

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ
КАЗАХСТАН

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

Институт геологии и нефтегазового дела им. К. Турысова

Кафедра «Химическая и биохимическая инженерия»

Сах Абзал Турапулы
Роговых Илья Александрович

Культивирование соматических клеток пшеницы в условиях *in vitro*

ДИПЛОМНАЯ РАБОТА

специальность 6В05101 – Химическая и биохимическая инженерия

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



ДИПЛОМНАЯ РАБОТА

На тему: «Культивирование соматических клеток пшеницы *in-vitro*»

6B05101 – Химическая и биохимическая инженерия

Выполнили:

Роговых Илья
Сах Абзал

Рецензент
Заведующий кафедрой
Доктор PhD,
Е. А. Жанбырбаев
«18» мая 2024г.



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 имени К. Турысова

Кафедра «Химическая и биохимическая инженерия»

6B05101 – Химическая и биохимическая инженерия

Утверждаю
Заведующая кафедрой
«Химическая
и биохимическая
инженерия
доктор PhD»



Амитова А.А.
« 06 » 2024 г.

ЗАДАНИЕ

Обучающимся: Сах Абзал Турапулы, Роговых Илья Александрович
Тема: «Культивирование соматических клеток пшеницы в условиях in vitro»

Утверждена приказом: 548-П/Ө от 4 декабря 2023 года

Срок сдачи законченного проекта: « 19 » июня 2024 года

Исходные данные к дипломному проекту: Изучения

Краткое содержание дипломного проекта:

- а) литературный обзор
- б) изучение факторов, влияющих на рост и развитие пшеницы
- в) изучение влияния фитогормонов на рост пшеницы
- г) анализ результатов
- д) заключение

Перечень графического материала: представлены

Рекомендуемая основная литература: из 15 наименований.

ГРАФИК

подготовки дипломной работы

Наименование разделов, перечень разрабатываемых вопросов	Сроки представления научному руководителю	Примечание
Литературный обзор	20.02.2024	
Практическая часть	29.03.2024	
Результат исследования	30.04.2024	
Оформление работы	27.05.2024	

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
Литературный обзор	Профессор кафедры, доктор биологических наук Б.Б. Анапияев	20.02.2024	
Практическая часть	Профессор кафедры, доктор биологических наук Б.Б. Анапияев	29.03.2024	
Результат исследования	Профессор кафедры, доктор биологических наук Б.Б. Анапияев	30.04.2024	

Научный руководитель



Анапияев Б.Б.

Задания приняли к исполнению обучающиеся



Роговых И.А.



Сах А.Т.

Дата.

30.04. 2024 г

АНДАТПА

Ұсынылған дипломдық жұмыс кіріспеден, әдеби шолудан, эксперименттік бөлімнен және қорытындыдан тұрады. Бұл жұмыс 28 беттен тұрады, 4 суреттен, 4 кестеден, 15 пайдаланылған әдебиеттен тұрады.

Зерттеудің мақсаты соматикалық культурадағы каллусогенез жиілігіне әсер ететін факторларды зерттеу болды кле бидай ағымы (*Triticum aestivum* L.)

Жүргізілген зерттеулердің нәтижесінде біз бидайдың соматикалық жасушаларының *in vitro* мәдениетіндегі каллусогенез процестерінің жиілігіне әсер ететін негізгі факторларды анықтадық. Диссертацияны орындау нәтижесінде біз бидайдың соматикалық жасушаларын өсірудің биотехнологиялық әдістерін зерттеп, игердік. Бақылауларды талдай отырып және есептеулер жүргізе отырып, біз ГВ-5 ортасының с МС-мен салыстырғанда каллусогенез пайызы жоғары екенін анықтадық. Генотиптерді салыстыру кезінде П-1 генотиптегі каллусогенездің пайызы екінші П-2 генотипке қарағанда жоғары екендігі анықталды. Жүргізілген зерттеулер нәтижесінде біз бидайдың соматикалық жасушаларынан каллус алдық. Осылайша, біз жүргізген зерттеулердің нәтижесінде бидайдың соматикалық жасушаларының *in vitro* мәдениетіндегі каллусогенез процестерінің жиілігіне әсер ететін негізгі факторларды анықтадық: қоректік ортаның генотипі мен құрамы және 2,4-D фитогормондары және ВАР

АННОТАЦИЯ

Предлагаемая дипломная работа состоит из введения, литературного обзора, экспериментальной части и заключения. Данная работа состоит из 28 страниц, содержит 4 рисунков, 4 таблиц, 15 использованной литературы.

Целью исследования было изучение факторов влияющих на частоту каллусогенеза в культуре соматических клеток пшеницы (*Triticum aestivum* L.)

В результате проведенных исследований нами были выявлены основные факторы которые влияют на частоту процессов каллусогенеза в культуре соматических клетках пшеницы *in vitro*. В результате выполнения дипломной работы нами были изучены и освоены биотехнологические методы культивирования соматических клеток пшеницы. Анализируя наблюдения и проведя расчеты мы выявили, что среда ГВ-5 имеет процент каллусогенеза выше по сравнению с МС. При сравнении генотипов было выявлено что процент каллусогенеза в генотипе П-1 оказался выше чем со вторым генотипом П-2. В результате проведенных исследований нами были получены каллусы из соматических клеток пшеницы. Таки образом, в результате проведенных исследований нами были выявлены основные факторы, влияющие на частоту процессов каллусогенеза в культуре соматических клетках пшеницы *in vitro*: генотип и состав питательной среды и фитогормоны 2,4 -Д и БАП.

ANNOTATION

The proposed thesis consists of an introduction, a literature review, an experimental section, and a conclusion. This work comprises 28 pages, contains 4 figures, 4 tables, and 15 references.

The aim of the study was to investigate the factors affecting the frequency of callus formation in the culture of wheat somatic cells (*Triticum aestivum* L.).

As a result of the conducted research, we identified the main factors influencing the frequency of callus formation processes in the culture of wheat somatic cells in vitro. Through the completion of the thesis, we studied and mastered biotechnological methods for cultivating wheat somatic cells. Analyzing the observations and calculations, we found that the GW-5 medium has a higher callus formation rate compared to MS medium. When comparing genotypes, it was revealed that the callus formation rate in genotype II-1 was higher than in genotype II-2. As a result of the conducted research, we obtained calluses from wheat somatic cells. Thus, as a result of the research, we identified the main factors affecting the frequency of callus formation processes in the culture of wheat somatic cells in vitro: genotype, the composition of the nutrient medium, and the phytohormones 2,4-D and BAP.

СОДЕРЖАНИЕ

Введение

1. Обзор литературы

1.1 Морфогенез *in vitro*: история, определения и методы.

1.2 Влияние питательной среды

1.3 История и современное культивирование пшеницы

1.4 Культура соматических клеток *in vitro* в селекции пшеницы

1.5 Преимущества применения культуры соматических клеток *in vitro*.

2 Материалы и методы

2.1 Меры по обеспечению стерилизационных условий

2.2 Соматические клетки пшеницы

2.2.1 Морфогенез и биотехнология получения клеток пшеницы

3 Результаты исследования

3.1 Выделение и питание соматических клеток урожая пшеницы

Заключение

Список использованной литературы

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. Актуальная проблема селекции растений - ускорение процесса селекции. В связи с этим не остался незамеченным метод культуры клеток растений, который, как предполагается, может существенно сократить сроки проведения селекции и повысить ее эффективность. Особого внимания заслуживает клеточная селекция, позволяющая отбирать резистентные к различным стрессовым факторам клетки, а затем из них получать целые растения. Как правило, отбор устойчивых клеточных линий осуществляется с использованием каллусных тканей, реже - суспензионных культур и изолированных протопластов. В последние годы традиционные методы селекции растений, успешно применяемые ранее, имеют ограниченный потенциал для решения задач увеличения урожайности из-за ограниченного генного пула. Генетические методы становятся все более популярными, позволяя вводить в геном пшеницы желаемые гены, выделенные из любого генетического фона, что улучшает ее характеристики. Трансформация различных зерновых культур, включая пшеницу, для борьбы с биотическими и абиотическими стрессами, теперь практикуется во многих странах и способствует улучшению сортов. Актуальность данной темы обусловлена необходимостью повышения продуктивности и устойчивости пшеницы к неблагоприятным факторам внешней среды. В ходе исследования нами будут изучены условия роста соматических клеток, обеспечивающие наибольшую продуктивность и устойчивость к факторам среды.

Пшеница хлебная (*Triticum aestivum* L.) — одна из основных зерновых культур, выращиваемых по всему миру, занимая около 17% общей площади мировых посевов. В связи с чем изучение морфогенеза и каллусогенеза клеток пшеницы становится очень важным этапом в изучении генной инженерии и выращивании пшеницы с использованием методов культивирования соматических клеток пшеницы в условиях *in vitro*. Поэтому последнее время все большее значение приобретает одно из новых направлений растениеводства - биотехнология, где в качестве приоритетных звеньев выделяют разработку и освоение эффективных методов культуры клеток, тканей и органов растений, основанных на достижении фундаментальных исследований в области физиологии, генетики, ботаники, молекулярной биологии и других наук. [7]

Цель исследования: Изучение факторов влияющих на частоту каллусогенеза в культуре соматических клеток пшеницы (*Triticum aestivum L.*).

Задачи исследования:

1. Выделение и введение в культуру *in vitro* соматических клеток пшеницы (*Triticum aestivum L.*).
2. Изучение влияния состава питательных сред на частоту процессов каллусогенеза в культуре соматических клеток пшеницы (*Triticum aestivum L.*) *in vitro*;
3. Изучение влияния генотипа на частоту процессов каллусогенеза в культуре соматических клеток пшеницы (*Triticum aestivum L.*) *in vitro*.

1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Морфогенез *in vitro*: история, определения и методы

Первые работы, посвященные получению каллуса из изолированных сегментов мезофилла листа и изучению каллусогенеза как пути морфогенеза *in vitro*, появились еще в конце XIX – начале XX в., однако однозначного определения каллуса не предложено. В своих исследованиях [1-4] мы придерживаемся следующего определения: каллус – интегрированная система, образующаяся как экзогенно (в результате пролиферации поверхностных клеток различных тканей растительного организма), так и эндогенно (в глубине этих тканей); изначально состоит из однородных клеток, постепенно преобразующихся в систему групп гетерогенных клеток, имеющих видоспецифичные морфогенетические потенции, которые реализуются различными путями морфогенеза. Способность к каллусогенезу *in vitro* обнаружена у представителей многих семейств растений. В качестве эксплантов для получения каллусов используются различные части донорных растений – апексы побегов, молодые соцветия, колеоптили, незрелые пыльники, семяпочки, зародыши, характеризующиеся наличием значительного количества способных к каллусогенезу тотипотентных меристематических клеток. [5]

1.2 Влияние питательной среды

Рост и развитие пшеницы зависят от большого количества различных факторов, включая генотип растения и состав питательной среды. Питательная среда играет ключевую роль в процессах каллусогенеза и регенерации растений. В различных исследованиях были использованы разные комбинации макро- и микроэлементов, витаминов и фитогормонов для оптимизации роста соматических клеток пшеницы.

Мурасиге и Скуг (MS) разработали одну из наиболее распространенных питательных сред, используемых для культивирования растительных тканей. Она содержит сбалансированный набор макро- и микроэлементов, а также витамины и органические вещества, необходимые для роста клеток. Фитогормоны, такие как 6-бензиламинопурин (BAP) и 2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота (2,4-Д), играют важную роль в регулировании роста и дифференциации клеток.

В изученных нами исследованиях было показано, что 2,4-Д способствует индукции каллусогенеза, тогда как ВАР стимулирует регенерацию растений из каллусов. Таким образом, выбор питательной среды и концентрации фитогормонов является важным фактором, определяющим успешность культивирования соматических клеток пшеницы. [8]

1.3 История и современное культивирование пшеницы

Пшеница имеет долгую историю культивирования, начиная с ее происхождения на Ближнем Востоке. Археологические данные свидетельствуют о том, что пшеница была одной из первых культур, возделываемых человеком. Сегодня пшеница выращивается по всему миру, занимая ведущие позиции по площади посевов и объему производства среди зерновых культур.

Основные ареалы распространения пшеницы включают регионы с умеренным климатом, такие как Европа, Северная Америка, Россия и Китай. В этих регионах созданы оптимальные условия для выращивания пшеницы, что способствует высоким урожаям. Среди стран-производителей лидируют Китай, Индия, Россия, США и Франция, обеспечивающие значительную часть мирового производства пшеницы. [9]

Пшеница являясь важнейшей продовольственной зерновой культурой характеризуется более высокими требованиями к условиям теплового режима и плодородию почв по сравнению с другими зерновыми культурами умеренного пояса, такие как рожь, овес, тритикале. Пшеница плохо переносит кислую реакцию почв, в связи с этим ограничивает ее распространение в регионах с дерново-подзолистой почвой. Для нее более благоприятными считаются суглинистые почвы, чем супесчаные, которые хуже обеспечены питательными веществами. Экологические особенности и относительно высокая засухоустойчивость пшеницы обуславливают ее большее распространение в лесостепной и степной зонах.

Ареалы распространения озимой и яровой пшеницы обусловлены такими агроклиматическими факторами, как суровость зим и мощность снегового покрова, от которых зависит сохранение растений в зимний

период. Что отличительно: озимые сорта пшеницы полнее используют осадки осеннего и весеннего периодов, что обуславливает ее более высокую урожайность по сравнению с яровой. [6]

1.4 Культура соматических клеток *in vitro* в селекции пшеницы

Культура соматических клеток *in vitro* представляет собой мощный инструмент в современной селекции растений, включая пшеницу. Этот метод позволяет не только ускорить процессы селекции, но и значительно расширить возможности для генетических исследований и улучшения сортов. В условиях лаборатории возможно создание и поддержание каллусных культур, проведение соматического эмбриогенеза, а также использование соматической изменчивости для получения новых генотипов. В данном разделе рассмотрены основные аспекты использования культуры соматических клеток *in vitro* в селекции пшеницы.

1.5 Преимущества применения культуры соматических клеток *in vitro*. Использование культуры соматических клеток *in vitro* позволяет ускорить селекционные процессы. В традиционной селекции создание нового сорта может занять десятилетия. Методы *in vitro* позволяют значительно сократить это время за счет быстрого размножения растений и ускоренного отбора перспективных линий. [1]

Расширить генетическое разнообразие: Культура соматических клеток *in vitro* способствует появлению соматической изменчивости, что может привести к получению новых генотипов с улучшенными характеристиками. [2]

Увеличить эффективность трансформации: В условиях *in vitro* возможно проведение генной трансформации с высокой эффективностью. Это позволяет встраивать в геном растения полезные гены, обеспечивающие устойчивость к болезням, стрессам или улучшающие качество зерна. [3]

Культура соматических клеток *in vitro* представляет собой важное направление в селекции пшеницы, которое открывает широкие возможности для генетических исследований и разработки новых сортов. Использование методов *in vitro* позволяет ускорить селекционные

процессы, расширить генетическое разнообразие и улучшить качественные характеристики растений. Дальнейшее развитие этой технологии будет способствовать решению глобальных проблем сельского хозяйства и обеспечению продовольственной безопасности.

2 Материалы и методы

2.1 Меры по обеспечению стерилизационных условий

Работа по стерилизации была проведена в вытяжном шкафу с соблюдением всех правил асептики. Сначала были обработаны все рабочие поверхности, инструменты и руки исследователя спиртом. Основные инструменты, использованные в эксперименте (пинцеты, скальпели и бактериологические иглы), стерилизовались методом фламбирования. Процедура стерилизации инструментов включала погружение в спирт и последующее нагревание над пламенем горелки в течение нескольких секунд. Поверхности контактных зон также были тщательно протерты ватными тампонами, смоченными в спирте.

2.2 Соматические клетки пшеницы

В данном исследовании основное внимание уделялось изучению условий, обеспечивающих эффективное получение соматических клеток пшеницы. Были использованы два генотипа пшеницы мягкого сорта: П-1 и П-2. Для каждого из генотипов готовились отдельные питательные среды, что позволило определить влияние генотипических особенностей на процесс каллусогенеза.

В качестве эксплантов для получения каллусной ткани использовали незрелые зародыши растений *Triticum aestivum*. Которые в дальнейшем подвергали воздействию различных фитогормонов и изучали их влияние на процесс каллусогенеза.

2.2.1 Морфогенез и биотехнология получения клеток пшеницы

Эксперимент включал несколько ключевых этапов:

1. Подготовка семян и их стерилизация: Семена пшеницы очищались от крупного мусора, пыли и мелких примесей. Затем проводилась их стерилизация в несколько этапов: обработка хлоргексидином (0,5%), спиртом (70%) и дистиллированной водой. [8]

2. Культивирование семян: После стерилизации семена помещались в стерильные чашки Петри с фильтровальной бумагой на дне, залитой дистиллированной водой на 3-4 мм. Чашки закрывались и обматывались парафиновой лентой для предотвращения контаминации, после чего помещались в темное место при комнатной температуре на 4-10 дней.
3. Подготовка пробирок с питательной средой.
Были приготовлены две питательные среды: МС ВАР и ГВ-5.

Таблица 1 - Состав питательной среды МС-ВАР

Компоненты питательной среды	Массовая доля
МС	3.7 гр
Агар	7 гр
Сахароза	20 гр
Мезоинозит	100 мг
Fe-ХЕ (железо-хелат)	5 мл
ВАР	2 мг/л

Таблица 2 - Состав питательной среды ГВ-5

Компоненты питательной среды	Массовая доля
Макро-соли и микро-соли	3.7 гр
Агар	7 гр
Сахароза	20 гр
Мезоинозит	100 мг
Fe	5 мл
2,4-Д (Дихлорфеноксиуксусная кислота)	2 мг/л

4. В пробирки с питательной средой помещались обрезанные корни и листья семян пшеницы.



Рисунок 1. Процесс обрезания отростков корня от семян пшеницы



Рисунок 2. Обрезанные отростки корней и листьев

5. Наблюдение за ростом каллусов: Пробирки оставлялись при комнатной температуре в темном месте на несколько дней. Периодически проводились наблюдения за ростом и развитием каллусов.



А)



Б)

Рисунок 3. А) Пробирки с генотипом №1 в питательной среде МС ВАР Б) Пробирки с генотипом №2 в питательной среде МС ВАР)



А)



Б)

Рисунок 4. А) Пробирки с генотипом №1 в питательной среде ГВ-5
Б) Пробирки с генотипом №2 в питательной среде ГВ-5

6. Промежуточные и конечные результаты: Через 4 и 10 дней проводились проверки пробирок на наличие заражений и образования каллусов. Спустя 14 дней были сделаны промежуточные расчеты по количеству засеянных структур и образовавшихся каллусов для каждой питательной среды и генотип

3 Результаты исследования

3.1 Выделение и питание соматических клеток урожая пшеницы

Проводя морфологические наблюдения за изменениями мы выяснили, что питательная среда ГВ-5, содержащая 2,4-Д, более благоприятна для процесса каллусогенеза по сравнению с питательной средой МС ВАР. Процент каллусогенеза в среде ГВ-5 составил 54,5%, тогда как в среде МС ВАР – 30%. Генотип П-1 показал более высокую склонность к каллусогенезу (64%) по сравнению с генотипом П-2 (25%).

Анализ данных:

Провели наблюдения в питательной среде МС ВАР и ГВ-5, внесли в таблицу. (Таблица 3):

1. Среда Мурасиге-Скуга (2 мг/л ВАР)

Засеяно структур: 40

Образовалось каллусов: 12

Процент: 30%

2. Среда ГВ-5 (2 мг/л 2,4-Д)

Засеяно структур: 22

Образовалось каллусов: 12

Процент: 54,5%

Таблица 3 - Влияние питательных сред на процесс каллусогенеза в пробирках

Питательные среды	Посажено структур	Образовалось каллусов	%
Мурасиге-Скуга (2 мг/л ВАР)	40	12	30
ГВ-5 (2 мг/л 2,4-Д)	22	12	54,5

Далее сравнили влияние генотипов (Таблица 4):

1. Генотип П-1:

Засеяно структур: 25

Образовалось каллусов: 16

Процент: 64%

2. Генотип П-2:

Засеяно структур: 32

Образовалось каллусов: 8

Процент: 25%

Таблица 4 - Влияние питательных сред на процесс каллусогенеза в пробирках

	Посажено структур	Образовалось каллусов	%
Генотип П-1	25	16	64
Генотип П-2	32	8	25

В результате проведенных исследований выявлены ключевые факторы, влияющие на процесс каллусогенеза в соматических клетках пшеницы. Питательная среда и генотип оказались решающими факторами в успешности процесса. Среда Гамборга В-5 с содержанием 2,4-Д показала лучшие результаты по сравнению с МС ВАР. Генотип П-1 оказался более склонен к каллусогенезу, что может быть связано с его генетическими особенностями.

Наши исследования подтвердили, что питательная среда Гамборга В-5, содержащая 2,4-Д (2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота), является более благоприятной для процесса каллусогенеза по сравнению с питательной средой МС ВАР (Мурасиге-Скуга с добавлением 6-бензиламинопурина). В экспериментах наблюдалось, что на среде Гамборга В-5 процент каллусогенеза составлял 54,5%, тогда как на среде МС ВАР этот показатель был 30%. Эти результаты согласуются с данными литературы,

где отмечается, что 2,4-Д является мощным стимулятором каллусогенеза благодаря своей способности индуцировать деление клеток и образование недифференцированных клеточных масс.

Результаты экспериментов показали значительные различия в склонности к каллусогенезу между двумя генотипами пшеницы. Генотип П-1 продемонстрировал более высокую склонность к образованию каллусов (64%), по сравнению с генотипом П-2 (25%). Эти различия могут быть объяснены генетическими особенностями каждого генотипа, такими как наличие или отсутствие определенных аллелей, ответственных за регенерацию и каллусообразование.

Интересно отметить, что взаимодействие между питательной средой и генотипом также сыграло важную роль. Хотя среда Гамборга В-5 оказалась более эффективной в целом, наибольший процент каллусогенеза был достигнут у генотипа П-1 на этой среде. Это подчеркивает необходимость индивидуального подбора питательных сред для разных генотипов, что может значительно улучшить результаты культивирования.

Среда МС ВАР, несмотря на свою меньшую эффективность в каллусогенезе, обладает другими важными свойствами. [8] В частности, она стимулирует процесс образования растений-регенератов. Это может быть полезно в дальнейших исследованиях и применениях, направленных на разработку новых сортов пшеницы. Сочетание разных подходов и использование различных сред могут позволить более гибко управлять процессами регенерации и каллусогенеза в зависимости от конечных целей исследования. [15]

Заключение

Исследование факторов, влияющих на частоту каллусогенеза в культуре соматических клеток пшеницы, позволило выявить ключевые элементы, способствующие этому процессу. Основными факторами, определяющими эффективность каллусогенеза, являются состав питательной среды и генотип исходного материала. На основании проведенных экспериментов можно сделать следующие заключения:

Питательная среда Гамборга В-5, содержащая фитогормон 2,4-Дихлорфеноксиуксусную кислоту (2,4-Д), оказалась наиболее благоприятной для каллусогенеза в исследованных условиях. 2,4-Д является мощным стимулятором каллусообразования, что подтверждается высоким процентом каллусогенеза в данной среде (54,5%). Этот фитогормон активно стимулирует деление клеток, что приводит к формированию каллуса, представляющего собой массу недифференцированных клеток, из которых впоследствии могут развиваться растения-регенераты. Генотип пшеницы

Питательная среда Мурасиге-Скуга (МС), дополненная фитогормоном 6-бензиламинопурином (ВАР), показала себя менее эффективной для каллусогенеза, но продемонстрировала свои преимущества в стимуляции регенерации растений. Несмотря на более низкий процент каллусогенеза (30%), среда МС ВАР активно способствует образованию растений-регенератов. Этот фитогормон стимулирует рост и развитие побегов из каллуса, что делает его ценным инструментом в биотехнологии растений для получения новых сортов.

Важным фактором, влияющим на частоту каллусогенеза, является генотип пшеницы. В исследовании были использованы два генотипа твердой пшеницы: П-1 и П-2. Анализ показал, что генотип П-1 продемонстрировал значительно более высокую склонность к каллусообразованию по сравнению с генотипом П-2. Частота каллусогенеза у генотипа П-1 составила 64%, тогда как у генотипа П-2 этот показатель был значительно ниже — всего 24%. Эти результаты свидетельствуют о генетической предрасположенности различных генотипов к процессу каллусогенеза, что необходимо учитывать при разработке новых сортов пшеницы.

Выводы

- В результате проведенных исследований получены каллусные ткани из соматических клеток озимой мягкой пшеницы сорта П-1 и П-2; Изучены факторы, влияющие на частоту каллусогенеза в культуре соматических клеток пшеницы.
- Было установлено что питательная среда Гамборга В-5, имеющая в своем составе 2,4 Дихлорфеноксиуксусную кислоту оказалась более благоприятной для процесса каллусогенеза относительно питательной среды МС с добавлением ВАР. Но при этом питательная среда Мурасига-Скуге, имеющая в своем составе ВАР ингибируя процесс каллусогенеза, вместе с тем стимулирует процесс образования растений регенератов.
- При изучении влияния генотипа озимой пшеницы на частоту процессов каллусогенеза нами было установлено, что генотип пшеницы П-1 более склонен к образованию каллусов, где частота каллусогенеза составила 64%. Исследованный нами генотип пшеницы П-2 обладает более низкой склонностью к образованию каллусов, где частота каллусогенеза составила 25%.

Список использованной литературы

1. Круглова Н.Н., Горбунова В.Ю. “Каллусогенез как путь морфогенеза в культуре пыльников злаков” (Успехи современной биологии) // Москва, - 1997, - Т. 117, - вып. 1. - 81–94 с.
2. Батыгина Т.Б., Круглова Н.Н., Горбунова В.Ю., Титова Г.Е., Сельдимирова О.А. От микроспоры – к сорту // - Наука, - 2010, - 174 с.
3. Круглова Н.Н. “Каллус как модель для изучения формирования структуры высшего растения” (Известия Уфимского научного центра) // - РАН, - 2011, № 3 17–22 с.
4. Круглова Н.Н., Сельдимирова О.А. “Потенциально морфогенный каллус пшеницы в культуре *in vitro*” // (Известия Уфимского научного центра) // - РАН, - 2018. № 2. 61–65 с.
5. Круглова Н.Н., Сельдимирова О.А. Регенерация пшеницы *in vitro* и *ex vitro*. Уфа: Гилем, 2011. 124 с.
6. Природные и социально-экономические условия развития зернового хозяйства URL:https://studbooks.net/1802281/ekonomika/prirodnye_sotsialno_ekonomicheskie_usloviya_razvitiya_zernovogo_hozyaystva?ysclid=1wknbt0xfr331630156
7. Анапияев Б.Б., "Культура микроспор и гаплоидная биотехнология пшеницы" (Culture of microspores and haploid biotechnology of wheat) // - 2001, - 193 с.
8. Murashige, T., Skoog, F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures // -Physiologia Plantarum, - 1962, - 15, - P.473-497.
9. "Gamborg, O. L., Miller, R. A., Ojima, K. Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells // Experimental Cell Research, - 1968, - 50, -P.151-158.
10. Chu, C. C. Establishment of an efficient medium for anther culture of rice through comparative experiments on the nitrogen sources // - Science Sinica, - 1975, - 18, - P. 659-668.
11. Анапияев Б.Б. "Культура микроспор и гаплоидная биотехнология пшеницы" (Culture of Microspores and Haploid Biotechnology of Wheat) // Алматы, - 2001, - 203 с.

12. Ауэрбах, Г., Лехнер, С. Gynogenesis in plant breeding // - Journal of Plant Breeding, - 2011, - 45(2), - P.110-123.
13. Райнхарт, Х. Gynogenesis and its applications in agriculture // - Agricultural Sciences, - 2020, - 11(5), - P.345-359.
14. Сафиулин, Р.Ф., Петров, А.И. “Андрогенез у злаков: генетические и биотехнологические аспекты” Биотехнология // Москва, - 2019. - 10(3), 112-126 с.
15. Wang, Q., Zhang, H. Effect of plant growth regulators on callus induction and regeneration of wheat (*Triticum aestivum* L.) anther culture // Plant Physiology and Biochemistry, - 2022, - 45(3), -P. 210-225.

РЕЦЕНЗИЯ

на дипломную работу студентов 4 курса Казахского национального исследовательского
технического университета им.К.И.Сатпаева

Роговых Илья Александрович и Сах Абзал

на тему: «Культивирование соматических клеток пшеницы»

Структура дипломной работы включает в себя: введение, три раздела, заключение, список используемых источников литературы и приложений, а также 4 таблицы и 6 рисунков.

Во введении определяется актуальность выбранной темы, цели и задачи исследования, объект и предмет.

В первой главе настоящей дипломной работы рассматриваются исходные данные для изучения темы, история и современное культивирование пшеницы. Были изучены факторы, такие как составы питательных средств, влияющие на рост и развитие пшеницы.

Во второй главе рассматриваются методы сбора исходных материалов, процессов стерилизации. Были описаны процессы проведения опытов в виде таблицы и проведены расчеты.

В третьей главе приведены результаты исследования.

В четвертой главе был проведен анализ результатов исследования.

В заключении приведены выводы о проделанной работе.

Замечания по дипломной работе:

В целом работа представлена завершенной, все элементы дипломной работы структурно взаимосвязаны. Работа может быть оценена на «отлично» (93%), а при успешной защите студенты достойны присвоения академической степени бакалавра по специальности «Биотехнология».

Дата: 28 мая 2024

Рецензент:

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



Жанбырбаев Е.А.

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

**ОТЗЫВ
НАУЧНОГО РУКОВОДИТЕЛЯ**

на дипломную работу
Сах Абзал Турапулы, Роговых Илья Александрович

6B05101 – Химическая и биохимическая инженерия

Тема: Культивирование соматических клеток пшеницы в условиях in vitro.

В данной дипломной работе на тему: «Культивирование соматических клеток пшеницы в условиях in vitro» обучающиеся Сах Абзал и Роговых Илья выполнили все поставленные перед ними задачи. В ходе выполнения работы ознакомились с методами и принципами культивирования пшеницы, а также приобрели профессиональные навыки.

В ходе работы обучающиеся приготовили питательные среды МС-ВАР и ГВ-5, а затем произвели посевы генотипов пшеницы на питательные среды в условиях in vitro.

Обучающиеся проводили наблюдения морфологических и микроскопических изменений в ходе всего процесса культивирования.

В ходе исследования обучающиеся изучили влияние состава питательных сред и генотипов пшеницы на процесс каллусогенеза

Я, как научный руководитель заметил, что дипломная работа была выполнена согласно всем требованиям и стандартам. Обучающиеся выполнили все поставленные задачи и цели. Работу можно считать завершенной. Учитывая все эти моменты отмечаю, что Сах А. и Роговых И. достойны к присуждению академической степени бакалавра по образовательной программе 6B05101–Химическая и биохимическая инженерия и заслуживают высокую оценку (93)



Научный руководитель:

Профессор кафедры, доктор биологических наук

Анапияев Б.Б.

«29» мая 2024 г.



Metadata

Title

Культивирования соматических клеток пшеницы в in vitro

Author(s)

Сах Абзал, Роговых Илья

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		1034
Spreads		0
Micro spaces		17
Hidden characters		0
Paraphrases (SmartMarks)		25

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

3244

Length in words



QC

25398

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://ronl.org/doklady/geografiya/718303/	57	1.76 %
2	https://sciencejournals.ru/view-article/?j=usobio&y=2020&v=140&n=2&a=UspBin2002004Kruglova	43	1.33 %
3	http://journal.ufaras.ru/wp-content/uploads/2021/12/61-65.pdf	25	0.77 %
4	http://ecobiotech-journal.ru/2019/pdf/ecbtch1902116.pdf	24	0.74 %
5	http://journal-pop.org/References/Vol_14_2(49-56).pdf	24	0.74 %
6	http://ecobiotech-journal.ru/2019/pdf/ecbtch1902116.pdf	24	0.74 %
7	http://ecobiotech-journal.ru/2019/pdf/ecbtch1902116.pdf	24	0.74 %

8	https://link.springer.com/article/10.1007/s10681-013-0955-6	23	0.71 %
9	http://ecobiotech-journal.ru/2019/pdf/ecbtch1902116.pdf	22	0.68 %
10	https://ronl.org/doklady/geografiya/718303/	19	0.59 %

from RefBooks database (0.00 %) 

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

from the home database (1.51 %) 

NO	TITLE	NUMBER OF IDENTICAL WORDS (FRAGMENTS)	
1	2022_БАК_Кенжалиева Ризана.docx 6/8/2022 Satbayev University (ИГиНГД)	31 (3)	0.96 %
2	Биотехнология культивирования изолированных клеток тритикале.docx 5/31/2023 Satbayev University (ИГиНГД)	9 (1)	0.28 %
3	Биотехнология культивирования изолированных клеток тритикале.doc 6/1/2023 Satbayev University (ИГиНГД)	9 (1)	0.28 %

from the Database Exchange Program (0.00 %) 

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

from the Internet (12.08 %) 

NO	SOURCE URL	NUMBER OF IDENTICAL WORDS (FRAGMENTS)	
1	http://ecobiotech-journal.ru/2019/pdf/ecbtch1902116.pdf	102 (5)	3.14 %
2	https://ronl.org/doklady/geografiya/718303/	99 (4)	3.05 %
3	https://sciencejournals.ru/view-article/?j=uspbio&y=2020&v=140&n=2&a=UspBio2002004Kruglova	81 (4)	2.50 %
4	http://journal.ufaras.ru/wp-content/uploads/2021/12/61-65.pdf	25 (1)	0.77 %
5	http://journal-pop.org/References/Vol_14_2(49-56).pdf	24 (1)	0.74 %
6	https://link.springer.com/article/10.1007/s10681-013-0955-6	23 (1)	0.71 %
7	https://jabonline.in/abstract.php?article_id=833&sts=2	16 (1)	0.49 %
8	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7716569/	11 (2)	0.34 %
9	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3203035/	11 (1)	0.34 %

List of accepted fragments (no accepted fragments)

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