии, вирусы, грибки, насекомые, сорняки и другие растения. Иногда диагностировать точную причину повреждения может быть сложно, так как симптомы могут быть схожими. Тритикале, культура, неуклонно развивается и увеличивается в площадях, но ее устойчивость к болезням больше не считается преимуществом из-за воздействия стрессовых условий и вредных организмов.

Тритикале может служить мостом для переноса генов устойчивости к патогенам и вредителям между рожью и пшеницей [26].

### 1.8.1 Грибковые возбудители

Патогенные для растений грибы, особенно некротрофные, представляют собой постоянную угрозу для мирового растениеводства, включая тритикале: известно, что более 10 000 видов грибов вызывают заболевания у растений по сравнению с 50 видами, вызывающими заболевания у людей. Биотрофные и гембиотрофные грибы также поражают тритикале, а род *Tilletia*, включающий *T. caries*, *T. foetida* и *T. controversa*, вызывает головню обыкновенную и карликовую головню, что приводит к потерям урожая и качества. Лучший способ борьбы с этими грибами - выращивание устойчивых сортов, но устойчивость к головне низкая, поэтому рекомендуется генная пирамида. Однако идентифицировано очень мало молекулярных маркеров, связанных с генами устойчивости к головне. Химическая обработка эффективна, но не допускается в органическом земледелии. Заражение видами *Tilletia* приводит к образованию массы телиоспор вместо зерна, а плотность урожая влияет на частоту заражения.

Тестирование сортов тритикале показывает, что некоторые из них устойчивы, а реакция сортов полбы и спельты на обыкновенную головню ниже, чем у восприимчивых сортов мягкой пшеницы. Было обнаружено, что пыльная головня пшеницы поражает лишь несколько сортов тритикале [27].

### 1.8.2 Бактериальные патогены

Некоторые исследования указывают, что на тритикале могут воздействовать четыре различных патоварианта двух видов бактериальных возбудителей: *Pseudomonas syringae* f. sp. *atrocariens*, *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, *Xanthomonas campestris* pv. *undulosa* и *Xanthomonas campestris* pv. *translucens*. Эти патогены в основном встречаются в теплых и субтропических регионах, но также были зарегистрированы в районах выращивания тритикале с умеренным климатом. Некоторые псевдомонады могут помочь растениям расти, подавляя болезни корней, вызванные патогенными грибами.

Роша Л. и его команда изучали, как разные сорта злаков влияют на проявление признаков биоконтроля *Pseudomonas fluorescens*. Они обнаружили, что существуют зависящие от генотипа растений вариации уровней колонизации *P. fluorescens* и экспрессии противогрибкового гена в корнях различных сортов злаков, что может помочь идентифицировать комбинации псевдомонад и злаков, которые могут поддерживать здоровье растений злаков, включая тритикале [28].

## **1.9 Использование биотехнологических методов в селекции тритикале**

Ограниченное генетическое разнообразие, вызванное барьером перекрестной несовместимости между пшеницей и рожью, препятствует селекции тритикале. Для решения этой проблемы использовались биотехнологические методы, такие как метод культивирования эмбрионов, молекулярные маркеры и генная инженерия. С использованием культуры микроспор и пыльников были созданы гаплоидные и двойные гаплоидные растения, в результате чего в Польше было выпущено 12 продуктивных сортов тритикале.

Традиционное разведение тритикале основано на отборе превосходного потомства на основе фенотипических признаков, но новые подходы, такие как методы молекулярных маркеров и технология ДНК, используются для уменьшения воздействия окружающей среды на селекцию и ускорения процесса селекции [29].

### **1.9.1 Применение молекулярных маркеров в селекции**

Применение молекулярных маркеров в селекционных исследованиях тритикале довольно обширно, и их основные области применения включают:

- 1) оценка генетического разнообразия и характеристика коллекций гермоплазмы;
- 2) оценка генетических расстояний между популяциями [30];
- 3) сортовая дактилоскопия для идентификации, ускорение развития особей, сочетающих благоприятные аллели, содействие прогнозированию продуктивности гибридов, установление отличительности новых сортов перед регистрацией и охраной;
- 4) облегчение интрогрессии хромосомных сегментов от чужеродных видов и даже мечение специфических генов;
- 5) выявление локусов моногенных и качественных признаков [31];
- 6) чистота и стабильность семян и растительного материала;
- 7) идентификация последовательностей полезных генов-кандидатов [32].

### **1.9.2 Культивирование соматических и репродуктивных клеток**

Культивирование соматических и репродуктивных клеток тритикале включает методы размножения и генетической модификации культуры *in vitro*.

Соматические клетки тритикале относятся к нерепродуктивным клеткам тритикале, которые представляют собой дифференцированные клетки, составляющие различные ткани и органы растения. В тритикале соматические клетки можно культивировать для получения каллусной ткани, которая затем может быть индуцирована для образования эмбрионов и, в конечном итоге, целых растений.

Способы культивирования соматических клеток тритикале:

1) Культура каллуса: включает культивирование небольших кусочков соматической ткани в питательной среде, содержащей регуляторы роста, чтобы вызвать образование каллуса, который затем можно использовать для регенерации растений.

2) Суспензионная культура: включает культивирование соматических клеток в жидкой питательной среде с регуляторами роста для индукции деления и роста клеток.

3) Культура протопластов: включает удаление клеточной стенки соматических клеток с образованием протопластов, которые затем можно культивировать в питательной среде для образования каллусной ткани или регенерировать в целые растения [33].

Культуры репродуктивных клеток включают выделение и манипулирование гаметами (сперматозоидами и яйцеклетками) или зиготами (оплодотворенными яйцеклетками) для получения новых сортов тритикале. Это включает методы экстракорпорального оплодотворения и культивирования эмбрионов, которые позволяют разрабатывать новые генетические комбинации и получать гибридные растения тритикале.

Способы культивирования репродуктивных клеток тритикале:

1) Культура пыльников: включает культивирование незрелых пыльников тритикале в питательной среде, содержащей регуляторы роста, чтобы вызвать образование каллусной ткани, которую затем можно использовать для регенерации растений.

2) Культура микроспор: включает выделение незрелых пыльцевых зерен и их культивирование в питательной среде с регуляторами роста для индукции эмбриогенеза и регенерации растений [34].

## 2 Объекты, материалы и методы

Исследование проводилось в лаборатории «Биотехнологии» здания Технопарка в стенах университета им. К.И. Сатпаева, расположенного в г. Алматы под руководством доктора биологических наук, профессор Анапияева Б.Б. (рис.4).

Основной задачей предмета исследования является отбор растительных эксплантов, пригодных для культивирования изолированных клеток исследуемой культуры тритикале в стерильных условиях.

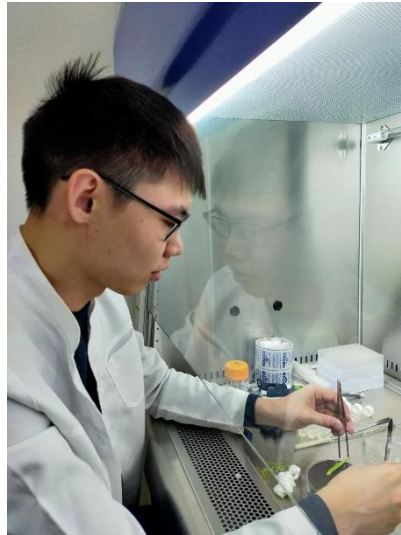


Рисунок 4 - Культивирование изолированных клеток тритикале в условиях *in vitro*

### 2.1 Объект исследования

В работе были использованы 2 сорта ярового тритикале – Кармен и Доброе и 1 сорт озимого тритикале Т-14 (рис. 5).



Рисунок 5 – Зерна тритикале Доброе (слева) и Кармен (справа)

## 2.2 Материалы исследования

В ходе работы были использованы следующие оборудования и приборы:

- автоклав;
- ламинарный бокс;
- термостат.

Лабораторная посуда, использованная в ходе исследовательских работ:

- чашки Петри;
- пробирки;
- скальпель;
- пинцет медицинский;
- препаравальные иглы.

## 2.3 Методы исследования

Дезинфекция посуды. Процесс дезинфекции посуды заключается в ее тщательном мытье либо моющими средствами, либо раствором двуокиси калия в серной кислоте. После мытья чистая посуда ополаскивается дистиллированной водой, а затем полностью высушивается в сушильном шкафу. Чтобы стерилизованные предметы не загрязнялись воздухом, перед стерилизацией их оборачивают оберточной бумагой, горлышки стаканов и колб оборачивают алюминиевой фольгой. Затем посуду помещают в сушилку, а шкаф нагревают до температуры 160°C в течение 1,5-2 часов, в течение которых будут уничтожены бактерии и другие микроорганизмы.

Дезинфекции инструментов. Необходимые инструменты, такие как скальпели, пинцеты и иглы, следует стерилизовать нагреванием в сухожаровом шкафу в течение двух часов при температуре 140°C. Однако металлические предметы не следует обрабатывать в автоклаве, так как это может привести к ржавчине и затуплению острых предметов. Во время работы инструменты следует стерилизовать, нагревая их в фарфоровом стакане с 70%-ным этиловым спиртом и спиртовым пламенем в ламинарном боксе. Стерильные инструменты следует использовать только один раз, а если их необходимо использовать повторно, их необходимо снова стерилизовать.

Ламинарный бокс. Первоначально ламинарный бокс, используемый для лабораторных процедур, должен быть продезинфицирован. Строгое соблюдение стерильности имеет решающее значение при получении пыльников из изолированных культур, поскольку на используемой нами питательной среде могут быстро размножаться микроорганизмы. Кроме того, состав питательной среды может значительно варьироваться в зависимости от активности микроорганизмов.

Перед началом работы внутреннюю часть ламинарного шкафа необходимо промыть 70% раствором этилового спирта и поместить в него все необходимые



инструменты и материалы, такие как спирт, спиртовка, стерилизованные инструменты, посуда. Все работы с растительным материалом следует производить либо на стерильной поверхности, либо в стерилизованных чашках Петри.

## 2.4 Приготовление питательной среды

Для обеспечения быстрого и эффективного роста органов и клеток растений используют питательные среды, содержащие различные комбинации гормонов. Для культивирования различных тканей и клеток растений питательные среды должны содержать все необходимые микроэлементы, витамины, фитогормоны и углеводы. Поскольку питательная среда играет решающую роль в последующем развитии растений, ее используют с углеводами, обычно сахаром или глюкозой в разных концентрациях.

В работе было использовано 2 питательные среды – Мурасига – Скуга и Гамбург В5. (табл. 1,2). Были использованы готовые питательные среды Sigma (рис.6). Среда готовится следующим образом:

1. Подготавливают маточные растворы макро- и микроэлементов, витаминов, регуляторов роста.

2. Для приготовления 1л среды в стакан объемом 1л, пипеткой переносят необходимый объем каждого из исходных растворов.

3. Отдельно растворяют мезо-инозитол и сахарозу в небольших объемах дистиллированной воды. Затем добавьте полученные растворы в стакан с маточными растворами.

4. Переливают питательную среду из стакана в мерный цилиндр и добавляют дистиллированную воду до объема 950 мл.

5. Доводят рН среды до желаемого значения, добавляя капли HCl или NaOH (KOH), пока рН не станет правильным. рН доводят до 5,6 – 6,0.

6. В стакан со средой помещают навеску пластинчатого агара (6-7 г) и нагревают на плите при помешивании до растворения (но не кипения).

7. Подогревают питательную среду до 50-60°C и соединяют с горячим раствором агара. Если агар порошкообразный, добавляют его непосредственно в среду небольшими порциями и растворяют каждую порцию, чтобы не было комочков.

8. Добавляют теплую дистиллированную воду, чтобы довести объем среды до 1 л, и тщательно перемешивают.

9. Приготовленную питательную среду разливают в пробирки до четверти их объема и закрывают пробирки колпачками или фольгой. Пробирки помещают в металлические стойки.

10. Штативы с пробирками автоклавируют 15 мин при давлении 0,7-1 атм.



Рисунок 6 – Питательная среда Sigma Гамбург В5 (слева) и Мурасиге – Скуга (справа)

Таблица 1 – Компоненты, необходимые для изготовления питательной среды Мурасига – Скуга

Компоненты	Концентрация солей в 1 литре мг	V маточного р-ра, мл для приготовления 1 литра среды
<i>маточный раствор макроэлементов</i>		
$\text{NH}_4\text{NO}_3$	33000	50
$\text{KNO}_3$	38000	
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	8800	
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	7400	
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	3400	
<i>маточный раствор микроэлементов</i>		
KJ	166	5
$\text{H}_3\text{BO}_3$	1240	
$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	4460	
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	1720	
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	50	
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	5	
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	5	
<i>маточный раствор хелатного железа</i>		
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	5560	5
$\text{Na}_2\text{ЭДТА} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	7460	
<i>витамины и органические вещества</i>		
Мезоинозит	20000	5
Никотиновая кислота	100	

Пиридоксин-НСI	100	
Тиамин-НСI	100	
Глицин	400	
Добавлять в виде порошка в среду перед варкой:		
Сахароза - 30 г/л		
Агар-агар - 7 г/л		

Таблица 2 – Компоненты, необходимые для изготовления питательной среды Гамбург В5

Компоненты	Концентрация солей в 1 литре, мг	V маточного р-ра, мл для приготовления 1 литра среды
<i>маточный раствор макроэлементов</i>		
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	2680	50
KNO <sub>3</sub>	50000	
CaCl <sub>2</sub> *2H <sub>2</sub> O	3000	
MgSO <sub>4</sub> *7H <sub>2</sub> O	5000	
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> *H <sub>2</sub> O	3000	
<i>маточный раствор микроэлементов</i>		
KJ	75	10
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	3300	
MnSO <sub>4</sub> *H <sub>2</sub> O	1000	
ZnSO <sub>4</sub> *7H <sub>2</sub> O	200	
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> *2H <sub>2</sub> O	25	
CuSO <sub>4</sub> *5H <sub>2</sub> O	25	
CoCl <sub>2</sub> *6H <sub>2</sub> O	2	
<i>маточный раствор хелатного железа</i>		
FeSO <sub>4</sub> *7H <sub>2</sub> O	5560	5
Na <sub>2</sub> ЭДТА*2H <sub>2</sub> O	7460	
<i>витамины и органические вещества</i>		
Мезоинозит	10000	10
Никотиновая кислота	100	
Пиридоксин-НСI	100	
Тиамин-НСI	1000	
Добавлять в виде порошка в среду перед варкой:		
Сахароза - 30 г/л		
Агар-агар - 7 г/л		
рН готовой среды - 5.5		

### 3 Результаты исследования

Обширные экспериментальные данные свидетельствуют о том, что инициация образования каллуса, ключевого морфогенетического пути для пыльников и зародышевых клеток злаков *in vitro*, в первую очередь зависит от условий культивирования. Среди этих условий критическими факторами являются соответствующий баланс эндогенных фитогормонов в эксплантате на момент инокуляции, а также экзогенные фитогормоны, содержащиеся в питательной среде для индукции. Кроме того, генотип особи-донора и физиологическое состояние экспланта во время инокуляции на питательную среду также играют значительную роль в этом процессе.

При культивировании тритикале *in vitro* каллусы были успешно получены с использованием питательных сред Гамбург В5 с добавлением БАП и МС с добавлением 2,4-D. Полученные каллусы показаны на рисунке 7. Важно подчеркнуть, что процесс образования каллусов различался по скорости и эффективности, что может быть связано с такими факторами, как конкретная используемая питательная среда, количество пыльников, помещенных в среду и эффективности стерилизации. Многочисленные факторы способствуют процессу каллусогенеза.

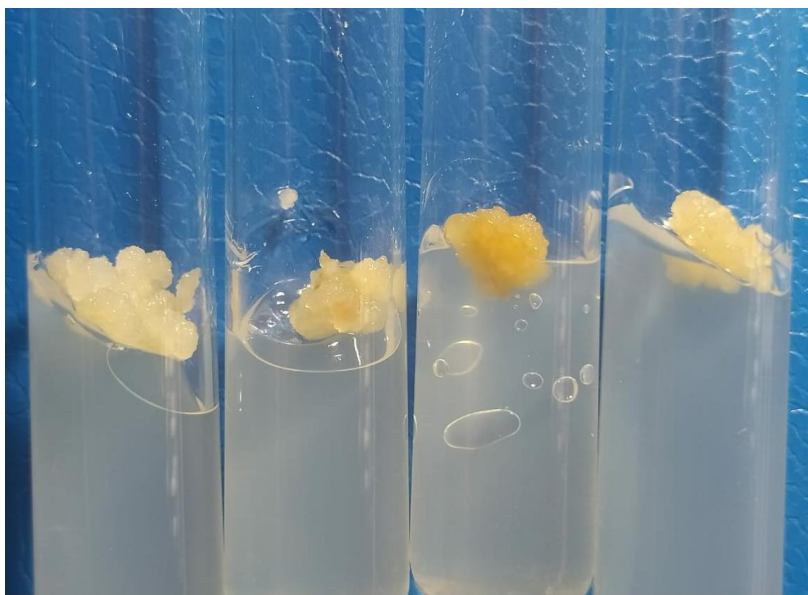


Рисунок 7 – Каллусы тритикале

Ниже приведены статистические данные показывающие динамику каллусогенеза, роста в зависимости от питательной среды, а также представлена общая сводка. Данные приведены в таблице 3 и 4.

Таблица 3 - Изучение факторов влияющих на частоту процессов каллусогенеза в культуре соматических клеток яровых форм тритикале *in vitro*

№	Генотип	К-во пыльников	К-во «К»	%	Холодовая предобработка	Среда
1	Доброе Иркутск яровое Тритикале	234	8	3,41	4	МС
2	Доброе Иркутск яровое Тритикале	180	2	1,11	2	ГВ5
3	Кармен Иркутск яровое Тритикале	176	4	2,27	1	МС
4	Кармен Иркутск яровое Тритикале	162	5	3,08	3	ГВ5

Самый высокий каллусогенез у генотипа ярового тритикале «Доброе», посаженные на среду МС и составляет 3,41%. При культивировании 234 пыльников, было сформировано 8 каллусов. А самый низкий показатель у ярового тритикале «Доброе» посаженные на среду ГВ5, то есть при культивировании 180 пыльников, частота образования калусогенеза составила всего 1,11%. В остальных генотипах частота образования калусогенеза составляет:

- яровое тритикале «Кармен» на среде МС - 3,33%;
- яровое тритикале «Кармен» на среде ГВ5 - 3,08%;

Из этих показателей мы видим, что для получения соматических каллусов ярового тритикале сорта «Доброе» оптимальным является питательная среда МС, где частота каллусогенеза составил 3,41 %,

Таблица 4 - Изучение факторов влияющих на частоту процессов каллусогенеза в культуре соматических клеток яровых форм тритикале *in vitro*

№	Генотип	К-во пыльников	К-во «К»	%	Холодовая предобработка	Среда
1	Т-14-27 Иркутск озимая Тритикале	234	7	2,99	2	МС

2	Т-14-27 Иркутск озимая Тритикале	88	1	1,13	4	ГВ5
---	--	----	---	------	---	-----

Было обнаружено, что для сорта озимого тритикале «Т-14» оптимальным для каллусогенеза является среда МС, где процент каллусогенеза составило – 2,99 %.

Таким образом, было установлено, что частота процессов каллусогенеза в культуре изолированных клеток тритикале *in vitro* зависит от многих факторов. Основными факторами влияющих на частоту процессов каллусогенеза являются исходный генотип донорного растения, длительность холодовой предобработки и составы питательных сред.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе работы были выполнены и получены следующие результаты:

1. Оптимизированы условия культивирования и методы стерилизации эксплантов для введения в культуру изолированных клеток тритикале;
2. Изучены факторы, влияющие на частоту процессов каллусогенеза в культуре изолированных клеток тритикале (*Triticosecale*) в условиях *in vitro*;
3. Для получения соматических каллусов ярового тритикале сорта «Доброе» оптимальным является питательная среда МС, где частота каллусогенеза составило 3,41 %, для сорта ярового тритикале «Кармен» оптимальным для каллусогенеза является среда ГВ5, где процент каллусогенеза составило – 3,08 %, для сорта озимого тритикале Т-14 оптимальным является питательная среда МС, где частота каллусогенеза составило 2,99 %.

## **ПЕРЕЧЕНЬ ПРИНЯТЫХ СОКРАЩЕНИИ**

БАП - 6- бензиламинопурин

2,4-D - 2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота

МС – питательная среда Мурасига – Скуга

ГБ5 - питательная среда Гамбург В5

К -каллус



## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Samim M. M., Zhumashev J. J. The study of triticale for resistance to leaf rust // News of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan series of agricultural sciences. – Almaty, 2017. – № 3(39). – p. 174 - 181
- 2 Чумикина Л. В., Арабова Л. И., Колпакова В. В., Толпунов А. Ф. Особенности создания зерновой культуры тритикале и возможности ее применения // Известия вузов. Пищевая технология. 2008. №5-6.
- 3 Вильдфлуш И.Р. Современные технологии возделывания сельскохозяйственных культур: учебно-методическое пособие / И. Р. Вильдфлуш [и др.]; под ред. И. Р. Вильдфлуша, П. А. Саскевича. – Гор-ки: БГСХА, 2016. – 383 с.
- 4 Zillinsky F (1985) Triticale-an update on yield, adaptation, and world production. In: Forsberg RA (ed) Triticale. CSSA, Madison, p. 1–7
- 5 Этапы развития и результаты селекции тритикале в Казахстане / Айнебекова Б.А. // Система создания кормовой базы животноводства на основе интенсификации растениеводства и 42 использования природных кормовых угодий: Материалы Международной научной конференции (27-28 мая 2016 года). – Алмалыбак: ТОО «Асыл кітап» Баспа үйі, 2016. – С.191-193.
- 6 Селекция озимого гексаплоидного тритикале в Казахстане / Айнебекова Б.А. // Сборник научных трудов, посвященный 75 – летию академика НАН РК, РАСХН и УААН Уразалиева Р.А.- Алматы, 2010. - С. 24-31.
- 7 K.K. Zhanabayeva, N.O. Ongarbayeva, G.A. Ruchkina, G.K. Yesseyeva and V.L. Smolyakova, 2018. Features of Technological Properties of Triticale Grain of Kazakhstan's Selection. Journal of Engineering and Applied Sciences, 13: 8292-8299.
- 8 Яровое тритикале: возделывание в Нечерноземной зоне России / ФГБНУ ВНИИОУ; [редкол.: С.М. Лукин, Л.И. Ильин]. – Владимир: Транзит-ИКС. 2017. -30 с.
- 9 Айрих Е. В. Распространение и перспективы использования тритикале // «Животноводство и кормопроизводство» - Оренбург, 2013. - №3 - С. 106-109.
- 10 Van Barneveld R.J. Triticale: a guide to the use of triticale in livestock feeds / R.J. Van Barneveld - Kingston, Australia, Grains Research Development Corporation, 2002. - 12 p.
- 11 Samim M. M., Zhumashev J. J. The triticale cultivation area in the world // News of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan series of agricultural sciences. – Almaty, 2017. - Volume 3, Number 39, 216 - 221
- 12 Тритикале – ценная кормовая культура /Б.А. Айнабекова, С. Шортанбаева// Биологические основы селекции и генофонда растений: Мат-лы международной научной конференции, посвященной 70-летию академика НАН РК, РАСХН и УААН Уразалиева Р.А. (г.Алматы, 3-4 ноября 2005г.). - Алматы, 2005. - С.260-261.

13 Нурпеисов Д. Н., Айтуганов К. К., Айтхожин С. К., Шестакова Н.А., Гордеева Е.А., Швидченко В. К. Продуктивность ярового тритикале в условиях сухой степи Севера Казахстана в зависимости от сроков посева, норм высева и доз минеральных удобрений // Вестник науки Казахского агротехнического университета им. С. Сейфуллина. – Астана, 2022. - №1(112). – С. 21-32.

14 Айнебекова Б.А. Селекционно-биологическая оценка озимого тритикале в Казахстане // Материалы международной научно-практической конференции «Тритикале и его роль в условиях нарастания аридности климата» и секции тритикале отделения растениеводства РАСХН. - Ростов - на –Дону, 2012. - С.103-110.

15 Ковтуненко В. Я., Панченко В. В., Калмыш А. П. Использование яровых тритикале в селекции озимых // «Тритикале. Селекция, генетика, агротехника и технологии переработки сырья». - Ростов-на-Дону, 2021. - №9. – С. 33 – 42.

16 Mergoum, M. *et al.* (2019). Triticale (*x Triticosecale* Wittmack) Breeding. In: Al-Khayri, J., Jain, S., Johnson, D. (eds) *Advances in Plant Breeding Strategies: Cereals*. Springer, Cham.

17 Randhawa, H. S., Bona, L., & Graf, R. J. // *Triticale breeding-progress and prospect* - Cham, Switzerland, 2015 - pp. 15 – 32.

18 Уразалиев Р.А., Айнебекова Б.А Селекция сортов озимого тритикале для юга и юго-востока Казахстана // Достижения и перспективы развития аграрной науки в области земледелия и растениеводства «Сборник пленарных докладов Международной научно - практической конференции, посвященной 80 – летию КазНИИЗиР». Т.2. – Алмалыбак: ТОО «Асыл кітап» (Баспа үйі), 2014. – С.410-412.

19 Гриб С.И., Буштевич В.Н., Булавина Т.М. Яровое тритикале: основные преимущества и особенности технологии возделывания / Гриб С.И., Буштевич В.Н., Булавина Т.М. // «Современные ресурсосберегающие технологии производства растениеводческой продукции в Беларуси»: Сб. науч. матер. - Минск: «ИВЦ Минфина», 2007. - С.139 – 142.

20 Blum, A. The Abiotic Stress Response and Adaptation of Triticale — A Review. *Cereal Research Communications* 42, 359–375 (2014).

21 Jessop, R.S. 1996. Stress tolerance in newer triticales compared to other cereals. In: Guedes-Pinto, H., Darvey N., Carnide, V.P. (eds), *Triticale: Today and Tomorrow. Developments in Plant Breeding*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, pp. 419–428.

22 McIntyre, B.L., Chen, T.H.H., Mederick, M.F. 1988. Physiological traits associated with winter survival of winter wheats and winter triticales in Alberta. *Can. J. Plant Sci.* 68:361–366

23 Tshewang, S., Birchall, C., Jessop, R. 2010. Evaluation of the frost tolerance of triticale varieties and other winter cereals at flowering. In: Dove, H., Culvenor, R.A. (eds),

Food Security from Sustainable Agriculture. Proc. 15th Agron. Conf. 2010, 15–18 November 2010, Lincoln, New Zealand.

24 Osborne, L.D., Rengel, Z. 2002. Screening cereals for genotypic variation in efficiency of phosphorus uptake and utilization. *Aust. J. Agric. Res.* 53:295–303

25 Isfan, D., Cserni, I., Tabi, M. 1991. Genetic variation of the physiological efficiency index of nitrogen in triticale. *J. Plant Nutr.* 14:1381–1390.

26 Arseniuk E. Triticale biotic stresses--an overview. *Commun Agric Appl Biol Sci.* 2014;79(4):82-100.

27 Dumalasova V., and Bartos P., (2010). Reaction of wheat, alternative wheat and triticale cultivars to common bunt. *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding – UZEI.* 46(1): 14-20

28 Rochat L., Péchy-Tarr M., Baehler E., Maurhofer M., Keel C. (2010) Combination of fluorescent reporters for simultaneous monitoring of root colonization and antifungal gene expression by a biocontrol pseudomonad on cereals with flow cytometry. *MPMI* 23 (7): 949–961.

29 Arseniuk E., 2019. Recent Developments in Triticale Breeding Research and Production-An Overview. *Ekin J.* 5(2):68-73, 2019.

30 Niedziela A., Orłowska R., Machczyńska J., and Bednarek P. T., (2016). The genetic diversity of triticale genotypes involved in Polish breeding programs. *SpringerPlus* 5(355):1-7.

31 Reszka E., Song Q., Arseniuk E., and Cregan P. B., (2007). The QTL Controlling Partial Resistance to *Stagonospora nodorum* Blotch Disease in Winter Triticale Bogo. *Plant Pathology Bulletin* 16:161-167

32 Hakeem K. R., Tombuloğlu H., Tombuloğlu G., (2016). *Plant Omics Trends and Applications.* Springer, Switzerland.

33 Pachota, K.A. Comparison of tissue culture-induced variation in triticale regenerants obtained by androgenesis and somatic embryogenesis.

34 Kwiatek, M. T., and Nawracała, J. Chromosome manipulations for progress of triticale ( $\times$ Triticosecale) breeding. *Plant Breed.* 137, 823–831.

## РЕЦЕНЗИЯ

на дипломную работу

Ракаева Армана Кабдрешевича

6B05101 - «Химическая и биохимическая инженерия»

На тему: «Биотехнология культивирования изолированных клеток тритикале»

Выполнено:

- а) графическая часть на 6 листах;
- б) пояснительная записка на 35 листах;

### ЗАМЕЧАНИЯ К РАБОТЕ

Дипломная работа Ракаева А.К. является законченным исследованием и было нацелено на изучение факторов влияющих на частоту процессов каллусогенеза в культуре изолированных клеток тритикале in vitro. Работа содержит обзор литературы, материалы и методы, результаты исследования и заключения.

Дипломная работа соответствует требованиям государственного стандарта, направлению и профилю профессиональной подготовки студента.

Процесс выполнения исследования был направлен на постановку и процесса культивирования изолированных клеток тритикале на различных питательных средах. Автором были проанализированы основные источники литературы по данному вопросу. Изучены влияния на выбор различных питательных сред на процесс каллусогенеза соматических клеток тритикале. Проведены результаты практической оценки полученных результатов, полученные выводы и заключения соответствуют целям и задачам исследований.

Существенных недостатков работа не имеет.

### Оценка работы

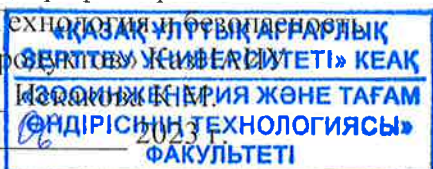
Дипломная работа соответствует предъявленным требованиям и заслуживает оценки «отлично» 97 балла. Автор дипломной работы Ракаев Арман Кабдрешевича достоин степени бакалавра по специальности 6B05101 – «Химическая и биохимическая инженерия».

### Рецензент

Доктор PhD, профессор

кафедры «Технология и биоинженерия»  
пищевых продуктов» ЖИВЕРСИУ

«08» 06 2023 г.



## ОТЗЫВ

### НАУЧНОГО РУКОВОДИТЕЛЯ

на дипломную работу

Ракаева Армана Кабдрешевича

6B05101 – «Химическая и биохимическая инженерия»

Тема: «Биотехнология культивирования изолированных клеток тритикале»

В данной дипломной работе подчеркивается важность культивирования изолированных клеток зерновых культур на примере тритикале, которые имеют большое значение для сельского хозяйства и кормовой промышленности. Метод культивирования *in vitro* обладает большими преимуществами, поскольку позволяет значительно расширить генетический базис селекции тритикале. Дипломная работа написана ясно, четко и последовательно.

Цели и задачи формулируются точно в соответствии с темой дипломной работы. Теоретическая часть работы демонстрирует всестороннее понимание и подкреплена широким кругом достоверных источников.

В ходе исследования Ракаев А. проявил самостоятельность и провел тщательные исследования. Проведенные исследования соответствуют поставленной цели, а полученные результаты позволили сделать аргументированные и ясные выводы. Оформление дипломной работы отвечает принятым стандартом.

Исходя из вышеизложенного считаю, что дипломная работа Ракаева А. соответствует всем требованиям для получения степени бакалавра по специальности 6B05101 – «Химическая и биохимическая инженерия» и заслуживает оценки «Отлично» - 97%.

#### Научный руководитель

Доктор биологических наук,

Профессор

 Анапияев Б. Б.

«05» июня 2023 г.



## Metadata

Title

**Биотехнология культивирования изолированных клеток тритикале.doc**

Author(s)

**Ракаев Арман Кабдрешевич**

Coordinator






**Бакытжан Анапияев**

Organizational unit

**ИГИНГД**

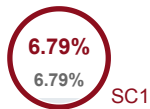
## List of possible text manipulation attempts

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.

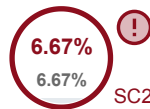
Characters from another alphabet		0
Spreads		0
Micro spaces		30
Hidden characters		0
Paraphrases (SmartMarks)		5

## Record of similarities

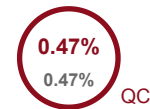
Please note that high coefficient values do not automatically mean plagiarism. The report must be analyzed by an authorized person.

**25**

The phrase length for the SC 2

**5907**

Length in words

**45001**

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://practice.biotechnolog.ru/recept1.htm">http://practice.biotechnolog.ru/recept1.htm</a>	148	2.51 %
2	<a href="http://practice.biotechnolog.ru/recept1.htm">http://practice.biotechnolog.ru/recept1.htm</a>	143	2.42 %
3	<a href="http://xn--80ag4abjdei4b.xn--p1ai/files/1/3kovtunenکو2020.pdf">http://xn--80ag4abjdei4b.xn--p1ai/files/1/3kovtunenکو2020.pdf</a>	37	0.63 %
4	<a href="http://xn--80ag4abjdei4b.xn--p1ai/files/1/3kovtunenکو2020.pdf">http://xn--80ag4abjdei4b.xn--p1ai/files/1/3kovtunenکو2020.pdf</a>	36	0.61 %
5	<a href="http://www.dslib.net/semeno-vodstvo/ocenka-ishodnogo-materiala-ozimoj-tritikale-v-srednem-predurale.html">http://www.dslib.net/semeno-vodstvo/ocenka-ishodnogo-materiala-ozimoj-tritikale-v-srednem-predurale.html</a>	30	0.51 %
6	<a href="http://practice.biotechnolog.ru/recept1.htm">http://practice.biotechnolog.ru/recept1.htm</a>	7	0.12 %

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 (6.79 %) 

NO	SOURCE URL	NUMBER OF IDENTICAL WORDS (FRAGMENTS)	
1	<a href="http://practice.biotechnolog.ru/recept1.htm">http://practice.biotechnolog.ru/recept1.htm</a>	298 (3)	5.04 %
2	<a href="http://xn--80ag4abjdei4b.xn--p1ai/files/1/3kovtunenکو2020.pdf">http://xn--80ag4abjdei4b.xn--p1ai/files/1/3kovtunenکو2020.pdf</a>	73 (2)	1.24 %
3	<a href="http://www.dslib.net/semeno-vodstvo/ocenka-ishodnogo-materiala-ozimoj-tritikale-v-srednem-predurale.html">http://www.dslib.net/semeno-vodstvo/ocenka-ishodnogo-materiala-ozimoj-tritikale-v-srednem-predurale.html</a>	30 (1)	0.51 %

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

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