

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

*Синякова Ирина Евгеньевна
Чалых Екатерина Аркадьевна*

Культура соматических клеток тритикале in vitro

ДИПЛОМНАЯ РАБОТА

6В05101 – Химическая и биохимическая инженерия

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

ДОПУЩЕНЫ К ЗАЩИТЕ

Заведующий кафедрой

Химической и биохимической
инженерии

Доктор Ph.D.

Амитова А.А.

«10» 06 2024 г.



ДИПЛОМНАЯ РАБОТА

На тему: «Культура соматических клеток тритикале in vitro»

6B05101 – Химическая и биохимическая инженерия

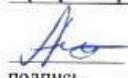
Выполнили

Синякова Ирина Е. и Чалых
Екатерина А.

Рецензент
Доктор PhD, Заведующий
кафедрой, КазНАИУ

Научный руководитель
Доктор биологических наук
Профессор


Жанбырбаев Е.А.
подпись
«31» 05 2024 г.


Анапияев Б.Б.
подпись
«31» 05 2024 г.

Алматы 2024

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

УТВЕРЖДАЮ

Заведующий кафедрой
Химическая и биохимическая
инженерия
Доктор Ph.D.


Амитова А.А.

«15» 01 2024 г.

ЗАДАНИЕ

на выполнение дипломной работы

Обучающимся Синяковой Ирине Е., Чалых Екатерине А.

Тема: Культура соматических клеток тритикале *in vitro*

Утверждена приказом 125 МДИ РК № от «1405» 2024г.

(курирующий проректор)

Срок сдачи законченной работы «15» 06 20__ г.

Исходные данные к дипломной работе:

Краткое содержание дипломной работы:

а) Изучение влияния состава питательных сред на частоту процессов

каллусогенеза в культуре соматических клеток тритикале *in vitro*;

б) Изучение влияния генотипа на частоту процессов каллусогенеза в культуре
соматических клеток тритикале *in vitro*;

в) Выделение и введение в культуру *in vitro* соматических клеток тритикале;

Перечень графического материала (с точным указанием обязательных чертежей):
представлены 18 слайдов презентации работы

Рекомендуемая основная литература: из 40 наименований

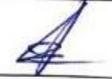
ГРАФИК

подготовки дипломной работы (проекта)

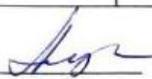
Наименование разделов, перечень разрабатываемых вопросов	Сроки представления на учному руководителю	Примечание
Литературный обзор	20.02.2024	Выполнено
Введение	10.03.2024	Выполнено
Материалы и методы работы	28.03.2024	Выполнено
Экспериментальная часть и результаты	27.04.2024	Выполнено
Оформление работы по стандартам	29.05.2024	Выполнено

Подписи

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

Наименование разделов	Консультанты, И.О.Ф. (уч. степень, звание)	Дата подписания	Подпись
Литературный обзор	Доктор биологических наук Профессор Анапияев Б.Б	20.02.2024	
Введение	Доктор биологических наук Профессор Анапияев Б.Б	10.03.2024	
Материалы и методы работы	Доктор биологических наук Профессор Анапияев Б.Б	28.03.2024	
Экспериментальная часть и результаты	Доктор биологических наук Профессор Анапияев Б.Б	27.04.2024	
Нормоконтролер	Доктор биологических наук Профессор Анапияев Б.Б		

Научный руководитель


подпись

Анапияев Б.Б

Ф.И.О.

Задание приняли к исполнению обучающиеся



подписи

Синякова И.Е.
Чалых Е.А.

Дата

« 31 » 05 2024 г

АННОТАЦИЯ

Бұл дипломдық жұмыста соматикалық тритикале жасушаларының культурасындағы каллузогенез процестерінің жиілігіне әсер ететін негізгі факторлар қарастырылады. Қысқы тритикаленің бастапқы генотипі, каллузогенез процестерінің жиілігіне әсер ететін қоректік орталардың құрамы және фитогормондар сияқты факторлар зерттелді.

T1 және T2 күздік тритикале сорттарының генотипінің және Мурашиге-Скоог және Гамбург B5 қоректік орталарының әсері зерттелді. Фитогормондар ретінде 2,4-D және BAP пайдаланылды.

Зерттеулер нәтижесінде *in vitro* жағдайында қысқы тритикаленің соматикалық жасушаларының дақылында каллузогенез процестерінің жиілігіне әсер ететін негізгі факторлар анықталды.

Негізгі сөздер: *соматикалық жасушалар, қоректік орта, тритикале, генотип, фитогормондар, калусогенез, Мурашиге-Скуг, Гамбург B5*

АННОТАЦИЯ

Данная дипломная работа рассматривает основные факторы, которые влияют на частоту процессов каллусогенеза в культуре соматических клеток тритикале. Были изучены такие факторы как исходный генотип озимого тритикале, составы питательных сред и фитогормоны, которые влияют на частоту процессов каллусогенеза.

Были изучены влияние генотипа озимой тритикале сорта T1 и T2 и питательных сред Мурасиге-Скуга и Гамборга B5. В качестве фитогормона были использованы 2,4-Д и БАП.

В результате проведенных исследований были выявлены основные факторы, которые влияют на частоту процессов каллусогенеза в культуре соматических клеток озимой тритикале в условиях *in vitro*.

Ключевые слова: *соматические клетки, питательная среда, тритикале, генотип, фитогормоны, калусогенез, Мурасиге — Скуга, Гамборга B5.*

ANNOTATION

This thesis examines the main factors that influence the frequency of callusogenesis processes in the culture of somatic triticale cells. Factors such as the initial genotype of winter triticale, the composition of nutrient media and phytohormones that affect the frequency of callusogenesis processes were studied.

The influence of the genotype of winter triticale varieties T1 and T2 and the Murashige-Skoog and Gamborg B5 nutrient media were studied. 2,4-D and BAP were used as phytohormones.

As a result of the studies, the main factors were identified that influence the frequency of callusogenesis processes in the culture of somatic cells of winter triticale under *in vitro* conditions.

Key words: *somatic cells, nutrient medium, triticale, genotype, phytohormones, calusogenesis, Murashige-Skoog, Hamburg B5.*

СОДЕРЖАНИЕ

1	Литературный обзор	7
1.1	История тритикале	7
1.2	Анатомическое строение тритикале	8
1.3	Биохимия	10
1.4	Сорта тритикале	13
1.5	Селекция тритикале	16
1.6	Культивирование тритикале	20
2	Введение	25
2.1	Актуальность исследования	25
2.2	Цель и задачи исследования	25
3	Материалы и методы работы	26
3.1	Материалы	26
3.2	Оборудование	26
4	Экспериментальная часть	27
4.1	Последовательность эксперимента	27
4.2	Обсуждение эксперимента	33
	Заключение	38
	Выводы	39
	Список использованной литературы	40

1 Литературный обзор

В современном мире сельского хозяйства и биотехнологий исследователи постоянно стремятся разработать эффективные методы увеличения урожайности и улучшения качества сельскохозяйственных культур. В этом контексте культивирование соматических клеток представляет собой важную область исследований, которая обещает значительные результаты в улучшении сельскохозяйственных культур.

Тритикале (\times *Triticosecale* Wittmack) — это искусственно созданный вид злаковых, был выведен из пшеницы (*Triticum aestivum* L.) и ржи (*Secale cereale* L.). Первое описание тритикале приходится ещё на 19 век Шотландским ботаником А. Стивенсом Уилсоном. Он описывал что в результате скрещивания стал октоплоидный гибрид с геномом AABBDDRR с базовой геномной конструкцией $x = 7$. В дальнейшем были получены были выведены различные виды тритикале с разными уровнями пloidности и хромосомными конституциями, все они сочетают различные полезные аграрные, морфологические и физиологические свойства [1].

1.1 История тритикале

Тритикале – новый ботанический вид. Объединив хромосомные комплексы двух разных ботанических родов пшеницы и ржи селекционерам впервые удалось синтезировать новую культуру, сочетающую в одном организме ценные свойства этих родов. Желание объединить ценные свойства пшеницы и ржи в одном организме существует уже давно. В истории изучения тритикале А.Ф. Шулындин выделяет следующие этапы: получение первых пшенично-ржаных спонтанных аллоплоидов в конце прошлого века немецким селекционером В. Римпау, создание гескаплоидных аллоплоидов в тридцатых годах А.И. Державин, который к этому времени расшифровал цитологические основы сока тритикале, Г.А. Левицкий, Г.Н. Бенедикой, М. Lindschau, E. Oehler, создание первого искусственного октоплоидного аллоплоида E. Dorsey воздействием температурных шоков на опыленные цветки пшенично-ржаных гибридов, активизация получения новых форм тритикале в связи с использованием колхицина; искусственный синтез трехвидовых тритикале (А.Ф.Шулындин). Многие пшенично-ржаные амфидиплоиды были созданы исследователями разных стран мира после А.Ф. Шулындина из пятого отделения. Различные формы пшеницы и ржи были задействованы в скрещиваниях, получении сложных вторичных тритикале, гибридов тритикале и пшеницы или ржи, селекции первых сортов, планировании и реализации обширных программ исследований тритикале во многих научных центрах страны [2]. Название Тритикале происходит от первой части слова *Triticum* (пшеница) и второй части слова *Secale* (рожь). Тритикале – гибрид пшеницы и ржи, амфидиплоид.

Интенсивная программа по созданию октоплоидных форм тритикале была начата в Швеции в 1931 году генетиком и селекционером А. Мюнцингом. Новый тритикале был получен путем скрещивания существующих линий тритикале с пшеницей, затем отбора новых типов тритикале с различными комбинациями хромосом пшеницы и опыления первичных пшенично-ржаных гибридов пыльцой тритикале. В результате скрещивания различных видов тетраплоидных пшениц и ржи были синтезированы гексаплоидные тритикале. Г. Накаджима вывел ряд гексаплоидных тритикале путем скрещивания *T. turgidum* L. X *S. cereale* L., *T. timopheevi* Zhuk с *S. africanum* Starf, *S. montanum* Guss, *S. cereale* L. На основе первого ярового тритикале В. Е. Писарева началась селекция ярового тритикале в Канаде. Эталоном зимостойкости остается амфидиплоид АД 72, полученный в 1945 г. При скрещивании озимой твердой пшеницы Мичуринка с рожью Житинской были выведены гексаплоидные формы - АД 322, АД 240 и др. Гексаплоидное тритикале с 42 хромосомами — результат скрещивания твердой пшеницы и ржи. Початки имеют большое практическое значение из-за высокой зернистости, они более плодовиты и содержат больше белка, чем октаплоидный тритикале (56 хромосом). Гексаплоид тритикале, принадлежащий к семейству Poaceae, имеет состав генома, состоящий из $2n = 6x = 42$ геномов AABBRR. Этот сорт сочетает в себе множество ценных характеристик, таких как высокое качество зерна и плодородность, сбалансированный аминокислотный состав ржи и высокое содержание белка пшеницы, устойчивость к стрессовым факторам, таким как засуха, морозы, засоление и закисление почвы. и устойчивость к болезням злаков. Благодаря этим качествам этот сорт тритикале широко распространен в таких европейских странах, как Испания, Франция, Германия, Польша, Ирландия, Швеция и Болгария. В этих странах зерно используется в качестве корма, а также в качестве пищи для человека, а также для производства биотоплива и биоэтанола. Помимо Европы сок тритикале широко распространен также в развитых странах Азии, Восточной Африки и Латинской Америки. Посевные площади составляют более 4 миллионов гектаров в 27 странах [3].

1.2 Анатомическое строение тритикале

Зерно тритикале длиннее зерна пшеницы (10-12 мм) и шире зерна ржи (максимум 3 мм), с глубокой петлевидной бороздкой в поперечном сечении, туфом и зародышем на концах. Зерна тритикале крупнее своих родителей, поэтому имеют меньший объем и плотность, но большую однородность. Тритикале имеет крупность зерна 0,77, что меньше, чем у пшеницы, а естественный угол наклона составляет 49° по сравнению с 38° у пшеницы. Морфология зерен тритикале представлена на рисунке 1, где показаны продольный (16-кратное увеличение) и поперечный (25-кратное увеличение) срезы зрелого зерна тритикале. Семя тритикале состоит из зародыша, соединенного щитком с эндоспермом, который действует как орган хранения,

переваривания и всасывания. Другой конец эмбриона покрыт пучком волос. По всей длине брюшной стороны стебля имеется бороздка, глубина которой варьирует в зависимости от вида. В начале борозды часто образуется пространство, в котором клетки эндосперма не развиваются. Снаружи тритикале покрыт околоплодником, состоящим из эпидермиса, гиподермы и тонкостенных клеток толщиной около 50 мкм. Под семенной кожурой находится тонкая семенная кожура толщиной около 5 микрон, почти невидимая. Он плотно слит с ядром, окруженным алейроновым слоем. В бороздке околоплодник срастается с пигментной оболочкой и вместе они образуют восковую водоотталкивающую зону, полностью окружающую эндосперм и зародыш. Алейроновый слой тритикале состоит из клеток разного размера: шириной 30-50 мкм и длиной 80-100 мкм. Особенно нарушены размеры, форма и количество алейроновых клеток в передней части борозды. В этой зоне они располагаются в два и три слоя. Крахмалсодержащий эндосперм состоит из трех типов клеток: периферических, или субалейроновых, призматических и центральных клеток. Большая часть эндосперма состоит из призматических клеток длиной 450-500 мкм и шириной 85-120 мкм, заполненных крахмальными гранулами. Центральные клетки эндосперма гораздо меньше, неправильной формы и содержат различное количество крахмальных гранул. Развитие семян тритикале характеризуется сильным повышением активности амилазы на третий-четвертый день после цветения, что приводит к разрушению крахмальных зерен в семенной кожуре, деформации алейроновых клеток и высыханию семенной кожуры. Оболочку сока тритикале отделяют от ядра. Зерна тритикале иногда имеют в эндосперме полости, не заполненные крахмальными зернами, что также способствует увяданию зерна [4].

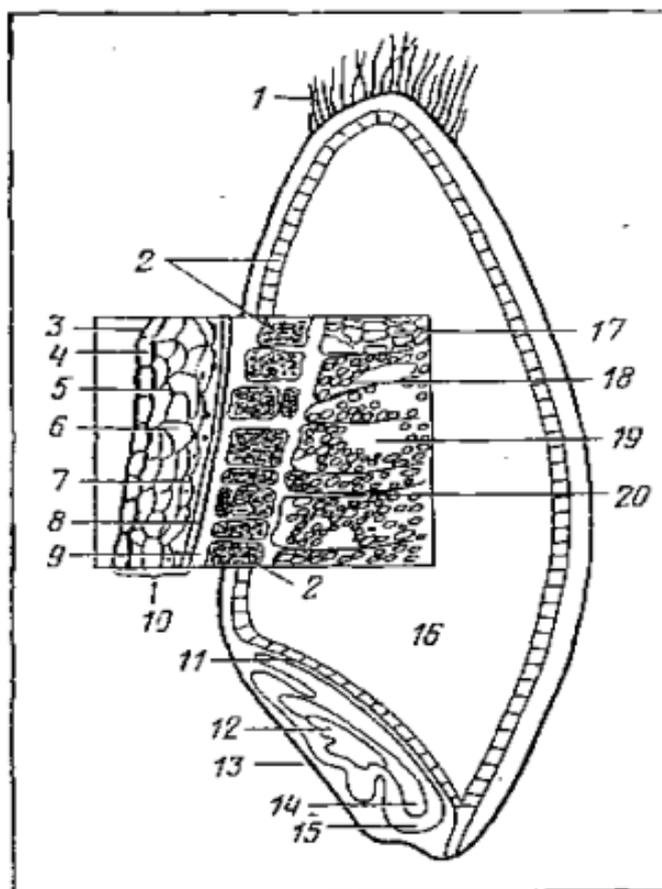


Рисунок 1 – Продольный разрез зерна тритикале (X 16)

1 – хохолок; 2 – алейроновые клетки; 3 – кутикула; 4– гиподерма; 5 – тонкостенные клетки; 7– поперечные клетки; 8 семенная оболочка; 9 – нуцеллярный эпидермис; 10 – перикарпий; 11 – щиток; 12 – почечка зародыша; 13 – зародыш; 14 – корешок; 15 оболочка и чехлик; 16 – эндосперм; 17 – клеточное ядро; 18 крахмальные зерна; 19 – запасной белок; 20 – клеточная оболочка.

1.3 Биохимия

Химический состав и биохимические свойства зерна тритикале типичны для злаков. Оно отличается высоким содержанием углеводов и белка, которое варьируется в широких пределах в зависимости от условий выращивания. Биохимический состав тритикале характеризуется высоким содержанием: углеводов (68,8 %) и белка (12,8 %), 3,1 % клетчатки, 2,0 % золы и 1,5 % жира. Эндосперм тритикале содержит 27-28 % водорастворимых белков, 7-8 % солерастворимых белков, 25-26 % спирторастворимых белков; незаменимые аминокислоты, такие как лизин, валин, лейцин и др. причем содержание важнейшей незаменимой аминокислоты, лизина, значительно выше, чем в пшенице, и близко к показателям кукурузы. Три четверти веса зерна тритикале

составляет крахмал, с низким содержанием амилозы (23,7 %), по сравнению с пшеницей и рожью [5].

Таблица 1 – Сравнительные показатели качество зерна

Показатели качества	Культура		
	тритикале	пшеница	рожь
сорт зерна	АД-206	Мироновская 808	Харьковская 55
запах, вкус, цвет (органолептически)	нормальные		
натура, г/л	716	747	742
линейные размеры, мм			
ширина	3,12	3,22	2,66
толщина	2,75	2,92	2,55
длина	8,15	6,86	8,53
выравненность, %, сход с сита			
2,5x20 мм	75,0	88,0	-
2,2x20 мм	25,0	10,0	78,0
2,0x20 мм	-	1,0	20,0
1,8x20 мм	-	-	1,0
1,7x20 мм	-	1,0	-
1,4x20 мм	-	-	1,0
стекловидность общая, %	78	85	32
масса 1000 зёрен, г	35,10	35,38	26,73
твёрдозёрность, %	21,1	19,0	24,5
зольность, %	1,94	1,79	1,88
крахмал, %	52,0	56,3	55,3
белок, (N x 5,7), %	15,05	11,69	10,09
клетчатка, %	3,55	3,26	3,72

Таблица 2 — Пределы вариации показателей качества зерна тритикале.

Показатели	Пределы вариации		
	Таза	Орда	Балауса
Натура, г/л	667±30	694±57	663±36
Стекловидность, %	58±19	60±15	56±12
Масса 1000 зерен, г	45,2±5,8	38,4±4,7	30±8,9
Твердозерность, %	70±26	33±7	29±9
Выравненность, %	75,4±1,6	72,0±4,6	57,9±2,3
Крупность (сход сита 2,5х20), %	81,1±2,5	76,7±1,1	52,0±3,0
Содержание мелких зерен (проход сита 2,0х20 мм/сход сита 1,7х20 мм), %	1,05±0,15	1,27±0,34	1,07±0,34
Влажность, %	12,2±0,4	12,1±0,4	12,6±0,4
Содержание, %:			
- сырая клейковина	20,2±1,3	21,1±0,8	15,9±2,7
- белок	13,2±0,8	11,2±1,4	10,7±1,3
- крахмал	64,6±3,4	61,5±2,8	62,2±5,5
- жир	2,0±0,3	2,1±0,2	2,0±0,3
- клетчатка	1,0±0,2	1,6±0,3	2,2±0,3
- зола	1,62±0,23	1,88±0,11	2,02±0,05

Зерна тритикале, имеющиеся в продаже и исследуемые при селекции, имеют более широкий диапазон веса по объему, чем зерна сортов, с максимальным значением 800 г/литр. Вес 1000 зерен у разных сортов варьируется в более широких пределах. Однородность семян тритикале варьируется в меньшем диапазоне, то есть площадь товарных зерен оказывает меньшее влияние на однородность, чем площадь сортовой станции на однородность сортовых семян. Что касается общей стекловидности, то можно отметить, что она заметно выше у зерен тритикале [5].

Таблица 3 – Диапазон физических свойств зерна тритикале

Тритикале	Натура, г/л	Масса 1000 зёрен, г	Выравненность, %	Общая стекловидность, %
сортовое	709 – 782	29,72 – 52,29	54,47 – 93,30	54 – 79
товарное	692 – 800	36,76 – 49,93	61,14 – 88,86	39 – 68

1.4 Сорты тритикале

Сорта тритикале можно разделить на три группы в зависимости от их назначения и морфо-физиологических свойств: зерновые, кормовые и зернокормовые. Зерновые сорта растения отличаются сформированным зерном, колосом с большим количеством зерна, невысокой урожайностью. Для кормовых сортов характерен высокий стебель, крупные нежные листья, позднее колошение. Зернокормовые сорта сочетают в себе характеристики зерновых и кормовых сортов тритикале. Так же тритикале, как и пшеницу, делят на яровое и озимое.

Яровая тритикале высаживается высаживают весной, она имеет высокую устойчивость к засухе. Сбор осуществляется в конце августа, начале сентября. Чаще всего сорта яровой тритикале обладают коротким стеблем, что препятствует полеганию. Масса зерен может колебаться от т 44,7 до 45,9 граммов, в то время как урожайность может в среднем достигать до 3,94 т/га [6].

Таблица 4 - Урожайность сортов ярового тритикале.

Сорт	Лет испыта- ний	Урожайность ц/га			
		2015г.	средняя		+,- ст.
			сорта	ст.	
Амиго	2	2,81	2,64	ст.	-
Гребешок	2	2,78	2,58	2,64	-0,06
Аморе	1	3,44	3,44	2,81	+0,63
Саур	1	3,33	3,33	2,81	+0,52
Хайкар	1	3,22	3,22	2,81	+0,41
Ярик	2	3,56	3,89	2,64	+1,25
Среднегодовая урожайность		3,19			

Таблица 5 -Морфологические и хозяйственно-биологические показатели сортов ярового тритикале на Стародубском ГСУ (2015 год)

Сорт	Высота растений, см	Масса 1000 зерен, гр.	Полегание рас- тений, балл	Веget. период, дней	Общая оценка, балл
Амиго	72	45,9	5	79	4
Гребешок	75	44,8	5	79	4
Аморе	65	45,3	5	81	4
Саур	94	45,0	5	81	4
Хайкар	93	44,7	5	79	4
Ярик	73	45,6	5	77	4

Таблица 6 - Морфологические и хозяйственно-биологические показатели сортов ярового тритикале на Дубровском ГСУ

Сорт	Высота растений, см	Масса 1000 зерен, гр.	Полегание растений, балл	Веget. период, дней	Общая оценка, балл
Амиго	82	42,5	5	89	5
Гребешок	90	41,4	5	89	4
Аморе	81	43,0	5	89	5
Саур	105	40,2	3	90	3
Хайкар	103	41,7	3	90	3
Ярик	91	44,5	5	89	5

Озимая тритикале высаживается в осенний период, всю зиму она находится в вегетативной фазе, благодаря высокой морозостойкости, после чего возобновляет свой рост весной. Сбор приходится на позднюю весну начала лета. Так же как и яровая тритикале, озимая, обладает высокой устойчивостью к полеганию, за счет короткого стебля. Масса зерен колеблется в среднем от 50 до 59 грамм, а урожайность может достигать до 5,96 т/га.

Таблица 7 – Морфологические и хозяйственно-биологические показатели сортов озимой тритикале на Стародубском ГСУ (2015 год)

Сорт	Высота растений, см	Масса 1000 зерен, гр.	Полегание растений, балл	Веget. период, дней	Зимостойкость, балл	Общая оценка, балл
Михась	99	50,3	5,0	289	4,8	5
Горка	103	59,0	5,0	291	5,0	5
Тимирязевская 150	101	56,3	5,0	291	5,0	5
Свислочь	126	53,5	4,5	288	4,9	4
Неман	113	50,0	4,8	288	4,9	5

Таблица 8 – Урожайность сортов озимой тритикале, Стародубский ГСУ

Сорт	Лет испытаний	Урожайность т/га			
		2015 г.	средняя		+,- ст.
			сорта	ст.	
Михась	4	6,15	5,48	ст.	-
Горка	1	5,91	5,91	6,15	-0,24
Тимирязевская 150	1	6,12	6,12	6,15	-0,03
Свислочь	3	5,38	5,84	5,74	+0,10
Неман	3	6,24	6,14	5,74	+0,40
Среднегодовая урожайность		5,96			

Нашими учеными в Казахстане к 2015 году были разработаны сорта яровой тритикале, чья потенциальная продуктивность модельного должна составлять 45-50 центнеров с 1 гектара. Продуктивная кустиность должна находиться на уровне 1 стебля. Число зёрен в колосе должно составлять не ниже

40-42 шт., масса 1000 зёрен 45-50 г. Количество продуктивных стеблей перед уборкой должно варьировать в пределах 250-280 шт/м². Поражение бурой ржавчиной должно составлять не более 10% [6].

Таблица 9 - Формирование продуктивного стеблестоя и других элементов структуры урожая у растений различных сортов яровое тритикале в питомнике экологического испытания (Полевой стационар АО «КАТУ им. С. Сейфуллина, Карагандинская область, 2015 г.)

Сорт	Высота, см	Продукт. кустистость	Число зерен в колосе, шт.	Масса зерна с колоса, г	Масса 1000 зерен, г
Карагандинская 22 /стандарт – яровая пшеница/	58	1,62	24,3	0,987	39,1
Карагандинский 5 /стандарт – яровой ячмень/	59	1,47	18,0	0,937	53,2
Норман	58	1,35	35,5	1,767	49,8
Лотос	56	1,47	48,7	2,300	47,9
Кармен	57	1,43	37,2	1,721	46,3
Квадро	52	1,30	35,5	1,767	49,8
Ульяна	53	1,4	58,7	2,67	45,5
Амиго	59	1,5	48,3	2,24	46,3

Для Юга и Юго-Востока Казахстана, учеными Кожаметов К.К., Слямова Н.Д., Рсымбетов А., Жакатаева А.Н., Бастаубаева Ш.О., были разработаны с помощью селекционно-цитогенетических методов, несколько перспективных сортов тритикале: Таза, Кожа, Балауса 8, Азияда, Галия.

Сорт Таза (Т-459, АД 322 × 119 АД) районирован (2001 г.) во многих областях юго-востока Казахстана. Разновидность – *erythrosperrum*. Колос белый, зерно красное, колосковые чешуи слабо опушенные, инфлянтности нет, лигула есть. Тип куста прямостоящий, антоциновая окраска слабая, слегка наклоненный флаговый лист, восковой налет на влагалище слабый, восковой налет колоса отсутствует. Высота растений 114,2 см, соломина полая, продуктивная кустистость 4,1 шт., колос остистый, форма колоса цилиндрическая, длина колоса 11,0 см, плотность колоса средняя, 33,3 шт. на 10 см, колосковая чешуя: плечо отсутствует, зубец длинный. В зерне содержится протеина 17,2%, крахмала FOSS 57,7; клейковины FOSS 35,2%; седиментация FOSS 80,0; твердозерность FOSS 62,5 г. Урожайность зерна составляет 64,3 ц/га, при урожайности стандартного сорта АД 206 43,7 ц/га. Растения не полегают, зимостойкость высокая, процент сохранившихся растений после перезимовки высокий – 98-99%. В фазе колошения и молочной спелости устойчив к желтой и стеблевой ржавчине. Поражаемость бурой ржавчиной 1-2 балла. Устойчив к септориозу и мучнистой росе, пыльной и твердой головне.

Сорт Балауса 8 (Т-28, В 135 × АД 206), разновидность – *erytrospermum*, колос белый, цвет остей белый, инфлятности нет, лигула есть; колосковые чешуи не опушенные, тип куста прямостоячий, флаговый лист растений не наклоненный, восковой налет слабый. Высота растений 116,1 см, продуктивная кустистость 3,9 шт., колос остистый, призматической формы, длина колоса 10,1 см, плотность 23,1 шт., в колосе 72,2 шт. зерен, масса 1000 зерен 41,2 г, колосковая чешуя: плечо скошенное, зубец длинный острый, киль хорошо выражен. Урожайность зерна составила 48,3 ц/га, при урожайности стандартного сорта АД 206 43,7 ц/га. Содержание протеина в зерне 12,1%, крахмала FOSS 51,2 %, клейковины FOSS 27,5%; седиментация FOSS 60,0; твердозерность FOSS 78 г. Зимостойкость высокая, процент сохранившихся растений после перезимовки высокий – 97%.

Сорт Азияда (Т-440, (АД 114 × ПРАГ-45) × Таза). Разновидность – *erytrospermum*. Тип куста прямостоячий, встречаемость растений с наклоненным флаговым листом низкая. Время колошения среднее. Флаговый лист: антоциановая окраска ушек слабая, восковой налет на влагалище слабый, налет на листовой пластинке слабый, антоциановая окраска пыльников имеется. Высота растений 115,7 см, продуктивная кустистость 4,2 шт., длина колоса 11,1 см, плотность колоса 28,8 шт., колос остистый, веретеновидный, колосковая чешуя: плечо узкое, зубец длинный, прямой формы; зерновка красная. Содержание в зерне протеина 18,4%, крахмала FOSS 32,3%, клейковины FOSS 29,7%; седиментация FOSS 41,0; твердозерность FOSS 41. Масса 1000 зерен 46,7 г, урожайность зерна составила 52,1 ц/га, при урожайности стандартного сорта АД 206 43,7 ц/га. Растение не полегает, зимостойкое (98-99%). В фазе колошения молочной спелости устойчив к желтой и стеблевой ржавчине. Поражаемость бурой ржавчиной 1-2 балл. Устойчив к септориозу и мучнистой росе, пыльной и твердой головне.

Сорт Кожа (Т-14, (114 АД × ПРАГ-26) × Таза). Разновидность – *erytrospermum*. Сортообразец Т-14 под наименованием Кожа выведен методом внутривидовой гибридизации тритикале, с последующим индивидуальным отбором из гибридной популяции (АД 114 × ПРАГ-26) × Таза. Колос пирамидальной формы, удлинённый, 12-13 см, средней плотности, 28,3 шт., ости длинные, прямые, расположены по всему колосу. Высота растений 111,0 см, продуктивная кустистость 4,6 шт., длина колоса 14,3 см, количество зерен в колосе 68,5 шт., масса 1000 зерен 49,3 г. Антоциановая окраска листа слабая, флаговый лист не наклоненный, восковой налет на влагалище листа средний. Колосковая чешуя: плечо узкое, зубец длинный, прямой. Сорт среднеспелый, вегетационный период 275-277 дней. Зимостойкость высокая, 97-98%. Устойчив к твердой головне. В фазе колошения и молочной спелости устойчив к желтой и стеблевой ржавчине. Поражаемость бурой ржавчиной 1-2 балла. Урожайность зерна составила 58,1 ц/га, при урожайности стандартного сорта АД 206 43,7 ц/га. Содержание протеина на уровне стандарта АД 206 – 12,6%, содержание лизина варьирует от 3,9 до 4,2%. Тип развития – озимый. Уровень цитологической

стабильности растений – в метафазе I формирует 21 бивалент, анеуплоидные клетки около 3-4%.

Сорт Галия (Т-552, (АД 322 × СНИСХ-1) × Таза). Разновидность – *erytrospermum*. Колос белый, ости белые, длинные, прямые, расположены по всему колосу. Тип куста прямостоячий, флаговый лист не наклоненный, восковой налет слабый. Колосковые чешуи средней длины (8,5-9,0 мм), плечо широкое, прямое; высота растений 114,3 см, продуктивная кустистость – 3,7 шт., форма колоса призматическая, плотность колоса 29,7 шт., в колосе 66,2 шт. зерен, масса 1000 зерен 45,4 г. Урожайность зерна составила 59,7 ц/га, при урожайности стандартного сорта АД 206 43,7 ц/га. Содержание протеина в зерне 13,4, крахмала FOSS – 33,3; твердозерность FOSS – 45, клейковина FOSS – 25,7%, седиментация FOSS – 40. Зимостойкость высокая. В фазе колошения и молочной спелости устойчив к желтой и стеблевой ржавчине. Поражаемость бурой ржавчиной 2-3 балла. Сорт Галия зернокармального назначения, предназначен для возделывания в Алматинской и Жамбылской области. Сорт среднеспелый, вегетационный период 275-279 дней [7].

1.5 Селекция тритикале.

Различные сорта тритикале получают при скрещивании ржи и пшеницы, с помощью методов молекулярной селекции. Для корректирования локусов количественных признаков (QTL) применяют метод селекции с помощью маркеров (MAS), геномная селекция (GS) и секвенирование следующего поколения (NGS). В сельском хозяйстве предпочтительно применяют геномную селекцию и секвенирование следующих поколений, так как молекулярные методы пока имеют большое количество ограничений.

Метод молекулярного маркирования (MAS) основан на идентификации тесного сцепления между маркером и геном, контролирующим признак, и использовании ассоциаций маркер–признак в практических целях для создания новых сортов и селекционных линий. В селекции тритикале MAS могут применять для следующих задач:

- Оценка чистоты/идентичности сортового материала и оценка генетического разнообразия современных сортов тритикале.
- Хромосомная локализация и картирование генов и локусов количественных признаков (QTL) и выявление маркеров, тесно сцепленных с признаками.
- Контроль различных типов скрещивания.
- Интрогрессия генов/QTLs в различных схемах MAS.
- Пирамидирование генов. Пирамидированием называется процесс объединения в одном генотипе нескольких генов, контролирующих один и тот же признак.
- Селекция признаков с количественным наследованием [8].

Геномная селекция (GS) — это усовершенствованная форма MAS, позволяющая генерировать и использовать генетическую информацию для планирования новых комбинаций скрещиваний. Для этого метода используется построение генетических карт. Основное преимущество генетической карты заключается в том, что она может служить полезным ресурсом для сравнительной генетики, картирования локусов количественных признаков (QTL), ассоциированных с множеством важных признаков, а также связывания физических и генетических карт и, следовательно, выявления генов-кандидатов, связанных с несколькими белками. Генетические карты высокой плотности были описаны для многих растений, включая такие культуры, как пшеница, рожь и ячмень, а также для тритикале.

Первая генетическая карта тритикале была создана с использованием 73 удвоенных гаплоидных (DH) линий, полученных от растений F₁, которые произошли от скрещивания cv. 'Torote' и cv. 'Presto'. Эта карта имела длину 2465,4 сМ и содержала в общей сложности 356 маркеров, отнесенных к 21 группе сцепления. Алхайдт и другие описали более продвинутую, консенсусную генетическую карту тритикале, полученную из девяти родительских линий. Эта карта имела длину 2309,9 сМ и состояла из 2555 DArT-маркеров, распределенных по 22 группам сцепления, по семь для субгеномов А и В, а также для субгенома В. А и В субгеномов, а также восемь для R субгенома (хромосома 2R состоит из две группы сцепления 2R-1 и 2R-2).

Генетические карты могут быть использованы для определения локусов количественных признаков (QTL), которые связаны с несколькими признаками. До настоящего времени во многих исследованиях были описаны QTL-регионы, связанные с устойчивостью тритикале к биотическим и абиотическим стрессам, таким как устойчивость к фузариозной головне (ФНВ), мучнистой росе, желтой ржавчине, розовой снежной плесени, засухе и заморозкам. Многие исследования показали анализ локусов QTL, связанных с важными агрономическими факторами и морфологическими признаками тритикале. Кроме того, с точки зрения селекции, QTL-локусы, связанные с андрогенной отзывчивостью, формированием растений альбиносов и накоплением АВА в пыльниках в ответ на стрессовые факторы, что может быть очень полезно при модификации подхода *in vitro*, особенно в процессе андрогенеза.

Секвенирование следующего поколения (NGS) позволяет проводить анализ всего генома для определения генетической основы фенотипических различий. Это облегчает сочетание признаков, необходимых для одомашненного генотипа, с генами желательных признаков в диких генетических ресурсах. NGS предоставляет очень большой объем данных о последовательностях ДНК, но часто только в виде коротких чтений последовательностей. Объем данных и длина прочтений увеличиваются по мере развития технологии. NGS начинает применяться в системах растениеводства. NGS дает возможность исследовать генетическое разнообразие растений и их диких сородичей в гораздо больших масштабах, чем это было возможно при использовании более ранних

технологий, и позволяет изучать даже самые сложные геномы растений, что позволяет выводить новые сорта тритикале [9].

Соматический эмбриогенез имеет решающее значение в процессах трансформации злаков, поскольку соматические эмбрионы предоставляют идеальный материал для исследований генетической трансформации благодаря их способности экспрессировать встроенную ДНК. Однако применение генетической трансформации и функциональных геномных исследований к важным агрономическим культурам требует эффективной и действенной системы регенерации. О соматическом эмбриогенезе тритикале впервые сообщили в конце 1980-х годов Stolarz и Lörz, 1986, Zimny и Rybczynski, 1986. В этих исследованиях соматические эмбрионы были получены из каллуса тритикале. Поскольку тритикале является новым межродовым гибридом, существует постоянная необходимость расширения генетического разнообразия и числа сортов, необходимых для селекции. С точки зрения выведения новых сортов тритикале методы выращивания *in vitro* могут оказаться чрезвычайно полезными. В этом контексте изолированные культуры микроспор или культуры пыльников играют значительную роль в производстве растений с двойным гаплоидом (DH). В случае тритикале известны две системы получения растений DH: первая основана на делеции хромосом, а вторая - на эмбриогенезе микроспор (андрогенезе) в культуре пыльников или изолированных культурах микроспор. Первые гаплоидные регенеранты, полученные из культур пыльников тритикале, были получены Wang et al. Напротив, группе под руководством Паука и др. удалось разработать протоколы получения дублированных гаплоидов тритикале в изолированных культурах микроспор. 2000 Исследования, проведенные в последующие годы, разработали существующие протоколы DH тритикале с целью повышения эффективности регенерации, но значительным прорывом стало применение этапа резкого охлаждения. Холодовой стресс является одним из основных факторов, изменяющих развитие микроспор из гаметофитов в спорофиты. Наконец, развитие культур *in vitro* на основе андрогенеза тритикале привело к появлению первых DH-растений этого вида.

Производство регенерантов тритикале путем соматического эмбриогенеза или андрогенеза связано с соматическими или другими индуцируемыми тканевой культурой вариациями (ТСИВ). Растения, выращенные в искусственных условиях, демонстрируют определенные генетические или биохимические изменения, которые могут быть отражены в морфологии растения и последовательности ДНК. Поскольку регенеранты тритикале можно использовать для многих целей, очень важно, перегружены ли эти растения ТСИВ или нет. Хотя наличие соматических клонов является положительным фактором с точки зрения улучшения генетического разнообразия, этот сорт может стать проблемой при производстве генетически высокооднородных материалов, поскольку приводит к потере надежности. Кроме того, недостатком использования соматической вариации в качестве источника соматического клона является то, что результаты соматической вариации невозможно предсказать.

Кроме того, отслеживание генетических или эпигенетических изменений регенерантов может быть затруднено [10].

1.6 Культивирование тритикале

Культивирование клеток тритикале — это процесс выращивания клеток гибридного злака тритикале в контролируемых условиях вне их организма *in vitro*. Этот процесс обычно включает в себя выбор оптимальной среды питания, обеспечение определенных условий окружающей среды (таких как температура, влажность и освещение) и поддержание клеток в активном состоянии для дальнейшего роста и размножения. Культивация клеток тритикале часто используется в сельскохозяйственных исследованиях и селекции для изучения и улучшения этого гибридного злака.

Ниже приведены общие этапы, обычно выполняемые при культивировании клеток тритикале:

- Выбор и приготовление культуральной среды: Среда должна содержать все питательные вещества и гормоны, необходимые для роста и дифференцировки клеток тритикале. Обычно используют агаризованную среду, содержащую минеральные соли, сахара, витамины и гормоны.
- Подготовьте ингредиенты: Ингредиенты можно получить из семян тритикале. Для запуска культур можно использовать эмбрионы, плоды или даже отдельные клетки.
- Стартовая культура: Сырье помещают на культуральную среду. Обычно это делают в чашке Петри или стеклянной пробирке.
- Средства культивирования: Культуры выращиваются в определенных условиях, таких как температура, освещенность и влажность. Эти условия могут варьироваться в зависимости от конкретной процедуры культивирования и типа клеток.
- Регулярный уход и содержание растений: Растения периодически пересаживают в новые субстраты и поддерживают в оптимальных условиях роста.
- Сбор и анализ клеточных культур: когда клеточные культуры достигают определенной стадии роста или дифференцировки, их можно собирать для дальнейшего изучения или селекции.

Сохранение сельскохозяйственных культур для последующего использования: Зерновые культуры можно хранить в холодильнике или замораживать для последующего использования в сельскохозяйственных исследованиях или селекции [11].

Получение двойных гаплоидных растений тритикале крайне необходимо для сокращения времени и затрат на выведение новых сортов. Следовательно, получение двойных гаплоидных линий в культуре тканей должно опираться на

эффективные методы регенерации и приводить к получению высокомозиготного материала.

Для успешной культивации клеток тритикале чрезвычайно важно использовать оптимальные питательные среды, которые содержат все необходимые компоненты для их роста и размножения. Чаще всего используют следующие среды: MS (Murashige и Skoog), B5, N6, LN (Litvay и Novacky), DC (Double-Cycle).

Минеральная основа питательных сред для культивирования изолированных клеток и тканей должна включать все необходимые растениям: макроэлементы (азот, фосфор, серу, калий, кальций, магний, железо) и микроэлементы (бор, марганец, цинк, медь, молибден и др.).

Нитрат серебра (AgNO_3), тиосульфат серебра ($\text{Ag}_2\text{S}_2\text{O}_3$) и наночастицы серебра (AgNP) добавляют *in vitro*. Их основная функция – ускорение процесса каллогенеза и улучшение регенерации растений. Нитрат серебра, добавляемый обычно в среду в концентрации 6–88 мкМ, влияет на СЭ, побегообразование, эффективный рост корней и органогенез, которые являются предпосылками успешной генетической трансформации. Использование AgNO_3 улучшило SE у видов пшеницы *Triticum durum* (увеличение более чем в 22 раза) и *Triticum aestivum*, ячменя (Орловска и др., 2020), кукурузы и риса. Было показано, что нитрат серебра ингибирует этилен, растительный гормон, участвующий во многих процессах развития, включая созревание плодов, опадение, старение, рост и цветение. Являясь ингибитором этилена, AgNO_3 значительно улучшал регенерацию побегов пшеницы и противодействовал процессу старения каллуса этого вида.

Поскольку питание большинства культивируемых тканей является гетеротрофным, то обязательным компонентом питательных сред является источник углерода и энергии. В большинстве сред, используемых для культур растительных тканей, таким источником является сахароза и глюкоза, обычно в концентрациях 20–40 г/л. Сахароза в результате автоклавирования при стерилизации сред гидролизует до более доступных к усвоению моносахаридов [12].

В состав большинства питательных сред для культивирования клеток и тканей растений входят витамины: тиамин, рибофлавин, биотин, пантотеновая кислота, пиридоксин, аскорбиновая кислота.

Содержание регуляторов роста обычно является определяющим фактором для успешного роста культур клеток растений. Из фитогормонов в составе сред наиболее часто используют ауксины и цитокинины.

Питательные среды могут также включать и антиоксиданты: аскорбиновую кислоту, глутатион, дитиотриэтол, диэтилтиокарбамат, поливинилпирролидон.

Для приготовления твердых питательных сред в качестве уплотняющего вещества используют агар-агар в конечной концентрации 6–10 г/л. Он образует с водой гель, плавящийся при 100°C и затвердевающий при 45°C. Агар-агар теряет способность образовывать гель в кислой среде.

В нашей работе используется две питательные среды Мурасиге-Скуга (МС) и Гамбурга (В5).

Среда Мурасиге-Скуга (МС) — это питательная среда, широко используемая для микробиологических, чаще всего растительных клеток, посевов *in vitro*. Состав питательной среды МС:

Макроэлементы: нитрат аммония (NH_4NO_3) - 1650 мг, нитрат калия (KNO_3) - 1900 мг, сульфат магния ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) - 370 мг, дигидрофосфат калия (KH_2PO_4) - 170 мг, хлорид кальция ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) - 440 мг;

Микроэлементы: сульфат марганца ($\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) - 22.3 мг, сульфат цинка ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) - 8.6 мг, сульфат меди ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) - 0.025 мг, хлорид кобальта ($\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) - 0.025 мг, йодид калия (KI) - 0.83 мг, натрий молибдат ($\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) - 0.25 мг, борная кислота (H_3BO_3) - 6.2 мг, ЭДТА железа (Fe-EDTA): 36.7 мг;

Витамины: инозитол - 100 мг, ниацин (никотиновая кислота) - 0.5 мг, пиридоксин (витамин В6) - 0.5 мг, тиамин (витамин В1) - 0.1 мг;

Органические добавки: сахароза - 30 г (обычно добавляется как углеродный источник), ауксины, цитокинины и другие регуляторы роста могут добавляться в зависимости от специфических требований культуры;

Гелеобразующий агент: агар - 7-10 г (для твердых сред).

Гамбурга (В5) — это питательная среда, широко применяемая для получения каллусов различных растений в условиях *in vitro*. Состав питательной среды следующий:

Макроэлементы: нитрат аммония (NH_4NO_3) - 1000 мг, нитрат калия (KNO_3) - 2500 мг, сульфат магния ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) - 250 мг, дигидрофосфат калия (KH_2PO_4) - 150 мг, хлорид кальция ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) - 150 мг;

Микроэлементы: сульфат марганца ($\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) - 10 мг, сульфат цинка ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) - 2 мг, сульфат меди ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) - 0.025 мг, йодид калия (KI) - 0.75 мг, натрий молибдат ($\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) - 0.25 мг, борная кислота (H_3BO_3) - 3 мг, железо ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) - 27.8 мг, ЭДТА (Этилендиаминтетрауксусная кислота) - 37.3 мг;

Витамины: тиамин (витамин В1) - 10 мг, инозитол - 100 мг;

Органические добавки: сахароза - 20-30 г (в зависимости от потребностей культуры);

Гелеобразующий агент: агар - 7-10 г (для твердых сред).

В нашей работе в дальнейшем мы будем изучать влияние фитогормонов в составе питательных сред на каллусные клетки. Фитогормоны — это биологически активные вещества, которые влияют на развитие и рост растительных клеток, дифференциацию их на ткани. Фитогормоны делятся на три группы: цитокинины, ауксины, гиббереллины.

Ауксины способствуют развитию корней, подавляют развитие верхушечных побегов для более активного развития боковых побегов. Участвует в развитие листьев, определяя их изгиб создавая угол, тяжесть листа и способность “следовать” за водой и солнцем - фото- и геотропизм. Это фитогормон

активирует рост клеток, вызывает образование корней и регулирует многие другие процессы. Его укореняющая способность широко используется для укоренения черенков. Образование

Корни под действием ауксина легко продемонстрировать ученикам - например, черешок фасоли нужно окунуть в раствор ауксина, а через неделю показать школьникам, что он покрыт кисточкой его корни. У растения ауксин вырабатывается на кончике стебля и движется к нижним частям, достигая корневая система, где нормальная рост корней. Двигаясь вниз по растению, ауксин задерживает рост боковых почек в пазухах листьев. Если срезать верхушку стебля, то поступление ауксинов к пазушным почкам прекратится и начнется их рост. В этом случае это сработает боковое растение. Ауксины в основном необходимы для деления клеток.

Цитокинины способную развитию семян и плодов, влияют на развитие пластид в листьях для формирования фотосинтезирующем аппарате. Стимулирует развитие верхушечных побегов. Как показали Скуг и Миллер, для деления клеток необходимы два фитогормона: ауксин и цитокинин. В ходе своих экспериментов они также установили, что образование корня в каллусе обусловлено ауксином, а дифференцировка побега цитокинином. Возвращаясь к обсуждению биологической активности цитокининов, важно подчеркнуть, что, помимо установленной в экспериментах Скуга способности индуцировать деление клеток и дифференцировку побегов, цитокинины активируют рост листьев и семядолей двудольных растений стимулируют образование и удержание хлоропластов старение листьев. Если раствором цитокинина опрыскать одну половину листа, это задержит его пожелтение и старение, тогда как другая половина пожелтеет. Цитокинины вызывают приток питательных веществ к месту нанесения. Цитокинины синтезируются во всем растении кончики корней растут, а затем вместе с соком достигают надземных органов по сосудам ксилемы, где участвуют в регуляции различных физиологических процессов.

Гиббереллины в основном способствуя подавление, остановки развития тех или иных процессов в растениях, а также активирует защитные механизмы растений. Они играют чрезвычайно важную роль при прорастании семян. В зрелых семенах не только снижено содержание гиббереллинов, но также эти гормоны находятся в неактивных формах. Они синтезируются и превращаются из связанных форм в свободные при поступлении воды в семя, активируют специфические гены, заблокированные в покоящемся семени, в результате чего появляются гидролитические ферменты, разлагающие резервные вещества. Как оказалось, гиббереллины играют чрезвычайно важную роль в переходе растения для цветения или, как говорится, в стимулирование цветения растений, называемых растениями длинного дня, поскольку они даже тогда не цветут в условиях короткого дня весной теплые дни. Эти растения умеют определять длину дня и подсчитывать количество длинных дней, после чего они начинают цвести. Этот приспособление было эволюционно разработано для защиты цветов

и развивающихся плодов весной заморозить. Теплые дни могут сменять холодные, а при переходе от зимы к лету удлинение дня является абсолютно стабильным фактором. Поэтому подбор растений, цветущих только через определенное количество длинных дней, обеспечил северным растениям устойчивое воспроизводство потомства [13].

2 Введение

2.1 Актуальность исследования

Актуальность данного исследования обусловлена необходимостью повышения продуктивности и устойчивости тритикале к неблагоприятным факторам внешней среды. Культивирование соматических клеток *in vitro* позволяет получать новые сорта с заданными свойствами, что может способствовать решению данной проблемы. В ходе исследования будут изучены условия культивирования, обеспечивающие высокую жизнеспособность и продуктивность соматических клеток в условиях *in vitro*.

2.2 Цель и задачи исследования

Цель исследования: Изучение факторов, влияющих на частоту каллусогенеза в культуре соматических клеток тритикале.

Задачи исследования:

1. Выделение и введение в культуру *in vitro* соматических клеток тритикале;
2. Изучение влияния состава питательных сред на частоту процессов каллусогенеза в культуре соматических клеток тритикале *in vitro*;
3. Изучение влияния генотипа на частоту процессов каллусогенеза в культуре соматических клеток тритикале *in vitro*;

3. Материалы и методы работы.

3.1 Материалы

В ходе эксперимента для получения каллусных клеток тритикале мы использовали следующие реагенты: бактериальный агар 7 г на 1 л питательной среды; питательная среда в форме парашка Мурасиге — Скуга (МС; англ. Murashige and Skoog medium, MS) 3,7 г на 1 л, с добавлением фитогормона 6-бензиламинопурина (БАП) 2 мл на 1 л; питательная среда в форме парашка Гамбурга (В5) 3,7 г на 1 л, с добавлением фитогормона 2,4-Дихлорфеноксиуксусная кислота (2,4-Д) 2 мл на л; витамин Мезоинозит (В8) 100 мг на л; сахароза 20 г на 1 л; дистиллированная вода 1 л; хлоргексидин 0,05%; спирт 70% и 30%.

В качестве материалов для получения каллусных клеток тритикале мы использовали семена двух генотипов:

T1 - первый генотип,

T2 - второй генотип.

3.2 Оборудование

В ходе эксперимента было использовано и задействовано следующие оборудование: автоклав для стерилизации посуды и среды; ламинарный бокс для культивирования клеток в стерильных условиях; аналитические весы; термостат; рН-метр; дистиллятор; сушильный шкаф; лабораторный холодильник; спиртовая горелка; плитка; 8 медицинских пинцетов; 4 скальпеля; 8 игл для микробиологии; 3 чашки петри; 6 стандартных пробирок; 6 пробирок с закручивающимися крышками; 2 термостойкая круглодонная колба на 1000 мл; 2 термостойкая круглодонная колба на 500 мл; 2 мешалки; фильтрационная бумага; вата; липкая лента для микробиологии; дозатор со сменными наконечниками.

4. Экспериментальная часть

4.1 Последовательность эксперимента

1. Первым этапом в ходе эксперимента является приготовление и подготовка питательной среды.

Для этого круглодонную колбу на 1л, мы наполняем 500 мл дистиллированной водой, предварительно пропущенной через дистиллятор. Взвесив на аналитических весах 7 г бактериального агара, добавляем его в воду. Колба с раствором помещается на плитку, производится перемешивание до закипания раствора и растворения агара, но мы не позволяем раствору кипеть.

Тем временем в круглодонную колбу на 500 мл, мы наполняем 200 мл дистиллированной водой. На аналитических весах отмеряется 3,7 г питательная среда в форме парашка Мурасиге — Скуга, 20 г сахарозы. Сухие реагенты добавляются в воду, после чего тщательно перемешиваются до полного растворения. Затем в раствор добавляют 2 мл 6-бензиламинопурина (БАП), 100 мл витамин Мезоинозит (В8). Полученный раствор перемешивается и заливается водой до 490 мл, после чего раствор проверяем на рН-метре, в идеале рН должен иметь значение 5,3.

Два полученных раствора смешиваю повторно проверяю на рН-метре, с помощью хлорида натрия доводят рН до значения 5,3. Грею раствор в течение 15 минут на среднем огне плитке не давая закипеть. Получившеюся питательную среду Мурасиге — Скуга, предварительно закупорив пробкой колбу пробкой, отправляют в автоклав на 90 минут стерилизоваться. После чего раствор питательной среды разливается по пробиркам под углом 45°. Питательная среда Мурасиге — Скуга остывает и помещается в холодильник на 5 дней, чтобы выявить заражение до начала посева на среду клеток тритикале.

Для питательной среды Гамбурга (В5) мы так же используем круглодонную колбу на 1л, мы наполняем 500 мл дистиллированной водой, предварительно пропущенной через дистиллятор. Взвесив на аналитических весах 7 г бактериального агара, добавляем его в воду. Колба с раствором помещается на плитку, производится перемешивание до закипания раствора и растворения агара, но мы не позволяем раствору кипеть.

Тем временем в круглодонную колбу на 500 мл, мы наполняем 200 мл дистиллированной водой. На аналитических весах отмеряется 3,7 г питательная среда в форме парашка Гамбурга (В5), 20 г сахарозы. Сухие реагенты добавляются в воду, после чего тщательно перемешиваются до полного растворения. Затем в раствор добавляют 2 мл 2,4-дихлорфеноксисукусной кислоты (2,4-Д), 100 мл витамин Мезоинозит (В8). Полученный раствор перемешивается и заливается водой до 490 мл, после чего раствор проверяю на рН-метре, в идеале рН должен иметь значение 5,3.

Два полученных раствора смешиваю повторно проверяю на рН-метре, с помощью хлорида натрия доводят рН до значения 5,3. Грею раствор в течение 15 минут на среднем огне плитке не давая закипеть. Получившеюся питательную среду Гамбурга (В6), предварительно закупорив пробкой колбу пробкой, отправляют в автоклав на 90 минут стерилизоваться. После чего раствор питательной среды разливается по 6 пробиркам под углом 45°. Питательная

среда Гамбурга (В6) остывает и помещается в холодильник на 5 дней, чтобы выявить заражение до начала посева на среду клеток тритикале.

В ходе эксперимента в питательные среды были добавлены фитогормоны 6-бензиламинопурин (БАП) и 2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота (2,4-Д).

6-бензиламинопурин (БАП) — это фитогормон, относящийся к классу цитокининов который обладает стимулирующим действием для деления клеток растения и роста тканей. В нашей работе БАП применяют для индукции образования каллуса из различных растительных эксплантов, нашем случае меристемы корней и побега листа. Так же БАП способствует улучшению качества каллусов делая их более однородными и здоровыми.

2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота (2,4-Д) — это один из наиболее часто используемых фитогормонов класса ауксинов в культуре тканей, чтобы вызвать образование каллуса из растительных эксплантов, таких как листья, стебли, корни или другие ткани. При добавлении в культуральную среду 2,4-Д стимулирует деление и рост клеток, что приводит к развитию каллуса.

2. Вторым этапом в ходе эксперимента является подготовка к проращиванию семян тритикале.

Для этого этапа мы использовали семена тритикале двух генотипов: Т1 - первый генотип, Т2 - второй генотип. Семена просеиваются через сито чтобы избавиться от шелухи, мелкого мусора и пыли. В дальнейшем семена просматриваются под светом лампы чтобы исключить попадания крупного мусора, пустых или поврежденных семян.

Очищенные семена мы промываем в несколько этапов, для обеззараживания и стерилизации семян. Промывка семян осуществляется в ламинарном боксе, предварительно стерилизованной кварцевой лампой в течение 15 минут и обработанным 70% спиртом. Поместив семена в пробирки, отдельно генотип Т1 и генотип Т2, мы заливаем их 0,05% хлоргексидином. Продержав семена двух генотипов в течение 5 минут, мы сливаем раствор хлоргексидина. Семена тритикале повторно заливают раствором 70% спирта на 4 минуты, после чего раствор сливается. Повторно заливаем семена тритикале двух генотипов Т1 и Т2 раствором 30% спирта и оставляем на 3 минутный промежуток времени, после чего спирт сливается. Последним этапом промывки, является промывка дистиллированной водой в течение 3 минут как показано на рисунке 2.

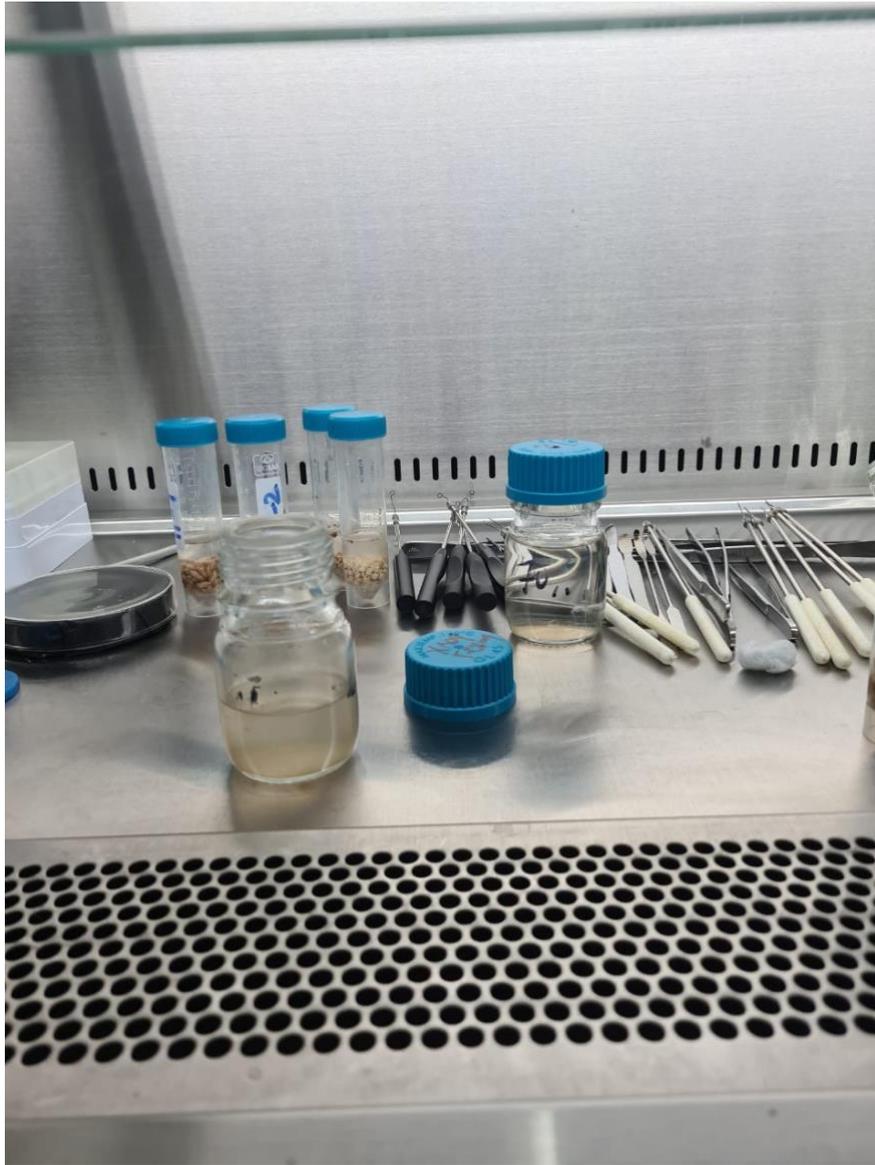


Рисунок 2. Промывка семян

Таким образом мы предотвращаем заражение семян при проращивании их во влажных теплых условиях.

3. Следующий этап в ходе экспериментов является проращивание семян тритикале.

Проращивание семян нужно непосредственно для получения меристематических клеток, из которых в дальнейшем мы получим каллусные клетки.

Для проращивания мы помещаем в, предварительно стерилизованные автоклавом, две чашки Петри фильтровальную бумагу в качестве подложки для семян. Далее мы сеем семена генотипа Т1 в первую чашку, а семена генотипа Т2, следовательно, во вторую чашку Петри. Обе чашки с семенами генотипов Т1 и Т2 мы заливаем дистиллированной водой почти полностью покрыв их,

приблизительно на 3–5 мм. Чашки Петри заклеиваются медицинским скотчем, для герметизации, предотвращения попадания патогенных бактерий и спор плесневых грибов рисунок 3. Весь посев семян тритикале на чашки Петри происходит так же в ламинарном боксе.

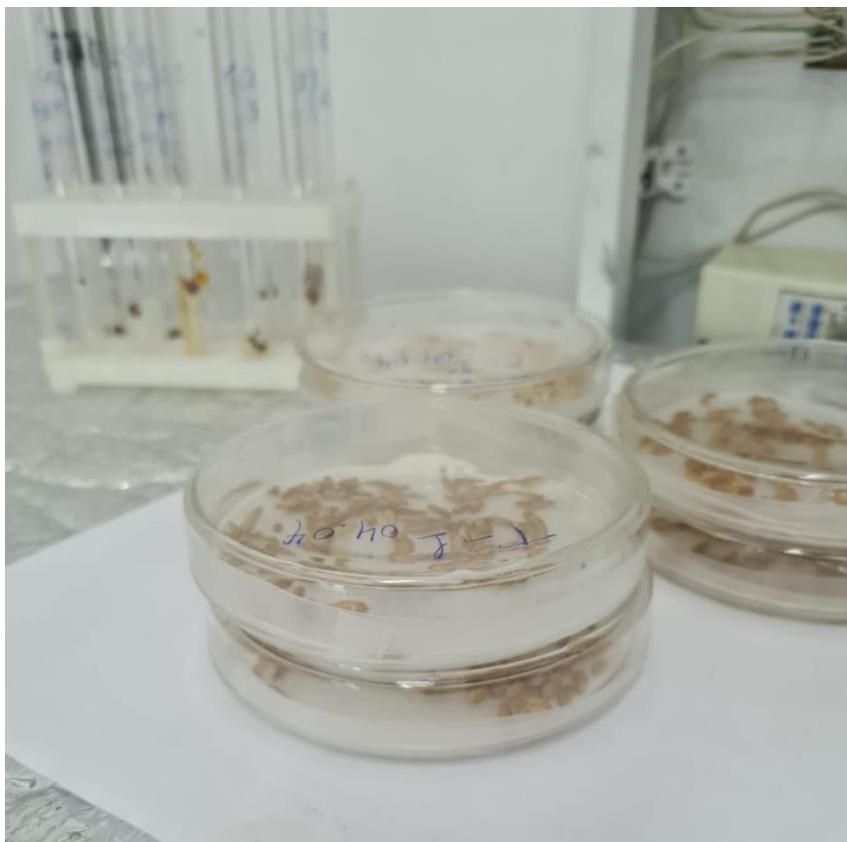


Рисунок 3. Проращивание семян

Чашки Петри с посеянными семенами тритикале оставляют на 3–10 дней в темное теплое место, для проращивания. В ходе нашего опыта семена были пророщены в течение 4 дней, благодаря чему тритикале смогло пустить корни по 3–4 отростка на семя, а также семена пустили по одному побегу лита на рисунке 4. можно хорошо это увидеть.



Рисунок 4. Проросшие семена

4. Следующий этап экспериментальной части работы — это непосредственно посев клеток на питательную среду, для получения каллусной ткани.

Перед началом посева в ламинарном боксе, предварительно стерилизованным кварцевой лампой в течение 15 минут и обработанным 70% спиртом, мы обрабатываем спиртом руки, а также спиртом обрабатываются пинцеты, скальпели, микробиологические иглы, чашку петри на которой будет производиться скальпирование побегов тритикале. Все металлические инструменты дополнительно обжигаются над огнем спиртовки.

Для посева первым делом проводится скальпирование побегов тритикале. С помощью пинцета берутся семена генотипа T1, они помещаются на обратную сторону чашки Петри, где при помощи скальпеля отделяются меристематические клетки, находящиеся на кончиках побегов корней и листьев. Всё то же самое проделывается для генотипа T2. Рисунок 5.



Рисунок 5. Скальпирование побегов

В шесть пробирок с питательной средой Мурасиге — Скуга мы засеиваем по 5 кончиков побегов с меристематическими клетками. Для этого мы используем микробиологическую иглу, её мы погружаем 5 раз в питательную среду на 1–2 мм поверхности питательной среды, с небольшим расстоянием между выемок. После чего мы с помощью микробиологической иглы размещаем в выемках клетки одного генотипа. Три пробирки с генотипом T1 и три пробирки с генотипом T2. Пробирки закупориваются для дальнейшей дедифференциации клеток до каллусной ткани. В шесть пробирок с питательной средой Гамбурга (В6) мы засеиваем по 5 кончиков побегов с меристематическими клетками. Для этого мы используем микробиологическую иглу, её мы погружаем 5 раз в питательную среду на 1–2 мм поверхности питательной среды, с небольшим расстоянием между выемок. После чего мы с помощью микробиологической иглы размещаем в выемках клетки одного генотипа как на рисунке 6. Три пробирки с генотипом T1 и три пробирки с генотипом T2. Пробирки закупориваются для дальнейшей дедифференциации клеток до каллусной ткани.



Рисунок 6. Размещение клеток

Клетки хранятся в пробирках в термостате при 25°C , в полной темноте, где все пробирки хранятся от нескольких дней, до нескольких недель для дифференциации и/или дальнейшей пересадки клеток.

4.2 Обсуждение эксперимента.

После того как пробирки с двумя генотипами тритикале поместили в термостат. Мы осмотрели пробирки через 4 дня на наличие активных структур, которые в дальнейшем могут образовать каллус и/или регенеранты тритикале. За 4 дня начался активный рост клеточных структур, что можно увидеть на рисунках 7 и 8:



Рисунок 7 и 8 - структуры тритикале на 4 день после посева клеток.

На 11 день мы можем наблюдать активный рост клеточных структур, а так начало каллусогинеза. Соматические клетки тритикале находятся в фазе активного роста и дедифференциации, так же в нескольких пробирках образуются каллусы.

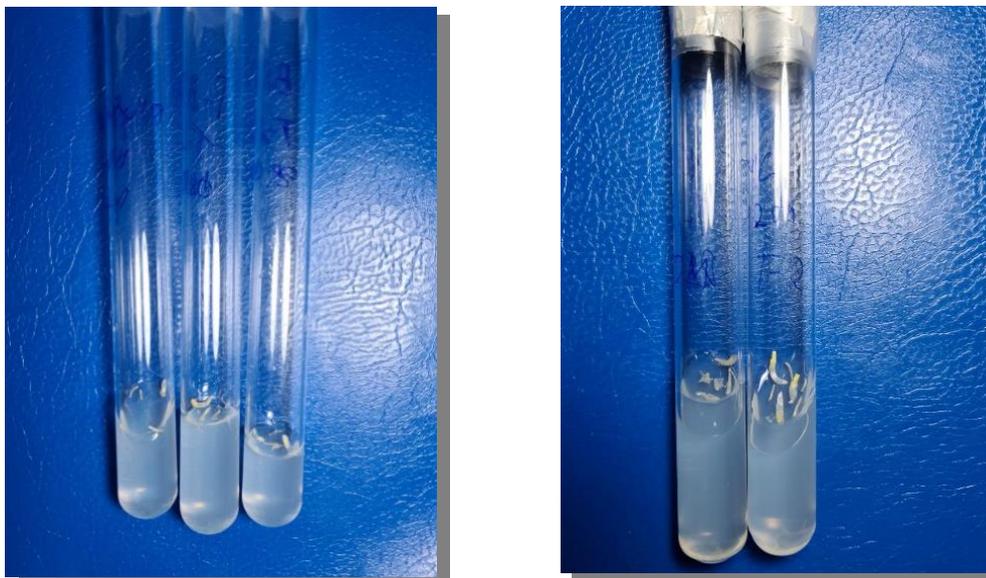


Рисунок 9 и 10 - структуры тритикале на 11 день после посева клеток.

На шестнадцатый день у нас в пробирках со средой Мурасиге — Скуга содержащей 6-бензиламинопурина (БАП) образовалось 28 структур клеток и 4 каллусов. В то время как в пробирках со средой Гамбурга (В5) содержащий 2,4-Дихлорфеноксиуксусная кислота (2,4-Д) образовалось 19 структур клеток 4 каллуса.

Таблица 10 - Влияние питательной среды на образование каллусных клеток.

Питательная среда	Фитогормоны	Количество структур	Количество образовавшихся каллусов	Процент образовавшихся каллусов
Мурасиге — Скуга	6-бензиламинопурина (БАП)	28	4	14,3%
Гамбурга (В5)	2,4-Дихлорфеноксиуксусная кислота (2,4-Д)	19	4	21,0%

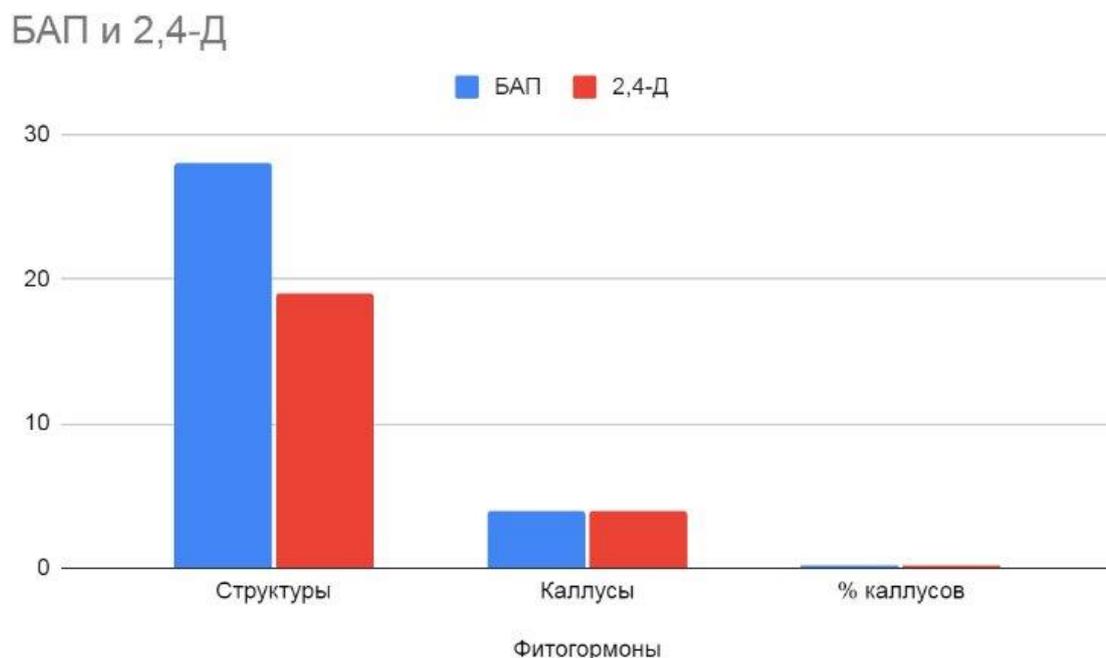


Диаграмма 1. Влияние фитогормонов среды на образование каллусных клеток.

Как мы можем наблюдать по таблице 10, процент образовавшихся каллусов на питательной среде Мурасиге – Скуга составил 14,3%, а на питательной среде Гамбурга В5 процент составляет 21,0 % , сопоставив данные таблицы в диаграмму мы можем наблюдать на диаграмме 1, что по анализу

образовавшихся структур и каллусов выигрывает среда Гамбурга В5 с фитогормоном 2,4-Дихлорфеноксиуксусной кислотой (2,4-Д).

Так же была установлена зависимость образования каллусов от генотипа тритикале, где у генотипа Т1 образовалось 13 клеточных структур и 3 каллуса, а у генотипа Т2 образовалось 33 клеточных структур 5.

Таблица 11 - Влияние генотипа тритикале на образование каллусов.

Генотип тритикале	Количество структур	Количество образовавшихся каллусов	Процент образовавшихся каллусов
Т1	13	3	23,0%
Т2	33	5	15,2%

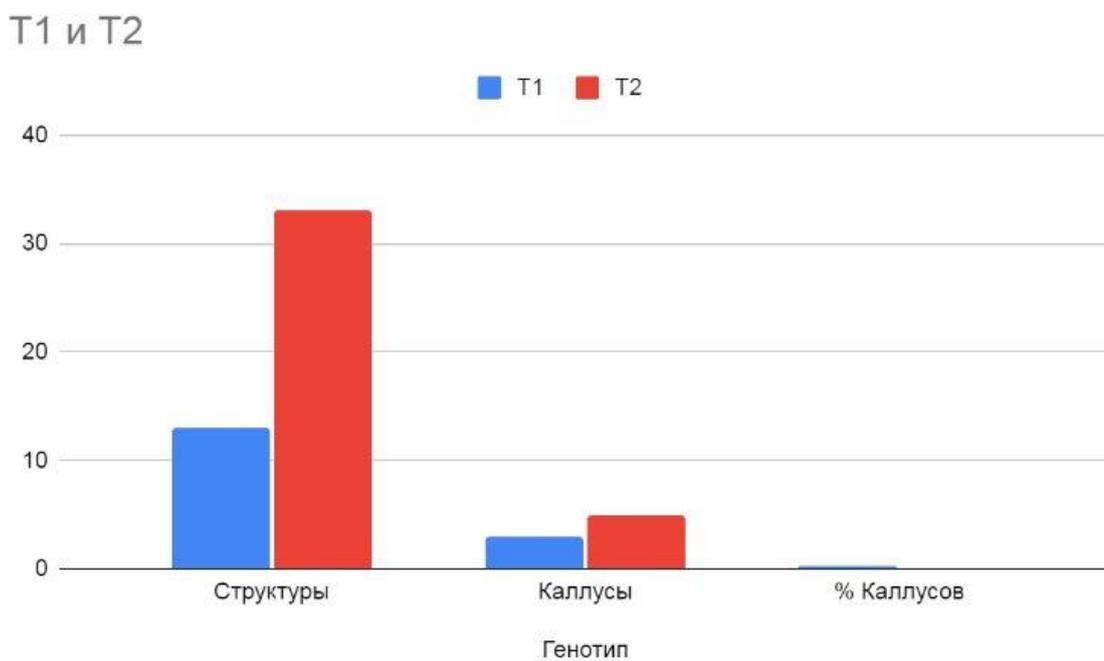


Диаграмма 2. Влияние генотипов тритикале среды на образование каллусных клеток.

Судя по таблице 11 мы можем наблюдать что процент образовавшихся каллусов в пробирках с генотипом Т1 23,0%, а в пробирках с генотипом Т2 15,2%, если сопоставим и сделаем анализ по соотношению количества структур и образовавшихся каллусов то построим диаграмму 2. Судя по этой диаграмме мы можем видеть что генотип Т1 показывает результат наиболее лучший результат в образование каллусных клеток.



Рисунок 11, 12, 13, 14 - посевы на питательной среде МС и ГБ-В5 на 16 день

По результатам прохождения 16ти дней мы можем увидеть по рисункам 11,12,13,14 что наиболее активная фаза роста идет в пробирках с питательной средой Гамбурга В5 и там где засеяны клетки с генотипом Т1 , там же мы можем наблюдать более густо образовавшиеся каллусные клетки, на рисунках это можно детально увидеть.

Заключение

Тритикале является очень важной зерновой культурой которая имеет ряд преимуществ и по сравнению с другими злаковыми - это высокая урожайность и устойчивость к болезням и вредителям.

В результате выполнения дипломной работы нами были освоены биотехнологические методы культивирования соматических клеток тритикале в условиях *in vitro*.

Для культивирования соматических клеток нами были использованы два генотипа озимой тритикале Т 1 и Т 2. Для культивирования соматических клеток нами были использованы питательная среда Мурасиге Скуга с 2 мг/л бап и питательная среда Гамбурга в5 с 2 мг/л 2,4-д.

Нами были выявлены основные факторы, которые влияют на частоту процессов каллусогенеза в культуре соматических клеток тритикале: исходный генотип и составы питательных сред. В результате проведенных исследований нами были получены каллусусы из соматических клеток тритикале.

Выводы

В результате проведенных исследований нами были получены каллусы из соматических клеток двух генотипов озимой тритикале Т 1 и Т 2 в культуре *in vitro*. Соматические клетки были выделены из меристематических клеток кончиков корней и побегов, которые были культивированы на питательных средах мс и гв5.

В ходе проведенных экспериментов нами было установлено, что питательная среда Гамбурга в5 содержащая 2 мг/л 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты (2,4-д) показывает наиболее эффективный результат частоты процессов каллусогенеза, который составил 21 %. в наших опытах менее эффективной средой, по результатам каллусогенеза является питательная среда мурасиге — скуга содержащая 2мг/л 6-бензиламинопурина (бап), где частота процессов каллусогенеза составил - 14,3%.

При изучении влияния генотипа озимой тритикале на частоту процессов каллусогенеза в ходе экспериментов нами было установлено, что генотип тритикале Т 1 более склонен к образованию каллусов, где частота каллусогенеза составил 23%. Исследованный нами генотип озимого тритикале Т 2 обладает более низкой склонностью к образованию каллусов, где частота каллусогенеза составил 15,2%, но при этом является более устойчивым к заражению патогенами.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 MICROSCOPIC AND PHYSIOLOGICAL ANALYSIS OF SOMATIC EMBRYOS UNDER IN VITRO CULTURE IN TRITICALE Merve SIMSEK GEYIK¹, Busra YAZICILAR¹, Ismail BEZIRGAN OGLU¹ Department of Molecular Biology and Genetics, Erzurum Technical University, 25050 Erzurum, Turkey- Volume 6(2022) Issue 1
<http://icontechjournal.com/index.php/ij/article/view/216/70>
- 2 Сравнение индуцированной культурой ткани изменчивости регенерантов тритикале, полученных путем андрогенеза и соматического эмбриогенеза. Опубликовано - 18 сентября 2022 г. <https://link.springer.com/article/10.1007/s42976-022-00300-2>
- 3 Salicylic acid improves somatic embryogenesis in callus derived from mature embryos of triticale-Eurasian Mol Biochem Sci 2023;2(1):14-18 <https://dergipark.org.tr/en/download/article-file/2982163>
- 4 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 (междисциплинарный). -2022 -№1 (112). – С. 21-32
- 5 ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР «КАЗАНСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК» РАЗРАБОТКА И ПРИМЕНЕНИЕ ГЕНОМНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ ДЛЯ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО КАРТИРОВАНИЯ И ПРИКЛАДНОЙ СЕЛЕКЦИИ ЗЕРНОВЫХ КУЛЬТУР. Санкт-Петербург – 2021.
- 6 РАСТЕНИЕВОДСТВО УДК 633.112.9:631.526.32. СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СОРТОВ ОЗИМОЙ И ЯРОВОЙ ТРИТИКАЛЕ/
- 7 СОЗДАНИЕ ИНТЕНСИВНЫХ СОРТОВ ТРИТИКАЛЕ В УСЛОВИЯХ ОРОШЕНИЯ ЮГА, ЮГО-ВОСТОКА КАЗАХСТАНА. УДК 633.19:631.6(574.42/.51) <https://web.archive.org/web/20230126013111id/http://xn--80ag4abjdei4b.xn--plai/images/biblioteka/2023/TRITICALE/97-109.pdf>
- 8 О НАПРАВЛЕНИЯХ И МЕТОДАХ ПОВЫШЕНИЯ МОРФОГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ И СЕЛЕКЦИОННОЙ ЦЕННОСТИ ТРИТИКАЛЕ. Научно – производственный журнал «Зернобобовые и крупяные культуры» №3(23)2017 г. <https://cyberleninka.ru/article/n/o-napravleniyah-i-metodah-povysheniya-morfogeneticheskogo-raznoobraziya-i-seleksionnoy-tsennosti-tritikale/viewer>
- 9 МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МАРКЕРЫ: ИСПОЛЬЗОВАНИЕ В СЕЛЕКЦИИ ЗЕРНОВЫХ КУЛЬТУР ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ, ИНТРОГРЕССИИ И ПИРАМИДИРОВАНИЯ ГЕНОВ. 2013 г. И.Н. Леонова <https://vavilov.elpub.ru/jour/article/view/153/155>
- 10 ЭМБРИОГЕНЕЗ И РЕГЕНЕРАЦИЯ РАСТЕНИЙ В КУЛЬТУРЕ ПЫЛЬНИКОВ ГЕКСАПЛОИДНОЙ ТРИТИКАЛЕ (× TRITICOSECALE WITTMACK) ПОД ВЛИЯНИЕМ ЦИТОКИНИНА ЗЕАТИНА. Научная статья по биологическим наукам, автор научной работы — Ержебаева Р.С., Абдурахманова М.А., Бастаубаева Ш.О., Таджибаев Д.- 2019г. <https://cyberleninka.ru/article/n/embriogenez-i-regeneratsiya-rasteniy-v-kulture-pylnikov-geksaploidnoy-tritikale-triticosecale-wittmack-pod-vliyaniem-tsitokinina>
- 11 АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ НАУКИ И ТЕХНИКИ / Сборник научных статей по материалам VIII Международной научно-практической конференции (15 апреля 2022 г., г. Уфа) / – Уфа: Изд. НИЦ Вестник науки, 2022. – 243 с. https://perviy-vestnik.ru/wp-content/uploads/2022/05/2022-K-284-04_22.pdf#page=84
- 12 РАЗРАБОТКА ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫХ ПАРАМЕТРОВ ОПТИМАЛЬНОЙ МОДЕЛИ

СОРТА ЯРОВОЕ ТРИТИКАЛЕ ДЛЯ КЛИМАТИЧЕСКИХ УСЛОВИЙ СУХОЙ СТЕПИ СЕВЕРНОГО КАЗАХСТАНА стр94. ISSN 2079-939X Басылым индексі – 75830 © С.Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық университеті, 2016 ж.

<http://rmebrk.kz/journals/4555/68027.pdf#page=94>

13 Рамазанова Р.Х., Кекильбаева Г.Р., Касипхан А., Хамзина Б.Н. Влияние азотных удобрений на урожайность линии яровой тритикале в сухостепной зоне северного Казахстана // Межд. науч. –исслед. журнал. Екатеринбург: ПОЛИГРАФИСТ, 2018. – No1. Часть 2 – С. 104 – 108.

14 Влияние ионов меди и серебра на изменение последовательности и метилирования ДНК регенерантов тритикале, полученных в результате соматического эмбриогенеза- Опубликовано:19 августа 2022 г

<https://link.springer.com/article/10.1007/s13353-022-00717-9>

15 Состав среды влияет на изменение регенерантов тритикале, вызванное культурой ткани. - Опубликовано:03 июня 2022 г.

<https://link.springer.com/article/10.1007/s11240-022-02327-z>

16 Влияние наночастиц CaO in vitro на каллус тритикале, подвергнутый кратковременному и долговременному солевому стрессу. Оригинальная статья - 10 октября 2020 г.

<https://link.springer.com/article/10.1007/s00299-020-02613-0>

17 ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЗЕРНА ТРИТИКАЛЕ, ПРОИЗВОДИМЫЕ В КАЗАХСТАНЕ – 2017г

<https://journal.kineu.kz/wp-content/uploads/2020/02/ZHurnal-Nauka-2015-4.-DCH.-Tom-1.-Biologicheskie-nauki.pdf#page=198>

18 Элементы оптимальной технологии возделывания сортов озимой тритикале в условиях сухих степей Казахстана.

19 ПРОДУКТИВНОСТЬ ЯРОВОГО ТРИТИКАЛЕ В УСЛОВИЯХ СУХОЙ СТЕПИ СЕВЕРА КАЗАХСТАНА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СРОКОВ ПОСЕВА, НОРМ ВЫСЕВА И ДОЗ МИНЕРАЛЬНЫХ УДОБРЕНИЙ

<https://bulletinofscience.kazatu.edu.kz/index.php/bulletinofscience/article/view/898/776>

20 ВЛИЯНИЕ ТРАДИЦИОННОГО И ОРГАНИЧЕСКОГО ЗЕМЛЕДЕЛИЯ НА УРОЖАЙНОСТЬ ЯРОВОЙ ТРИТИКАЛЕ.

21 Распространение и перспективы использования тритикале. Статья 2021г.

22 ОЦЕНКА СОРТОВ ЯРОВОЙ ТРИТИКАЛЕ ВЛАДИМИРСКОЙ СЕЛЕКЦИИ ПО ЧИСЛУ ЗАРОДЫШЕВЫХ КОРНЕЙ-« Молодежь и наука – взгляд в будущее» - 2022.- Т.1, Ч.II. - С. 261-266

<https://kazatu.edu.kz/webroot/js/kcfinder/upload/files/%D0%BD%D0%B0%D1%83%D0%BA%D0%B0%D0%A1%D0%A7-18/%D0%97%D1%83%D0%B5%D0%B2%20%D0%94.%D0%92.pdf>

23 Инновации. Образование. Энергоэффективность : материалы XII Междунар. науч.-практ. конф. (Могилев, 25—27 октября 2018 г.) / редкол.: С.В. Сплошнов, Л.В. Безлюдова, Т.В. Садченко ; под общ. ред. А.А. Лапко. — Минск : ГАЗ-ИНСТИТУТ, 2018. — 190 с.

https://bgut.by/sites/default/files/userfiles/IPK/img/news/25-26-10-2018/conf_2018_materials.pdf#page=146

24 ПЕРСПЕКТИВЫ ВОЗДЕЛЫВАНИЯ ТРИТИКАЛЕ В ЦЕНТРАЛЬНОМ ЧЕРНОЗЕМЬЕ Э.В. Засорина, С.А. Горчин, И.А. Голикова

<https://app.luminpdf.com/viewer/65e6c9dee1876a85554b0739>

25 СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СОРТОВ ОЗИМОЙ И ЯРОВОЙ ТРИТИКАЛЕ. Статья 2020г.

26 Секвенирование следующего поколения для понимания и ускорение одомашнивание сельскохозяйственных культур. Статья 2019г.

27 <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](#)

- 28 Новиков С.А., Шевченко В.А., Соловьев А.М. Удобрения важный фактор экономической эффективности при возделывании ярового тритикале и пелюшки на зернофураж в условиях Верхневолжья. - Плодородие. -2014. -№1 (76). -С. 17–20.
- 29 Мелешкина Е.П. Оценка качества зерна тритикале / Мелешкина Е.П., Панкратьева И.А., Политуха О.В., Чиркова Л.В., Жильцова Н.С. // Хлебопродукты, 2015. – №2. – С.48–49.
- 30 Паушева З.П. Практикум по цитологии растений. М., 1988.
- 31 Ваулина Г.И. Влияние условия минерального питания и погоды на формирование урожая и качество зерна тритикале / Ваулина Г. И. // Агрехимия. 1987. – № 7. – С. 37–42.
- 32 Eudes F., Chugh A. An overview of triticale doubled haploids. In: Advances in haploid production in higher plants /A. Touraev, В.Р. Forster, S.M. Jain (eds.). Springer, Dordrecht, 2009: 87- 96 (doi: 10.1007/978-1-4020-8854-4_6)
- 33 АНАЛИЗ МЕТОДОВ ПОЛУЧЕНИЯ УДВОЕННЫХ ГАПЛОИДОВ ДЛЯ СЕЛЕКЦИОННОГО ПРОЦЕССА ОЗИМОЙ ТРИТИКАЛЕ / А. О. Блинков // РГАУ-МСХА им. К. А. Тимирязева: Россия, г. Москва <https://genetics.udau.edu.ua/assets/files/01.01.2021-2022-konferen-parievi-chitannya/sgnio-19.03.20-1.pdf#page=29>
- 34 ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ТРИТИКАЛЕ – ГИБРИДА ПШЕНИЦЫ И РЖИ В ПИЩЕВОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ / Тазабаева К.А. кандидат биологическх наук, доцент кафедры прикладной биологии / Рахметуллина А.М. // магистрант Казахский гуманитарно-юридический инновационный университет г. Семей, Казахстан / УДК: 664+634.8.09 <https://abu.edu.kz/uploads/153/307/534/a3109119dbda06347dcc78ddeecb6a5c.pdf#page=57>
- 35 ГАПЛОИДИЯ ТРИТИКАЛЕ IN VITRO / ДЬЯЧУК Т.И., АКИНИНА В.Н., ЖИЛИН С.В., ХОМЯКОВА О.В., БАРНАШОВА Е.К., КАЛАШНИКОВА Э.В., ОКЛАДНИКОВА В.П. / Федеральный аграрный научный центр Юго-Востока, 410010, г. Саратов, ул. Тулайкова, 7 / УДК: 633.114:631.52(470.4):578.083 <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=48021386>
- 36 ТЕХНОЛОГИЯ КУЛЬТУРЫ ИЗОЛИРОВАННЫХ МИКРОСПОР ТРИТИКАЛЕ(× TRITICOSECALE WITTMACK) / ЕРЖЕБАЕВА Р.С. / ТОО «Казахский научно-исследовательский институт земледелия и растениеводства», Алмалыбак, Алматинская область, Казахстан / ISSN: 2616-7034eISSN: 2663-130X <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=44084048>
- 37 Cytogenetic and molecular characteristics of rye genome in octoploid triticale (× *Triticosecale* Wittmack) / [Elena V. Evtushenko](#), [Yulia A. Lipikhina](#), [Petr I. Stepochkin](#), and [Alexander V. Vershinin](#) / Published online 2019 Dec 16. doi:[10.3897/CmpCytogen.v13i4.39576](https://doi.org/10.3897/CmpCytogen.v13i4.39576) <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6928076/>
- 38 Variability of the Triticale Genome in Culture in vitro / [S. V. Pykalo](#), [O. V. Dubrovna](#) / Published: 09 October 2018. Volume 52, pages 385–393, (2018) <https://link.springer.com/article/10.3103/S0095452718050092>
- 39 EFFECT OF ZEATIN ON in vitro EMBRYOGENESIS AND PLANT REGENERATION FROM ANTHHER CULTURE OF HEXAPLOID TRITICALE (*Triticosecale* Wittmack) / R.S. YERZHEBAYEVA, M.A. ABDURAKHMANOVA, Sh.O. BASTAUBAYEVA, D. TADJIBAYEV / UDC 633.1:581.143.6 <http://www.agrobiology.ru/pdf/5-2019-eng.pdf#page=79>
- 40 Создание фиолетовозерных гибридов в отдаленных скрещиваниях тритикале, мягкой пшеницы и полбы методом эмбриокультуры in vitro / Н.В. Петраш, П.И. Стёпочкин / DOI 10.18699/LettersVJ-2023-9-25 <https://pismavavilov.ru/wp-content/uploads/2023/12/008-PVJ-Petrash.pdf>

РЕЦЕНЗИЯ

на дипломную работу

Синякова Ирина Е.
Чалых Екатерина А.

6B05101 «Химическая и биохимическая инженерия»
(шифр и наименование ОП)

На тему: Культура соматических клеток тритикале in vitro

Выполнено:

- а) графическая часть на 18 листах
- б) пояснительная записка на 42 страницах

ЗАМЕЧАНИЯ К РАБОТЕ

Структура дипломной работы включает в себя: литературный обзор, введение, методы, экспериментальную часть, заключение, список используемых источников литературы, а также 11 таблиц и 14 рисунков.

В литературном обзоре описываются такие характеристики растения тритикале как биохимические свойства, анатомические, приводятся примеры сортов выведенных в Казахстане и способы получения новых сортов.

Во введении определяется актуальность выбранной темы, цели и задачи исследования дипломной работы.

В материалах и методах описаны методы которые были задействованы в ходе экспериментальной части работы.

В разделе экспериментальной части описывается последовательность эксперимента ход событий, наблюдение за ростом клеток, обсуждение и анализ полученных результатов по культивированию тритикале.

В заключении приведены выводы о проделанной работе.

Данная дипломная работа соответствует необходимым стандартам и заслуженно имеет все шансы на оценку «отлично» (92%), рекомендую к защите. Дипломники выполнившие данную работу — Синякова Ирина Е. и Чалых Екатерина А., заслуживают квалификационного звания бакалавров по специальности биотехнологии.

Дата: «31» 05 2024

Рецензент:

НАО Казахский национальный аграрный
исследовательский университет,
зав. кафедрой «Агрономия,
селекция и биотехнология»



Жанбырбаев Е.А.

ОТЗЫВ

НАУЧНОГО РУКОВОДИТЕЛЯ

на дипломную работу Сидорова Ч.Е. «
(наименование вида работы)
Чаша Е. А.
(Ф.И.О. обучающегося)
СВОБОТ «Технология и биологическая инженерия»
(шифр и наименование ОП)

Тема: Культура социальных клеток
трикеры in vitro.

Дипломная работа посвящена культуре
социальных клеток трикеры
в чашках in vitro.
Работу выполнил на высоком
качественном уровне.
Структура отвечает методу
по культуре биологических
клеток.

Работу оцениваю на 95 баллов
«Отлично»

Научный руководитель

профессор г.д.и.,
(должность, уч. степень, звание)

Аманжол Б.Б.
Ф. И.О.

(подпись)

«31» 05 2024 г.



Metadata

Title
Культура соматических клеток тритикале in vitro

Author(s) **Синякова Ирина, Чалых Екатерина** Coordinator **Бакытжан Анапияев**

Organizational unit
ИГИНГД

Alerts

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		6
Spreads		9
Micro spaces		7
Hidden characters		215
Paraphrases (SmartMarks)		44

Record of similarities

SCs indicate the percentage of the number of words found in other texts compared to the total number of words in the analysed document. Please note that high coefficient values do not automatically mean plagiarism. The report must be analyzed by an authorized person.



SC1

25

The phrase length for the SC 2



SC2

9191

Length in words



QC

70977

Length in characters

Active lists of similarities

This list of sources below contains sources from various databases. The color of the text indicates in which source it was found. These sources and Similarity Coefficient values do not reflect direct plagiarism. It is necessary to open each source, analyze the content and correctness of the source crediting.

The 10 longest fragments

Color of the text

NO	TITLE OR SOURCE URL (DATABASE)	NUMBER OF IDENTICAL WORDS (FRAGMENTS)	
1	https://kazatu.edu.kz/assets/i/science/vn1603-agro09.pdf	58	0.63 %
2	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	56	0.61 %
3	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	52	0.57 %

4	http://oreluniver.ru/file/chair/thkimp/study/Koryachkina_tehnhleba_tritikal.pdf	49	0.53 %
5	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	45	0.49 %
6	ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГЕНОФОНДА ДИКИХ СОРОДИЧЕЙ ДЛЯ УЛУЧШЕНИЯ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ В ОРГАНИЧЕСКОМ ЗЕМЛЕДЕЛИИ 4/24/2024 Kazakh National Agrarian University (КазНАУ)	34	0.37 %
7	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	32	0.35 %
8	https://kazatu.edu.kz/assets/i/science/vn1603-agro09.pdf	29	0.32 %
9	https://official.satbayev.university/download/document/20488/2021%20%D0%91%D0%90%D0%9A%20%D0%A5%D0%B0%D0%BB%D0%B8%D1%85%D0%BE%D0%B2%20%D0%A1%D1%83%D0%BB%D1%82%D0%B0%D0%BD%D1%85%D0%B0%D0%BD%20%D0%90%D1%80%D0%BC%D0%B0%D0%BD%D0%BE%D0%B2%D0%B8%D1%87.pdf	27	0.29 %
10	http://www.bionet.nsc.ru/files/2015/dissovet/ДИССЕРТАЦИЯ_Леонова.pdf	25	0.27 %

from RefBooks database (0.00 %)

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

from the home database (0.50 %)

NO	TITLE	NUMBER OF IDENTICAL WORDS (FRAGMENTS)	
1	Оптимизация бизнес-процессов на примере компании АО Казахстанская фондовая биржа KASE 5/28/2024 Satbayev University (ИУП)	20 (3)	0.22 %
2	Поддержка экспорта казахстанских компаний 5/22/2023 Satbayev University (ИУП)	12 (2)	0.13 %
3	2022_БАҚ_Сапарова Зарина.pdf 6/7/2022 Satbayev University (ИГиНГД)	9 (1)	0.10 %
4	2022 БАК Дунаева Ангелина.docx 5/16/2022 Satbayev University (ИГиНГД)	5 (1)	0.05 %

from the Database Exchange Program (2.01 %)

NO	TITLE	NUMBER OF IDENTICAL WORDS (FRAGMENTS)	
1	ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГЕНОФОНДА ДИКИХ СОРОДИЧЕЙ ДЛЯ УЛУЧШЕНИЯ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ В ОРГАНИЧЕСКОМ ЗЕМЛЕДЕЛИИ 4/24/2024 Kazakh National Agrarian University (КазНАУ)	173 (17)	1.88 %

2	Создание исходного материала в селекции сортов риса с окрашенным перикарпом 6/13/2019 Kazakh National Agrarian University (HAO "Казахский национальный аграрный университет")	12 (1)	0.13 %
---	---	--------	--------

from the Internet (8.21 %)

NO	SOURCE URL	NUMBER OF IDENTICAL WORDS (FRAGMENTS)	
1	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	185 (4)	2.01 %
2	https://kazatu.edu.kz/assets/i/science/vn1603-agro09.pdf	87 (2)	0.95 %
3	https://official.satbayev.university/download/document/258516.%20%D0%A1%D0%B0%D1%80%D1%81%D0%B5%D0%BD%D0%BE%D0%B2%D0%B0%20%D0%9B%D0%B0%D1%83%D1%80%D0%B0.pdf	75 (7)	0.82 %
4	http://www.bionet.nsc.ru/files/2015/dissovet/ДИССЕРТАЦИЯ_Леонова.pdf	67 (5)	0.73 %
5	http://oreluniver.ru/file/chair/thkimp/study/Koryachkina_tehhleba_tritikale.pdf	54 (2)	0.59 %
6	https://vniiz.org/science/publication/article-220	47 (5)	0.51 %
7	https://studfile.net/preview/5623955/page/3/	38 (6)	0.41 %
8	https://stud.wiki/biology/2c0a65635a3ac68a4d53b89521216c37_1.html	37 (6)	0.40 %
9	https://official.satbayev.university/download/document/20488/2021%20%D0%91%D0%90%D0%9A%20%D0%A5%D0%B0%D0%BB%D0%B8%D1%85%D0%BE%D0%B2%20%D0%A1%D1%83%D0%BB%D1%82%D0%B0%D0%BD%D1%85%D0%B0%D0%BD%20%D0%90%D1%80%D0%BC%D0%B0%D0%BD%D0%BE%D0%B2%D0%B8%D1%87.pdf	36 (2)	0.39 %
10	https://official.satbayev.university/download/document/20498/2021%20%D0%91%D0%90%D0%9A%20%D0%9E%D1%81%D0%BF%D0%B0%D0%BD%D0%BE%D0%B2%D0%B0%20%D0%90%D0%B9%D0%B3%D0%B5%D1%80%D0%B8%D0%BC%20%D0%94%D0%B0%D0%BD%D0%B8%D1%8F%D1%80%D0%BA%D1%8B%D0%B7%D1%8B.pdf	34 (2)	0.37 %
11	https://ksc.krasn.ru/upload/medialibrary/0b9/0b94c6cee3826ba952f4edfd6be23c98.pdf	29 (3)	0.32 %
12	http://elc.baa.by/biotehn/%D0%A1%D0%B5%D0%BB%D1%8C%D1%81%D0%BA%D0%BE%D1%85%D0%BE%D0%B7%D1%8F%D0%B9%D1%81%D1%82%D0%B2%D0%B5%D0%BD%D0%BD%D0%B0%D1%8F%20%D0%B1%D0%B8%D1%82%D0%B5%D1%85%D0%BD%D0%BE%D0%BB%D0%BE%D0%B3%D0%B8%D1%8F.doc	26 (3)	0.28 %
13	https://official.satbayev.university/download/document/16188/2020%20%D0%91%D0%90%D0%9A%20%D0%A1%D0%B0%D0%BD%D1%81%D1%8B%D0%B7%D0%B1%D0%B0%D0%B5%D0%B2%20%D0%95%D1%80%D0%BC%D0%B5%D0%BA%20%D0%9A%D0%B0%D0%B9%D1%80%D0%B0%D1%82%D0%BE%D0%B2%D0%B8%D1%87.pdf	21 (2)	0.23 %
14	https://cnsnb.ru/content/2023/04201272.pdf	14 (1)	0.15 %
15	http://www.ssc.smr.ru/media/journals/izvestia/2018/2018_2_726_731.pdf	5 (1)	0.05 %

List of accepted fragments (no accepted fragments)

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