

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

Толкынова Томирис Армановна

Сұлтан Ақнұр Біржанқызы

«Культивирование соматических клеток ярового тритикале *in vitro*»

ДИПЛОМНАЯ РАБОТА

6B05101 – Химическая и биохимическая инженерия

Алматы 2025 г.

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

ДОПУЩЕН К ЗАЩИТЕ

Заведующий кафедрой

«Химическая

и биохимическая

инженерия»
ассоц. профессор, к.х.н.

Мангазбаева Р.А.

2025г.



ДИПЛОМНАЯ РАБОТА

На тему: «Культивирование соматических клеток ярового тритикале *in vitro*»
6B05101 – Химическая и биохимическая инженерия

Выполнили

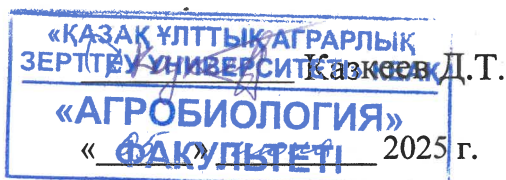
Толкынова Т.А. и Сұлтан А.Б.

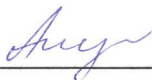
Рецензент

Доктор PhD, старший преподаватель
кафедры "Агрономия, селекция и
биотехнология"
факультета "Агrobiология"

Научный руководитель

Доктор биологических наук,
профессор



 Анапияев Б.Б.

« 05 » « июня » 2025 г.

Алматы 2025 г.

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»

ассоц.профессор, к.х.н.

Мангазбаева Р.А.

2025г.



Задание

На выполнение дипломной работы

Обучающимся Толкыновой Томирис Армановне и Сұлтан Акнұр Біржанқызы

Тема: «Культивирование соматических клеток ярового тритикале *in vitro*»

Утверждена приказом N 26 - П/О № от «19» 01 2025г.

Срок сдачи дипломной работы «9» июня 2025г.

Исходные данные к дипломной работе:

Краткое содержание дипломной работы:

а) Введение: обосновывается актуальность работы, научная и практическая значимость, изложена цель и задачи исследований.

б) Объект и методы исследования: дана характеристика объекта исследования, описаны приёмы и методы исследования.

в) Результаты исследования: изложены и проанализированы полученные результаты исследования, даны заключение и выводы.

Перечень выносимого на защиту материала: представлены 11 слайдов презентации и текст доклада.

Рекомендуемая основная литература состоит из 23 наименований.

ГРАФИК

подготовки дипломной работы

Наименование разделов, перечень разрабатываемых вопросов	Сроки представления научному руководителю	Примечание
Введение. Обзор литературы	04.03.2025	выполнено
Материал и методика исследований	01.04.2025	выполнено
Результаты исследования. Заключение и выводы	06.05.2025	выполнено

Подписи

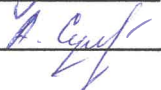
консультантов и норм контролера на законченную дипломную работу (проект) с указанием относящихся к ним разделов работы (проекта)

Наименование разделов	Консультанты, Ф.И.О. (уч. степень, звание)	Дата подписания	Подпись
Основная часть	Анапияев Б.Б., доктор биолог.наук, профессор	06.01.2025г	
Материалы и методика исследования	Анапияев Б.Б., доктор биолог.наук, профессор	20.01.2025г	
Нормоконтролер	Анапияев Б.Б., доктор биолог.наук, профессор	30.05.2025г	

Научный руководитель

 Анапияев Б.Б.

Задание приняли к исполнению обучающиеся

 Толкынова Т.А.
 Сұлтан А.Б.

Дата

«06» января 2025 г.

АННОТАЦИЯ

В данной дипломной работе рассмотрен процесс культивирования соматических клеток ярового тритикале (*Triticosecale*) в условиях *in vitro*. Исследование направлено на оптимизацию условий для получения каллусной ткани и последующей регенерации растений. Были изучены особенности реакции разных сортов тритикале на состав питательных сред, а также влияние фитогормонов (ауксинов и цитокининов) на каллусогенез. В результате установлены оптимальные параметры для индукции каллусообразования, что позволяет использовать полученные данные в дальнейшем при разработке биотехнологических методов селекции и генетической трансформации тритикале. Работа имеет практическую значимость для ускорения селекционного процесса и сохранения генофонда ценных сортов.

Ключевые слова: тритикале (*Triticosecale*), фитогормоны, каллус, каллусогенез, соматические клетки, *in vitro*, *in vivo*,

АНДАТПА

Дипломдық жұмыс *in vitro* жағдайында жаздық тритикале (*Triticosecale*) соматикалық жасушаларын өсіру процесін қарастырады. Зерттеу каллус тінін алу және өсімдіктердің кейінгі регенерациясы үшін жағдайларды оңтайландыруға бағытталған. Тритикаленің әртүрлі сорттарының қоректік ортаның құрамына реакциясының ерекшеліктері, сондай-ақ фитогормондардың (ауксиндер мен цитокининдер) каллусогенезге әсері зерттелді. Нәтижесінде каллус түзілуін индукциялау үшін оңтайлы параметрлер белгіленеді, бұл алынған деректерді кейіннен тритикале селекциясы мен генетикалық трансформациясының биотехнологиялық әдістерін әзірлеу кезінде пайдалануға мүмкіндік береді. Жұмыс асыл тұқымды процесті жеделдету және құнды сорттардың генофондын сақтау үшін практикалық маңызы бар.

Кілтті сөздер: тритикале (*Triticosecale*), фитогормондар, каллус, каллусогенез, соматикалық жасушалар, *in vitro*, *in vivo*.

ANNOTATION

In this thesis, the process of cultivating somatic cells of spring *Triticosecale* *in vitro* is considered. The research is aimed at optimizing the conditions for obtaining callus tissue and subsequent plant regeneration. The peculiarities of the reaction of different triticale varieties to the composition of nutrient media, as well as the effect of phytohormones (auxins and cytokinins) on callousogenesis were studied. As a result, optimal parameters for the induction of callus formation have been established, which makes it possible to use the data obtained in the future in the development of biotechnological methods of breeding and genetic transformation of triticale. The work is of practical importance for speeding up the breeding process and preserving the gene pool of valuable varieties.

Key words: triticale (*Triticosecale*), phytohormones, callus, callusogenesis, somatic cells, *in vitro*, *in vivo*.

СОДЕРЖАНИЕ

Введение	10
1 Литературный обзор	11
1.1 История создания ярового тритикале	11
1.2 Яровое тритикале: общая характеристика	12
1.3 Морфологические признаки растения	15
1.4 Ареал распространения	19
1.5 Процесс возделывания	20
1.6 Культура соматических клеток тритикале <i>in vitro</i>	21
1.7 Каллусогенез	23
1.8 Получение каллуса ярового тритикале (spring triticales)	25
2 Практическая часть	27
2.1 Материалы и методы	27
2.2 Приготовление питательных сред	29
3 Результаты исследования	32
Заключение	38
Список использованной литературы	40

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность. Культивирование соматических клеток ярового тритикале *in vitro* является важным направлением современной биотехнологии растений. Этот метод позволяет ускорить процесс получения новых форм с улучшенными признаками, повысить устойчивость к стрессовым условиям и создать основу для клонального размножения и генетических исследований. Тритикале, как гибрид пшеницы и ржи, представляет высокий агрономический интерес благодаря сочетанию урожайности и адаптивности, а разработка эффективных методов его культивирования *in vitro* способствует решению актуальных задач в области сельского хозяйства и селекции.

Цели исследования: Изучение факторов влияющих на частоту процессов каллусогенеза в культуре соматических клеток тритикале

Задачи исследования:

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

1 Литературный обзор

1.1 История создания ярового тритикале

Тритикале - это новый вид зерновой культуры, получившая начало при объединении хромосомных комплексов двух разных родов растений: пшеницы и озимой ржи. Селекционеры впервые смогли синтезировать новую культуру, которая сочетает в себе ценные свойства этих родов в едином организме. Название *Triticale* произошло от слов *triticum* (пшеница) и *secale* (рожь). Начало по созданию октоплоидных форм тритикале была положена в Швеции в 1931 году генетиком и селекционером А. Мюнтцингом путем самоопыления и опыления гибридов пылью существующих линий тритикале с последующим индивидуальным отбором лучших рекомбинантных форм [1].

Этот гибрид имеет хорошие перспективы, особенно в неблагоприятных для родительского вида районах, благодаря повышенной устойчивости к стрессовым условиям окружающей среды — таким как засуха и алюминиевая токсичность почв, а также большей сопротивляемостью ряду вредителей и болезней [2].

Низким содержанием плодов обладали гибриды, полученные в Европе в конце XIX века. В 1937 году в широком масштабе стали получать новые формы тритикале, когда тетраплоидные и гексаплоидные тритикале были выделены с использованием полиплоидизирующего действия колхицина В.Н. Лебедевым и А.И. Державиным. В 1941 году В.Е. Писарев создал первые яровые октоплоидные формы тритикале на основе сибирских сортов пшеницы и ржи. А в 1945 году, скрещивая озимую пшеницу Яранка с озимой рожью Житкинская, ученый создал первую озимую форму 56-хромосомных тритикале - АД 72, отличающийся высокой зимостойкостью [3].

В Казахстане селекцию тритикале начали в 1970 году в Казахском научно-исследовательском институте сельского хозяйства и растениеводства (КазНИИЗиР) под руководством академика Уразалиева Рахима Алмабековича, в результате чего выведено множество сортов озимого и ярового тритикале кормового и хлебопекарного назначения, как в чистом виде и в смеси с пшеницей [4].

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

В настоящее время в Казахстане основным сырьём для производства муки служат пшеница и рожь, тогда как зерно тритикале практически не используется в этой отрасли. Для возделывания в южных регионах страны рекомендованы озимые сорта тритикале, такие как Таза, Орда и Балауса. Однако в настоящее время отмечается недостаток информации о свойствах

современных сортов тритикале, выведенных казахстанскими селекционерами, а также о его технологических качествах как сырья для мукомольной промышленности. В связи с этим возникает необходимость проведения углублённых исследований, направленных на изучение качественных показателей зерна тритикале, его перерабатываемости и потенциальной ценности для пищевой промышленности [6].

1.2 Яровое тритикале: общая характеристика

1.2.1 Генетическая структура и классификация

Пшеница (*Triticum aestivum*) имеет хромосомный набор $2n = 6x = 42$ хромосомы (триплоид AABBDD).

Рожь (*Secale cereale*) имеет хромосомный набор $2n = 2x = 14$ хромосом (RR).

Для получения ярового тритикале скрещивают эти два вида злака. Получается гибрид с хромосомным набором $2n = 6x = 42$ хромосомы, где 28 хромосом пшеницы и 14 хромосом ржи (в идеальном случае).

В генотипе ярового тритикале представлены три генома:

1) Геном пшеницы (A, B и D), который определяют в основном такие свойства как урожайность, размеры зерна и стойкость к определенным болезням.

2) Геном ржи (R), обеспечивающий такие качества, как стойкость к суровым погодным условиям (холод, жара и тд.).

- гексаплоидные ($6x$, $2n = 42$) созданы путем скрещивания твердой пшеницы с рожью. Их геномная формула AABBRR (геном AABB - от твердой пшеницы,

геном RR - ржи). Эти формы более урожайны, чем другие и меньше подвержены нарушениям в процессе мейоза.

- октаплоидные ($8x$, $2n = 56$) происходят путем скрещивания мягкой пшеницы и ржи. Их геномная формула AABBDDRR.

- декаплоидные ($10x$, $2n = 70$) - генотипы созданные также путем скрещивания пшеницы и ржи. Но в этом генотипе увеличенная доза ржи [16]

1.2.2 Строение зерна

Зерно ярового тритикале, как и зерно пшеницы, имеет форму овала или слегка удлиненной зерновки, однако его размеры могут варьироваться в зависимости от сорта и условий выращивания. Средний размер зерна ярового тритикале составляет около 7-10 мм в длину, а его масса может достигать 40-50 г на 1000 зерен. В отличие от зерна пшеницы, оно может быть несколько

более вытянутым и крупным, но не таким гладким, как у ржи.

Зерно ярового тритикале покрыто плотной оболочкой (скорлупой), которая придает зерну прочность и устойчивость к внешним воздействиям. Однако в отличие от ржи, зерно тритикале имеет более тонкую и мягкую оболочку, что улучшает его перерабатываемость в муку и других продуктах [7].



Рисунок 1.1 – Зерно: 1- пшеницы, 2 - тритикале, 3 - ржи. (верхний ряд - вид сверху, нижний ряд - вид сбоку)

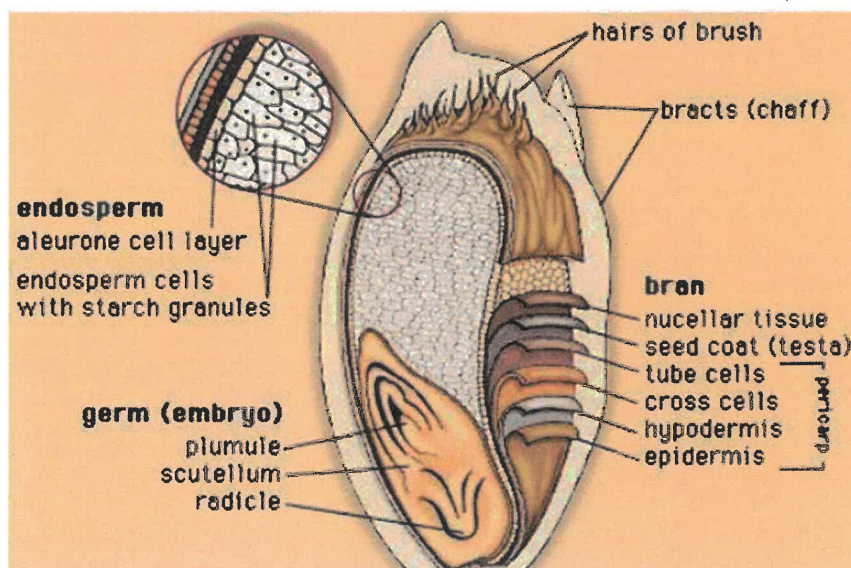


Рисунок 1.2 – Внутреннее строение зерна тритикале [10]

1.2.3 Биологические особенности ярового тритикале

Отличие от ржи: Рожь обладает уникальной устойчивостью к зимним болезням, которые могут поражать пшеницу, но яровое тритикале благодаря своему гибридному происхождению, также наследует часть этих устойчивостей.

Отличие от пшеницы: Пшеница более часто подвержена заболеваниям, таким как мучнистая роса, фузариоз и ржавчина, чем яровое тритикале. Однако тритикале не застраховано от появления болезней, характерных для этой культуры.

1.2.4 Устойчивость к абиотическим факторам окружающей среды

Устойчивость ярового тритикале (*Triticum* × *Secale*) к абиотическим факторам является ключевой характеристикой, определяющей его пригодность для выращивания в различных климатических и почвенных условиях. Эта культура, являясь пшенично-ржаным гибридом, сочетает в себе биологические свойства обеих исходных культур, что придает ей высокую устойчивость к различным неблагоприятным абиотическим факторам, таким как низкие температуры, засуха, засоление почвы и другие экстремальные условия.

1. Устойчивость к низким температурам. Яровое тритикале характеризуется хорошей устойчивостью к пониженному температурному режиму, особенно на ранних фазах развития. Это качество обусловлено генетическим наследием от ржи, обладающей высокой морозо- и зимостойкостью. За счёт этого тритикале может успешно культивироваться в климатических зонах с прохладной весной и частыми возвратными заморозками.

Согласно данным, представленным в исследовании по коллекции тритикале, интродуцированной из *CIMMYT*, отмечено, что многие образцы ярового тритикале демонстрируют высокую адаптивность к условиям нестабильного температурного фона, особенно в фазе всходов и кущения. Они сохраняют жизнеспособность даже при кратковременном снижении температуры до -5°C [14].

Кроме того, ржаной компонент генома тритикале обуславливает формирование мощной корневой системы, что способствует лучшему поглощению влаги и повышает устойчивость к промерзанию верхнего слоя почвы. Некоторые линии тритикале способны накапливать осмотически активные вещества (например, сахара и пролин), повышающие морозоустойчивость клеток и их выживаемость в стрессовых условиях.

Тем не менее, несмотря на общую устойчивость, тритикале остаётся чувствительным к сильным морозам во время фазы колошения и цветения. Именно в эти периоды растение наиболее уязвимо, и даже кратковременное понижение температуры может негативно повлиять на формирование колоса и последующее налив зерна [14].

Также отмечается, что раннеспелые и фотопериодически нейтральные линии тритикале показывают более устойчивое развитие в условиях короткого

светового дня и низких температур, что делает их пригодными для выращивания в северных и горных регионах [8].

2. Устойчивость к засухе. Одной из наиболее выраженных характеристик ярового тритикале является его высокая устойчивость к засухе. Это качество унаследовано от ржи, которая является засухоустойчивой культурой благодаря более глубокой корневой системе и способности растения эффективно использовать ограниченные водные ресурсы. Тритикале также обладает восковым налетом на листьях, что уменьшает потери воды за счет испарения, и позволяет растению сохранять влагу в условиях дефицита воды [8].

3. Устойчивость к засолению почвы. Яровое тритикале демонстрирует определенную устойчивость к засолению почвы, что делает его подходящим для возделывания в районах с повышенной соленостью почвы. Это свойство также было унаследовано от ржи, которая способна выживать на солончаковых почвах, где другие сельскохозяйственные культуры могут не развиваться. Однако для оптимального роста и развития тритикале все же требуются условия с умеренным уровнем засоления.

4. Тепловая устойчивость. Тритикале проявляет высокую термическую устойчивость по сравнению с пшеницей, что делает его более пригодным для возделывания в регионах с высокими температурами в летний период. Тем не менее, яровое тритикале более чувствительно к высокотемпературным стрессам на стадии колошения, когда тепло может повлиять на процесс опыления и снижение урожайности. Это ограничение особенно важно в жарких регионах, где поддержание оптимальной температуры для роста растений является важным фактором.

5. Устойчивость к механическим повреждениям. Яровое тритикале отличается высокой прочностью стебля, что делает его менее подверженным вылеживанию, особенно в условиях повышенной влажности или сильных дождей. Это свойство унаследовано от ржи, которая отличается прочностью стебля, способствующей поддержанию вертикальной позиции растения, даже при неблагоприятных погодных условиях, таких как сильные дожди или ветры [7].

1.3 Морфологические признаки растения

Тритикале, как и все зерновые злаки, обладает мочковатой корневой системой, которая развита очень сильно. В зависимости от условий произрастания корни могут проникать на глубину 1,5–2,5 м и даже глубже. Зародышевые корни появляются после прорастания семян. В отличие от других зерновых культур, тритикале имеет преимущества в мощности и

усваивающей способности корневой системы, которая лучше переносит дефицит влаги, кислые и легкие, малопродуктивные почвы.

Листья тритикале, как правило, крупные (длиной 25–40 см и более, шириной 1,5–3,5 см), слегка поникающие, различной формы и часто покрыты сильным восковым налетом. Окраска листьев обычно зеленая. Облиственность стебля составляет 43–57% и выше.

Тритикале - самоопыляющееся растение, но не исключено перекрестное опыление. Созревает на 3-5 дней позже озимой пшеницы. Вегетационный период длится от 250 до 325 дней. Различают следующие фазы роста и развития:

- всходы;
- кущение;
- формирование в трубку;
- колошение;
- цветение;
- молочная спелость зерна;
- восковая спелость зерна;
- полная спелость зерна [1].

1.3.1 Кустистость.

Данные о кустистости тритикале противоречивы. Некоторые авторы указывают на высокую, другие – на более низкую их кустистость по сравнению с пшеницей.

В среднем у октоплоидных тритикале количество стеблей на одно растение составляет 4,34 (в диапазоне от 2,19 до 7,23), а в некоторых случаях может достигать 6,5—10,6. У гексаплоидных тритикале этот показатель ниже и варьируется от 4,7 до 6,3 (в среднем 5,5) [11].

Линии, содержащие многолетнюю рожь, демонстрируют особенно высокую кустистость. У тритикале с хорошей кустистостью зерно имеет мелкие размеры.

Тритикале лучше растет осенью и продолжает расти весной. Общая кустистость при оптимальных сроках посева в осенний период составляет 3-6 г.

Густота тритикале коррелирует с их чувствительностью к фотопериоду. Линии тритикале, чувствительные к продолжительности светового дня, выколашивались на две недели позже и дали в два раза больше побегов, чем нейтральные по фотопериоду. У октоплоидных тритикале была обнаружена отрицательная корреляция между густотой и плодовитостью. Побег, формирующийся весной, зацветает позже и менее равномерно, чем основные стебли. В результате колошения, цветения, налива и созревание зерна

растягивается, что создает неблагоприятные условия для формирования урожая. Среди вторичных стеблей наблюдаются аномалии колошения (например, затрудненный выход колоса из оболочки верхнего листа).

При загущенном посеве растения тритикале колосятся и цветут более равномерно, чем при ширококормном посеве, поскольку в этом случае развиваются в основном основные стебли.

Слабое кущение у тритикале не всегда обусловлено генетически. Часто на ранних стадиях развития это вызвано повреждением травяными мухами и другими вредителями [11].

1.3.2 Высота растения

Высота растения является сложным количественным признаком. У гексаплоидных форм тритикале её могут определять как гены материнской, так и отцовской формы, а также их взаимодействие. Для гексаплоидных форм тритикале характерны различные типы наследования высоты растения: доминирование высокорослости, доминирование низкорослости и промежуточное наследование. Было установлено, что высота стебля у растений тритикале значительно изменяется в зависимости от экологических условий.

Показатель высоты растений используется для оценки жизнеспособности линий или различий между эуплоидами и анеуплоидами внутри линии. Эуплоиды — это растения с нормальным числом хромосом, соответствующим типу вида, в то время как анеуплоиды имеют отклонения в числе хромосом (например, лишние или недостающие хромосомы). Анеуплоид — это организм или клетка, у которых ненормальное (неправильное) число хромосом, то есть количество хромосом отличается от нормального кратного числа полного набора (генома). У нормальных (диплоидных) клеток хромосомы идут парами (например, у человека — 46 хромосом: 23 пары) [14]. У анеуплоида одна или несколько хромосом лишние или, наоборот, отсутствуют. Эуплоидные растения, как правило, более высокорослы по сравнению с анеуплоидами. Чем больше отклонение анеуплоида от нормального числа хромосом, тем ниже его рост. При этом устойчивость к полеганию не увеличивается, так как у анеуплоидов соломина остаётся тонкой и слабой.

Стебель тритикале представляет собой полую соломинку цилиндрической формы, различающуюся по высоте, толщине стенок и плотности. Длина стебля в разные фазы роста зависит не только от биологических особенностей сортов, но и от водного и питательного режима почвы, густоты стояния растений и предшествующих культур. Высота растений тритикале может варьировать в пределах 65–160 см [14].

1.3.3 Признаки колоса

Колоски у тритикале отдельные, расположены на члениках колосового стержня, многоцветковые, содержащие от 3 до 5 фертильных цветков. Колосковые чешуи плотные, жесткие, с килем, который иногда переходит в остевидный придаток. Наружная цветковая чешуя симметрична, с нервами, которые сходятся в верхней части. По строению колосковых и цветковых чешуй тритикале напоминает рожь, однако они более узкие и ланцетные, чем у пшеницы. Строение колоса у тритикале ближе к мягкой пшенице, так как в одном колоске может завязываться более двух (3-4, до 6) зерен, в отличие от ржи, где обычно завязывается только два зерна [7].

Тритикале имеет высокие потенциальные возможности для увеличения продуктивности колоса благодаря сочетанию многоколосковости, характерной для ржи, и многоцветковости, присущей пшенице. Колос тритикале отличается большей длиной и плотностью по сравнению с пшеницей, содержит от 16 до 28 колосков, в каждом из которых находится от 30 до 55 зерен (для пшеницы — 25-45 зерен). Масса 1000 зерен варьирует от 30,0 до 68 г. Выделены линии ярового тритикале, которые превосходят пшеницу по всем элементам структуры колоса.



Рисунок 1.3 – Цветение тритикале (слева), до налива зерна (справа).

1.3.4 Селекция на засухоустойчивость

Засухоустойчивость тритикале оценивается по нескольким ключевым признакам: отсутствию увядания растений в жаркие послеполуденные часы, наличию восковидного налета на листьях и узким листьям. Интегральным показателем устойчивости к засухе является способность линии тритикале обеспечивать высокий урожай качественных зерен в засушливых условиях.

Водный дефицит у тритикале развивается медленнее, чем у пшеницы.

Растение обладает хорошей водоудерживающей способностью, особенно в самые засушливые периоды. У тритикале концентрация клеточного сока выше, а содержание связанной воды — ниже. В течение дня в растении наблюдаются два минимума содержания воды. К тому же, транспирация (процесс испарения воды с поверхности растений, в основном через устьица листьев) у тритикале отличается от пшеницы: у пшеницы кривая транспирации имеет две вершины, а у тритикале — одну, что связано с мощной корневой системой, унаследованной от ржи. Этот физиологический процесс, в ходе которого влага, поглощённая корневой системой растения, испаряется преимущественно с поверхности листьев. Основным путём потери воды осуществляется через специальные поры — устьица, располагающиеся на эпидермисе листовой пластинки. Испарение воды играет ключевую роль в обеспечении восходящего тока веществ, транспортируемых из почвы к надземным органам, а также способствует поддержанию тургорного состояния клеток и снижению перегрева в условиях повышенной температуры окружающей среды. Интенсивность транспирации напрямую зависит от внешних факторов, таких как температурный режим, уровень влажности воздуха, скорость движения воздуха (ветер), а также уровень освещённости. Внутренние факторы включают анатомические особенности листа, степень раскрытия устьиц и общее физиологическое состояние растения. Несмотря на то, что транспирация может вызывать существенные потери влаги, она необходима для нормального водного обмена и жизнедеятельности растения в целом.

В условиях дефицита влаги наименьшее снижение продуктивности наблюдается у трехвидовых сортов тритикале (снижение составило 24,7–32,5%), а наибольшее — у октаплоидных (53,8–54,3%) [7].

Жаростойкость тритикале была исследована путем определения всхожести семян при температуре 54°C. В фазе проростков тритикале, как и пшеница и рожь, отличается высокой термоустойчивостью (94–98%). В более поздние фазы развития проявляется дифференциация по жаростойкости. Трехвидовые сорта тритикале превосходят озимую мягкую пшеницу по засухоустойчивости и жаростойкости на протяжении всех фаз развития.

1.4 Ареал распространения

Яровое тритикале на сегодняшний день является одной из перспективных культур, адаптированных к условиям умеренного климата. В мировом масштабе его возделывание распространено преимущественно в странах Европы, Северной Америки и Австралии. В странах Центральной и

Восточной Европы, таких как Германия, Польша и Чехия, яровое тритикале занимает важное место в сельскохозяйственном производстве, как для получения зерна, так и для использования в кормовых целях. В Канаде и США культура востребована в районах с холодным климатом, где она демонстрирует высокую устойчивость к неблагоприятным погодным условиям, таким как низкие температуры и засухи. Также в последние десятилетия яровое тритикале активно возделывается в странах с ограниченными водными ресурсами благодаря своей способности эффективно использовать влагу и адаптироваться к засушливым условиям.

1.5 Процесс возделывания ярового тритикале

1.5.1 Выбор участка для посева

Для успешного возделывания ярового тритикале важен правильный выбор участка. Оптимальны участки с плодородными чернозёмами, каштановыми или дерново-подзолистыми почвами, обладающими достаточной влагоёмкостью, хорошей аэрацией и нейтральной или слабокислой реакцией (рН 5,5–7,0). Особое внимание следует уделить севообороту: лучшими предшественниками являются бобовые культуры (горох, люцерна), картофель, кукуруза и масличные культуры. В условиях Казахстана рекомендуется избегать размещения тритикале после зерновых культур во избежание накопления вредителей и болезней в почве [18].

1.5.2 Технология посева и норма высева семян

Посев ярового тритикале следует осуществлять при прогревании почвы до +2...+5°C, обычно это конец марта – начало апреля в зависимости от региона Казахстана. Семена предварительно обеззараживают фунгицидами (например, «Витавакс 200 ФФ», «Максим») для предотвращения грибковых инфекций. Рекомендуемая глубина заделки семян – от 3 до 5 см, что обеспечивает оптимальные условия для прорастания. Норма высева составляет от 4,5 до 5,5 млн всхожих семян на гектар, что соответствует примерно 180–220 кг/га в зависимости от массы 1000 семян. Рядовой способ с междурядьями 12–15 см обеспечивает равномерное развитие растений [18,19].

1.5.3 Уход за урожаем: защита от сорняков и болезней

Защита посевов от сорняков является важным аспектом возделывания ярового тритикале. Для эффективной борьбы с сорными растениями используют гербициды («Гранстар», «Диален супер»), обработку которыми

проводят в фазе кущения культуры. В Казахстане наибольшую опасность представляют такие болезни, как мучнистая роса, бурая и жёлтая ржавчина, септориоз и фузариоз. Для борьбы с ними рекомендуется применение системных фунгицидов («Альто супер», «Фалькон», «Фоликур») в фазах кущения и начала выхода в трубку. Регулярные фитосанитарные обследования посевов позволяют своевременно реагировать на угрозы и минимизировать риски [18,19].

1.5.4 Сбор урожая и послеуборочная обработка семян

Оптимальный срок сбора урожая тритикале наступает при влажности зерна около 14–16%, обычно это период августа – начала сентября. Сбор урожая производят прямым комбайнированием. После уборки зерно подвергается очистке от примесей, сортировке и обязательной сушке до влажности 13% для обеспечения длительного хранения. В Казахстане на крупных аграрных предприятиях используются современные зерносушильные и очистительные комплексы, позволяющие значительно повысить качество конечного продукта и всхожесть семян [18].

1.5.5 Сорты и генотипы ярового тритикале

В мировой и казахстанской практике возделывания ярового тритикале получили распространение сорта, характеризующиеся высокой продуктивностью и устойчивостью к неблагоприятным условиям окружающей среды. Среди них выделяют сорта отечественной селекции, такие как «Орда», «Айдар», «Алем», «Секе», которые демонстрируют хорошие адаптивные характеристики в условиях резко континентального климата Казахстана. В мировой практике широко известны сорта европейской селекции – «Дублет», «Легион», «Гренадо», отличающиеся высоким потенциалом урожайности, устойчивостью к болезням и высоким качеством зерна [20].

1.6 Культура соматических клеток

1.6.1 Соматические клетки

Соматические клетки представляют собой любые клетки организма растений, за исключением половых, участвующих непосредственно в половом размножении. Эти клетки сохраняют полный генетический набор родительского организма и обладают тотипотентностью, то есть

способностью к формированию целого растения в условиях культуры *in vitro*. В случае ярового тритикале, соматические клетки могут служить эффективным материалом для регенерации растений, позволяя получать генетически однородные линии и использовать их в селекционных и биотехнологических исследованиях. Культивирование соматических клеток ярового тритикале в контролируемых условиях *in vitro* предполагает использование специальных питательных сред, которые включают необходимые макро- и микроэлементы. Макроэлементы:

- Азот (N) – обычно представлен в форме нитрата аммония (NH_4NO_3) и нитрата калия (KNO_3).
 - Фосфор (P) – чаще всего используется дигидрофосфат калия (KH_2PO_4).
 - Калий (K) – присутствует в виде KNO_3 и KH_2PO_4 .
 - Кальций (Ca) – применяется в виде хлорида кальция ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$).
 - Магний (Mg) – добавляется в форме сульфата магния ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$).
 - Сера (S) – также поставляется с помощью сульфата магния.
- Микроэлементы (обычно представлены в форме солей):
- Железо (Fe) – чаще всего в виде хелата железа, например, Fe-ЭДТА

(этилендиаминтетраацетат железа).

- Марганец (Mn) – в виде сульфата марганца ($\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$).
- Цинк (Zn) – как сульфат цинка ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$).
- Медь (Cu) – используется сульфат меди ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$).
- Бор (B) – в форме борной кислоты (H_3BO_3).
- Молибден (Mo) – представлен молибдатом натрия ($\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$).
- Йод (I) – часто используется йодид калия (KI).
- Кобальт (Co) – в виде хлорида кобальта ($\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$).

Эти компоненты обеспечивают клетки всеми необходимыми элементами питания для нормального роста, деления и дифференциации в условиях культуры *in vitro*, витамины, фитогормоны и углеводы, стимулирующие деление и дифференциацию клеток.

1.6.2 Каллусные клетки

Каллусные клетки являются аморфной, рыхлой, недифференцированной массой клеток, которая формируется при культивировании растительных тканей на питательных средах, содержащих определённые фитогормоны, чаще всего цитокинины и ауксины. Образование каллуса у ярового тритикале

служит важным этапом в микроклональном размножении и генетической модификации растений [21]. Эти клетки характеризуются высокой способностью к пролиферации и служат базой для регенерации растений посредством органогенеза или соматического эмбриогенеза. В зависимости от состава питательной среды и гормонального фона возможно направленное изменение процессов роста, дифференциации и морфогенеза каллусных клеток [22].

1.6.3 Виды и типы каллусной ткани

Каллусная ткань подразделяется на несколько видов в зависимости от внешних характеристик, консистенции и морфологических особенностей:

Аморфный каллус: характеризуется рыхлой, неоднородной структурой, слабо выраженной морфологией и высоким уровнем пролиферативной активности. Компактный каллус: отличается более плотной структурой, медленным ростом и низкой регенерационной способностью. Однако он обладает стабильными генетическими характеристиками, важными при генетических исследованиях.

Также различают типы каллусов по их способности к регенерации:

Морфогенный каллус: способен к дифференциации и образованию органов или зародышей в условиях *in vitro*.

Неморфогенный каллус: не проявляет способности к органогенезу и используется в основном для получения клеточных культур с целью выделения вторичных метаболитов или проведения фундаментальных клеточных исследований [23].

1.7 Каллусогенез

1.7.1 Процесс индукции каллуса

Индукция каллуса является начальной фазой образования недифференцированной клеточной массы из эксплантов растительного происхождения. Процесс индукции требует создания строго контролируемых условий, включая использование стерильных питательных сред, содержащих сбалансированный набор фитогормонов. Наиболее эффективными фитогормонами для индукции каллуса являются ауксины, такие как

2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота (2,4-Д), в комбинации с цитокининами (например, кинетин или бензиламинопурин). Именно это сочетание фитогормонов стимулирует интенсивное клеточное деление и образование каллусной ткани.

1.7.2 Стадии развития каллусной культуры

Каллусная культура развивается в несколько последовательных этапов:

Индукция: На начальном этапе клетки экспланта начинают активно делиться, образуя небольшие скопления клеток без дифференциации. Продолжительность этой стадии может варьироваться от нескольких дней до нескольких недель, в зависимости от условий культивирования и вида растений.

Пролиферация: На данном этапе происходит интенсивное увеличение биомассы каллуса за счет быстрого деления клеток. Каллус приобретает характерные внешние признаки – аморфную или компактную структуру, зависящую от состава среды и генотипа растения.

Дифференциация: На заключительной стадии развития каллусной культуры клетки начинают дифференцироваться и формировать специализированные ткани и органы при наличии соответствующих условий (определенное соотношение фитогормонов, световой режим и температура). Это приводит к образованию зародышей или отдельных органов, которые могут развиваться в полноценные растения [2].

1.7.3 Роль фитогормонов в индукции каллусогенеза

Фитогормоны (растительные гормоны) — это природные биологически активные вещества, которые регулируют рост, развитие и жизнедеятельность растений. Они действуют в очень низких концентрациях, способны перемещаться в растении и влиять на различные физиологические процессы.

Фитогормоны играют центральную роль в процессах индукции и развития каллусных культур. Наиболее значимыми в этих процессах являются ауксины и цитокинины. Ауксины (например, 2,4-Д) играют ведущую роль в инициации клеточного деления, стимулируя активный рост недифференцированных клеток. Цитокинины, такие как кинетин или БАП, в свою очередь, отвечают за поддержание высокой пролиферативной активности клеток и регулируют процессы дифференциации и морфогенеза. Точное соотношение этих гормонов является ключевым фактором, определяющим успешность и направление каллусогенеза.

Соотношение экзогенных фитогормонов в питательной среде оказывает существенное влияние на их биологический эффект. Данное предположение впервые было предложено в 1957 году исследователями К. Миллером и Ф. Скугом. Позднее, совместно с японским ученым Т. Мурасиге, ими была создана питательная среда, ставшая наиболее распространенной при культивировании растительных клеток. В настоящее время данная концепция известна как гипотеза гормональной регуляции. Согласно ей, преобладание

цитокининов в среде стимулирует образование побегов, а преобладание ауксинов способствует формированию корней. Если же концентрации цитокининов и ауксинов относительно равны, то это приводит к неорганизованному росту и образованию каллусной ткани.

1.8 Получение каллуса ярового тритикале (*spring triticale*)

Каллус представляет собой недифференцированную массу клеток, возникающую в результате пролиферации соматических клеток растений при их выращивании в условиях *in vitro*. Процесс получения каллуса ярового тритикале (*spring triticale*) широко применяется в селекции и биотехнологии для размножения, регенерации растений и создания новых генотипов с улучшенными признаками.

Оптимальным материалом для индукции каллуса у тритикале служат незрелые зародыши, молодые листья, междоузлия и корни проростков. Наиболее эффективным считается использование незрелых зародышей, полученных через 14-20 дней после опыления, поскольку они обладают высокой способностью к каллусообразованию [2].

Процесс культивирования для получения каллуса обычно проводится на средах, содержащих минеральные соли по Мурасиге-Скуга (МС), углеводы (чаще всего сахара или глюкоза), фитогормоны (ауксины и цитокинины) и агар для придания твердой консистенции среды. Концентрация фитогормонов играет критическую роль: для тритикале обычно используют комбинацию 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты (2,4-D) и кинетина или бензиламинопурина (БАП). Наиболее распространённой является концентрация 2,4-D от 1 до 3 мг/л и цитокининов от 0,2 до 1 мг/л [21].

Температурный режим культивирования составляет 23–25°C при фотопериоде 16 часов света и 8 часов темноты, что способствует оптимальному росту каллусной ткани. Первые признаки каллусогенеза наблюдаются уже через 7-14 дней культивирования, а стабильный и хорошо развитый каллус формируется через 3-4 недели [16].

В казахстанских исследованиях также отмечается успешное получение каллуса различных сортов ярового тритикале («Орда», «Айдар», «Алем») с высоким потенциалом регенерации, что подтверждает возможность широкого применения данного метода в селекционно-генетических и биотехнологических программах республики [17].

Особое внимание уделяется этапу последующего поддержания и субкультивирования каллуса. Субкультивирование, или пересадка каллусных культур на свежие питательные среды, проводится каждые 3-4 недели для предотвращения старения и дифференциации тканей. Этот процесс помогает сохранить клетки в активно растущем состоянии и способствует увеличению

регенерационного потенциала культуры [16].

Кроме того, важной стадией является регенерация растений из каллусной ткани. Полученные регенеранты затем проходят адаптацию в условиях теплицы и открытого грунта, что является завершающим этапом технологии и позволяет получить полноценные растения, пригодные для дальнейшего использования в селекции и производстве.

Таким образом, технология получения каллуса ярового тритикале позволяет эффективно использовать его в селекционной работе и биотехнологических исследованиях для выведения новых сортов с улучшенными хозяйственно полезными признаками.

2 Практическая часть

Экспериментальные исследования проводились на базе лаборатории «Биотехнологии» в технопарке Казахского национального исследовательского технического университета имени К.И. Сатпаева (г. Алматы) под научным руководством профессора Анапияева Б.Б.

В рамках работы основной задачей являлся отбор растительных эксплантов тритикале, обладающих высоким потенциалом для культивирования изолированных клеток в условиях строгой стерильности. Подбор эксплантов осуществлялся с учётом их физиологического состояния, морфологических характеристик, а также пригодности к регенерации в искусственной питательной среде *in vitro*.

2.1 Материалы и методы

Объектом исследования данной дипломной работы стали семена ярового тритикале сорта Str-1 и Wtr-2. Семена сорта Str-1 отличались средними размерами, удлинённо-овальной формой и светло-коричневой окраской оболочки. Для данного сорта была характерна высокая всхожесть и равномерное прорастание. Семена сорта Wtr-2 имели более крупные размеры, плотную оболочку золотистого оттенка и демонстрировали хорошую механическую устойчивость. Семена предварительно очищались от посторонних примесей, мусора, шелухи и наружных оболочек. Для обеспечения стерильности посевного материала мы проводили обработку сначала хлоргексидином 10 минут, 70 % этиловым спиртом 2-3 минуты, затем прополоскали семена дистиллированной водой 2 раза. Простерилизованные семена помещали в чашки Петри и проращивали в условиях темноты при температуре 20°C в течение 7 суток в термостате с целью получения зрелых зародышей.

Материалы исследования:

В процессе выполнения работы применялись следующие приборы и оборудование:

- автоклав;
- ламинарный бокс;
- термостат.
- лабораторная посуда:
- чашки Петри;
- пробирки;
- скальпель;
- пинцет медицинский;
- препаровальные иглы.

Подготовка посуды и инструментов.

Этап 1. Очистка посуды. Лабораторная стеклянная посуда предварительно тщательно очищалась с применением моющих средств либо обработкой раствором двуокиси калия в серной кислоте. После обработки посуда промывалась несколько раз дистиллированной водой до полного удаления остатков реагентов.

Этап 2. Сушка посуды. Очищенная посуда помещалась в сушильный шкаф для полного удаления влаги. Перед дальнейшей стерилизацией горлышки стаканов, колб и пробирок закрывались алюминиевой фольгой или обёрточной бумагой для предотвращения вторичного загрязнения воздушными микроорганизмами.

Этап 3. Стерилизация посуды. Посуду стерилизовали в сушильном шкафу при температуре 160°C в течение 1,5–2 часов. Режим обеспечивал полное уничтожение бактерий, спор и других микроорганизмов, что гарантировало высокую степень стерильности используемого оборудования.

Подготовка инструментов.

Этап 4. Стерилизация инструментов перед началом работы. Инструменты (скальпели, пинцеты, иглы) стерилизовались в сухожаровом шкафу при температуре 140°C в течение 2 часов. Металлические изделия не подвергались автоклавированию, чтобы предотвратить коррозию и потерю режущих свойств.

Этап 5. Обеспечение стерильности инструментов в процессе работы. В ходе работы инструменты дополнительно стерилизовались следующим образом: Помещались в фарфоровую ёмкость с 70%-ным этиловым спиртом;

Обжигались в пламени спиртовой горелки непосредственно перед использованием;

Стерильные инструменты применялись однократно. При повторном использовании требовалась обязательная повторная стерилизация.

Этап 6. Ламинарный бокс

Перед началом лабораторных процедур ламинарный бокс должен быть тщательно продезинфицирован. Строгое соблюдение условий стерильности имеет критическое значение при работе с изолированными культурами пыльников, поскольку используемая питательная среда является благоприятной средой для быстрого размножения микроорганизмов. При этом загрязнение может не только препятствовать развитию исследуемого материала, но и существенно изменять химический состав питательной среды за счёт жизнедеятельности посторонних организмов.

С целью обеспечения стерильности внутренняя рабочая поверхность ламинарного бокса обрабатывается 70%-ным раствором этилового спирта. После дезинфекции внутрь бокса размещаются все необходимые материалы и

оборудование: спиртовка, ёмкости со спиртом, стерилизованные инструменты, посуда и чашки Петри.

Все манипуляции с растительным материалом должны выполняться исключительно на стерильной рабочей поверхности либо в предварительно простерилизованных чашках Петри для минимизации риска микробного загрязнения.

2.2 Приготовление питательных сред

Для индукции каллусообразования использовались питательные среды на основе рецептур Мурасиге и Скуга (МС) с добавлением 6-бензиламинопурина (БАП), а также среда Гамборга В5, обогащённая 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислотой (2,4-Д) в качестве источника ауксина.

1 этап. Подготовка питательной основы.

Макроэлементы (аммонийная селитра, калийная селитра, хлорид кальция, сернокислый магний и фосфорнокислый калий) поочерёдно растворяются в части объёма дистиллированной воды. При этом строго соблюдается порядок добавления солей для предотвращения осаждения веществ.

2 этап. Введение макроэлементов.

После полного растворения вводятся борная кислота, сульфаты цинка и марганца, молибдат натрия, йодид калия, сульфат меди и хлорид кобальта. Для поддержания стабильности железа в растворе добавляется комплекс соли железа с ЭДТА.

3 этап. Введение органических веществ.

Вводятся миоинозитол, тиамин-НСl, пиридоксин-НСl и никотиновая кислота. В качестве углеродного источника добавляется сахароза в количестве 30 г/л для среды МС и 20–30 г/л для среды В5.

4 этап. Коррекция уровня pH.

Значение pH устанавливают в пределах 5.6–5.8 для МС и 5.5–5.8 для В5 с помощью растворов NaOH или HCl.

5 этапе. Введение регуляторов роста.

В питательную среду МС вносится 6-бензиламинопурин (6-БАП), стимулирующий клеточное деление и образование побегов. В среду В5 добавляется 2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота (2,4-D), способствующая активному развитию каллусной ткани. Фитогормоны предварительно растворяются в минимальном объёме растворителя (например, в этаноле) для более точного дозирования.

6 этап. Добавление агара.

При необходимости получения твёрдой среды в раствор добавляется агар в концентрации 6–8 г/л. После полного растворения всех компонентов

среды разливаются в стеклянные ёмкости (колбы, пробирки) и стерилизуются в автоклаве при 121 °С в течение 15–20 минут.

Гормоны, чувствительные к высоким температурам, могут быть введены в среду асептическим способом после автоклавирования через стерильные фильтры. Готовые среды охлаждаются до 40–45 °С, после чего заливаются в стерильные чашки Петри или пробирки и оставляются до застывания (если используется агар).

Таблица 2.1 – Состав питательных сред Мурасиге- Скуга и Гамбурга B5

Параметр	МС + БАП (Murashige & Skoog + 6-ВАР)	B5 + 2,4-Д (Gamborg B5 + 2,4-D)
Назначение	Индукция побегообразования	Стимуляция каллусообразования
Азот (NH_4^+ и NO_3^-)	Высокая концентрация	Больше нитратного азота, меньше аммония
Макроэлементы	Высокие	Умеренные
Микроэлементы	Полный набор	Полный набор
Витамины	Тиамин, пиридоксин, никотиновая кислота	Больше витаминов, особенно тиамин
Углеродный источник	Сахароза 30 г/л	Сахароза 20–30 г/л
РН до стерилизации	5.6–5.8	5.5–5.8
Фитогормоны	6-Бензиламинопурин (6-ВАР, цитокинин)	2,4-Дихлорфеноксиуксусная кислота (2,4-D, ауксин)
Основная функция гормона	Стимуляция деления клеток и побегообразования	Индукция каллусного роста и подавление корнеобразования
Агент загущения	Агар (по необходимости)	Агар (по необходимости)

Таблица 2.2 – Сравнительное содержание макроэлементов в питательных средах MS и B5

Компонент	Концентрация в MS (мг/л)	Концентрация в B5 (мг/л)	Назначение компонента
Макроэлементы			
NH_4NO_3 (аммонийная селитра)	1650	0	Источник азота
KNO_3 (калийная селитра)	1900	2500	Источник калия и азота
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (хлорид кальция)	440	150	Источник кальция
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (сернокислый магний)	370	250	Источник магния и серы
KH_2PO_4 (фосфорнокислый калий)	170	150	Источник фосфора

Таблица 2.3 – Состав и функции микроэлементов и органических добавок в питательной среде для роста растений.

Компонент	Концентрация в MS (мг/л)	Концентрация в B5 (мг/л)	Назначение компонента
Микроэлементы			
H ₃ BO ₃ (борная кислота)	6.2	3.0	Бор — для роста
MnSO ₄ ·4H ₂ O (сульфат марганца)	22.3	10.0	Марганец — кофактор ферментов
ZnSO ₄ ·7H ₂ O (сульфат цинка)	8.6	2.0	Цинк — метаболизм
KI (йодистый калий)	0.83	0.75	Йод — микроэлемент
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O (молибдат натрия)	0.25	0.25	Молибден — азотфиксация
CuSO ₄ ·5H ₂ O (сульфат меди)	0.025	0.025	Медь — ферменты
Железо			
FeSO ₄ ·7H ₂ O (сульфат железа)	27.8	27.8	Источник железа
Na ₂ EDTA (ЭДТА-натрий)	37.3	37.3	Хелатор для железа
Органические добавки			
Миоинозитол	100	100	Стимулятор роста
Тиамин-HCl (витамин B ₁)	0.1	10.0	Коэнзим
Пиридоксин-HCl (витамин B ₆)	0.5	1.0	Обмен веществ
Никотиновая кислота (витамин PP)	0.5	1.0	Обмен веществ
Глюкоза или сахароза	30 000	20 000–30 000	Источник энергии
Регуляторы роста (по необходимости)			Ауксины, цитокинины добавляют индивидуально

Таким образом, грамотная последовательность действий и соблюдение условий стерильности обеспечивают приготовление качественных питательных сред. Среда MS с добавлением БАП используется для стимулирования побегообразования, тогда как среда B5 с 2,4-D эффективна для индукции каллусного роста.

3 Результаты исследования

В результате исследования всхожести семян тритикале в условиях *in vitro* установлено, что генотипы Str-1 и Wtr-2 показали различную способность к прорастанию. У генотипа Str-1 из 100 посеянных семян проросло 21 экземпляров, что соответствует всхожести 21%. Для генотипа Wtr-2 из 100 семян проросло 57 экземпляров, что составляет 57% всхожести. Таким образом, генотип Wtr-2 продемонстрировал несколько более высокую всхожесть по сравнению с генотипом Str-1. Однако в целом уровень всхожести по обоим генотипам оставался низким, что может свидетельствовать о влиянии генетических особенностей или условий культивирования.

Таблица 3.1 – Изучение всхожести семян ярового тритикале в условиях *in vivo*

Генотип	Кол-во семян	Кол-во проросших семян	% всхожести
Str-1	100	21	21%
Wtr-2	100	57	57%



Рисунок 3.1 – Прорастание генотипа Wtr-2



Рисунок – 3.2 – Проращение генотипа Str-1

В ходе исследования проращения листьев тритикале в условиях *in vivo* установлено, что генотипы Str-1 и Wtr-2 проявили различную эффективность проращения. У генотипа Str-1 из 100 семян сформировались проросшие листья в 11 случаях, что составляет 11% проращения. У генотипа Wtr-2 из 100 семян было зафиксировано 42 проросших листьев, что соответствует 42%. Таким образом, генотип Wtr-2 продемонстрировал более высокую способность к проращению листьев по сравнению с генотипом Str-1. Низкие показатели проращения в целом могут быть обусловлены как генетическими особенностями исходного материала, так и специфическими условиями проведения *in vitro* эксперимента.

Таблица 3.2 – Изучение проращения листьев ярового тритикале в условиях *in vivo*;

Генотип	Кол-во семян	Кол-во проросших листьев	% проращения
Str-1	100	11	11%
Wtr-2	100	42	42%

Таблица 3.3 – Изучение проращения корней ярового тритикале в условиях *in vivo*;

Генотип	Кол-во семян	Кол-во проросших листьев	% проращения
Str-1	100	20	20%
Wtr-2	100	22	22%

Таблица 3.4 – Показатели прорастания листьев и корней у генотипов Str-1 и Wtr-2 ярового тритикале *in vivo*

Генотип	Кол-во проросших листьев	Длина листьев, см	Средняя длина листьев, см	Кол-во проросших корней	Длина корней, см	Средняя длина корней, см
Str-1	1	1,2	0,83	1	0,4	0,51
	2	1,5		2	0,7	
	3	1,1		3	0,5	
	4	0,8		4	0,3	
	5	0,3		5	0,9	
	6	0,7		6	0,2	
	7	1,2		7	0,3	
	8	0,8		8	0,7	
	9	0,4		9	0,5	
	10	0,3		10	0,6	
Wtr-2	1	1,7	1,64	1	1,2	0,77
	2	1,4		2	0,7	
	3	2		3	0,4	
	4	1		4	0,7	
	5	2,5		5	0,9	
	6	2,3		6	0,6	
	7	1		7	1,1	
	8	0,9		8	0,5	
	9	2,7		9	0,7	
	10	0,9		10	0,9	

В таблице представлены данные о количестве проросших листьев и корней, их длине, а также средние значения длины листьев и корней у двух генотипов ярового тритикале (Str-1 и Wtr-2), культивируемых *in vitro*. Результаты получены по 10 экземпляров для каждого генотипа.

Следующим процессом была посадка эксплантов на заранее подготовленные питательные среды в пробирках. Было посажено 59 эксплантов в 10 пробирок. В одну пробирку было посажено от 5 до 7 эксплантов. Эксперимент длился 2,5 месяца. 2 недели ушло на проростание семян, 2 месяца семена приживались к питательным средам и происходил процесс каллусогенеза. В течение 2-х месяцев пробирки хранились в термостате при температуре 20°C. Каждую неделю пробирки проверялись на наличие изменений.

Далее в ходе эксперимента была проведена оценка способности к каллусообразованию у двух генотипов ярового тритикале (Str-1 и Wtr-2) на двух питательных средах: МС с добавлением 6-бензиламинопурина (БАП) и

ГВ5 с добавлением 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты (2,4-Д).

На среде МС + БАП каллусообразование наблюдалось у обоих генотипов. У генотипа Str-1 из 15 эксплантов каллусы сформировались в 3 случаях, что составило 20%. У генотипа Wtr-2 из 18 эксплантов получено 4 каллуса (22%). Таким образом, среда с добавлением БАП (цитокинина) способствовала активному делению клеток и стимулировала каллусогенез.

На среде ГВ5 + 2,4-Д, содержащей синтетический ауксин, каллусообразование также происходило, но с меньшей эффективностью. У генотипа Str-1 из 12 эксплантов образовались 2 каллуса (17%), у генотипа Wtr-2 из 14 эксплантов — также 2 каллуса (14%). Это говорит о менее выраженном стимулирующем эффекте 2,4-Д на каллусообразование у исследуемых генотипов по сравнению с БАП.

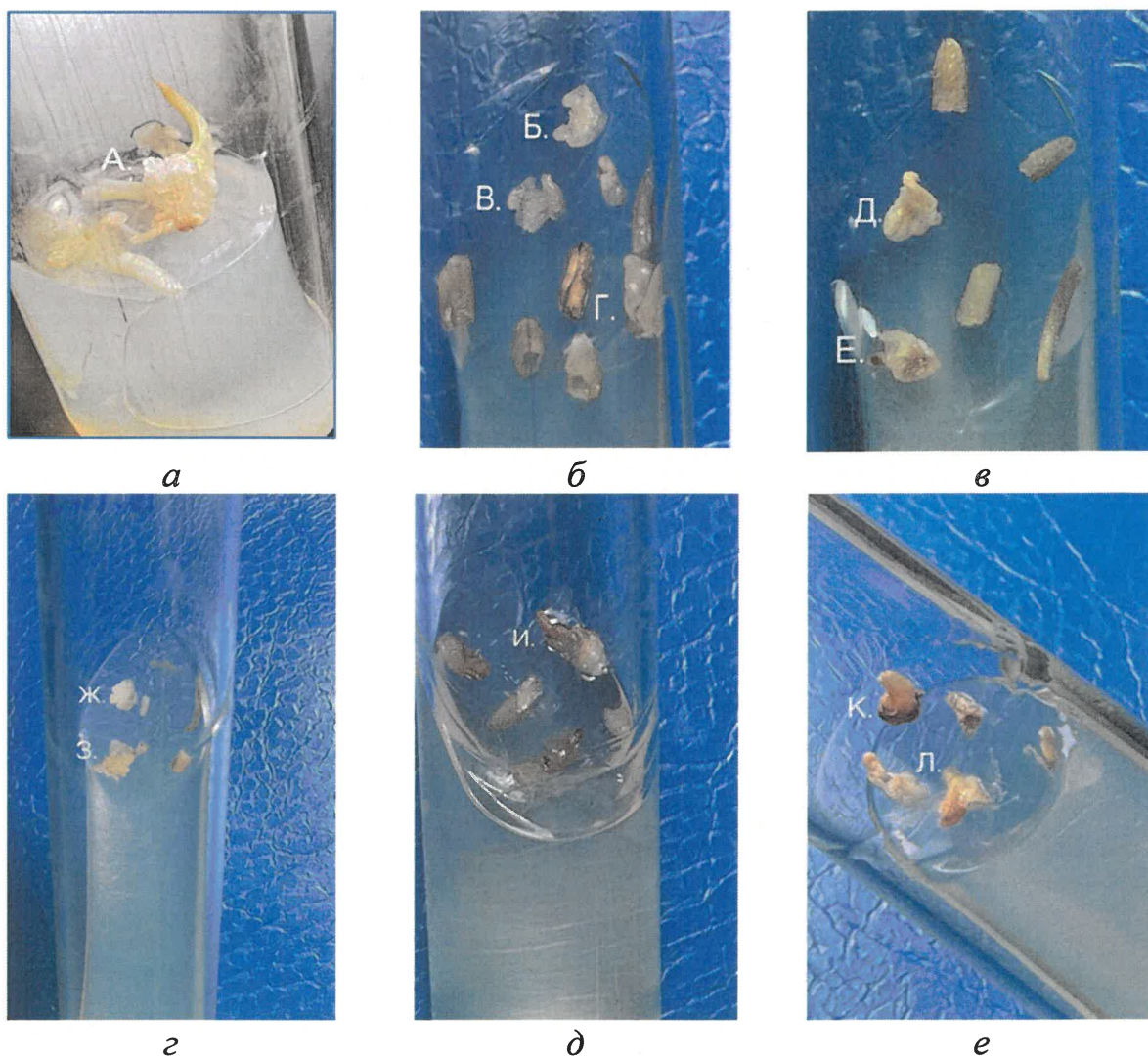


Рис 3.3. а,б,в,г,д,е - образовавшиеся каллусы

Таблица -3.5 Влияние питательной среды Мурасиге-Скуга на частоту процессов каллусогенеза в культуре соматических клеток тритикале

№	Генотип	Кол-во эксплантов	Кол-во полученных каллусов	%
1	Str-1	15	3	20%
2	Wtr-2	18	4	22%

Таблица -3.6 Влияние питательной среды Гамборга В5 на частоту процессов каллусогенеза в культуре соматических клеток тритикале

№	Генотип	Кол-во эксплантов	Кол-во полученных каллусов	%
1	Str-1	12	2	17%
2	Wtr-2	14	2	14%

Таблица – 3.7 Влияние генотипа на частоту процессов каллусогенеза в культуре соматических клеток тритикале

№	Генотип	Кол-во эксплантов	Кол-во полученных каллусов	%
1	Str-1	27	5	18,51
2	Wtr-2	32	6	18,75

Влияние питательной среды на каллусогенез: Результаты, представленные в таблицах 1 и 2, свидетельствуют о том, что питательная среда оказывает существенное влияние на процессы каллусообразования в культуре соматических клеток тритикале. Так, на среде Мурасиге-Скуга (МС) показатели каллусогенеза были выше: у генотипа Str-1 — 20%, у Wtr-2 — 22%. В то время как на среде Гамборга В5 частота каллусообразования составила лишь 17% и 14% соответственно. Наиболее высокие показатели каллусообразования наблюдались на среде МС с добавлением фитогормона БАП, что указывает на положительное влияние цитокинина на индукцию каллусной ткани у ярового тритикале.

Роль генотипа в способности к каллусообразованию: Как показано в таблице 3, различия в частоте каллусогенеза между двумя исследуемыми генотипами (Str-1 и Wtr-2) были незначительными. В объединённом анализе частота каллусообразования у Str-1 составила 18,51%, а у Wtr-2 — 18,75%. Это указывает на то, что оба генотипа обладают схожим потенциалом к образованию каллусов при соответствующих условиях. Следовательно, генотипический фактор оказывает влияние, но оно менее выражено по сравнению с воздействием состава питательной среды.

Взаимодействие факторов и практическое значение: Совокупный анализ результатов подчёркивает, что при культивировании соматических клеток тритикале *in vitro* наибольшее значение для эффективности каллусогенеза имеет выбор питательной среды. Хотя генотип также оказывает определённое влияние, его вклад в вариативность результатов существенно ниже. Практически это означает, что для повышения продуктивности культуры целесообразно сосредоточить усилия на оптимизации состава среды, в частности с опорой на формулу Мурасиге-Скуга, адаптируя её под конкретные потребности культуры.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе работы были выполнены и получены следующие результаты:

1. Генотип Wtr-2 продемонстрировал более высокие показатели всхожести (57% и 21% у Str-1), интенсивности формирования листьев (42% и 11%) и развития корневой системы (0,77 см и 0,51 см). Это указывает на более высокий регенерационный потенциал данного генотипа при культивировании *in vivo*.

2. В ходе эксперимента соматические клетки тритикале были успешно выделены и переведены в условия *in vitro*, что подтверждает возможность их дальнейшего использования для каллусогенеза и регенерации растений.

3. Наиболее высокая частота каллусообразования была зафиксирована на среде Мурасиге-Скуга (MS) с добавлением 6-бензиламинопурина, что составило 20% у генотипа Str-1 и 22% у генотипа Wtr-2. Полученные каллусы отличались активным ростом, плотной структурой и светло-кремовой окраской, что свидетельствует о высокой морфогенетической активности клеток в этих условиях.

Перечень принятых сокращений

БАП - 6 - бензиламинопурин

2,4 - Дихлорфеноксиуксусная кислота

ГВ5 - питательная среда Гамбурга В5

МС - питательная среда Мурасиге и Скуга

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Б.А. Айнабекова, С. Шортанбаева Тритикале – ценная кормовая культура // Биологические основы селекции и генофонда растений: Мат-лы международной научной конференции, посвященной 70-летию академика НАН РК, РАСХН и УААН Уразалиева Р.А. - Алматы, - 2005, - С.260-261.
- 2 Cunha G.R. da, Terra W.C., Ceccarelli D., Souza T.L.P.O., Silva, M.D.S.//Callus induction and plant regeneration by Brazilian triticale and wheat genotypes // *Brazilian Journal of Genetics*, -2023,- P. 46.
- 3 Вильдфлуш И.Р., Саскевич П.А.. Современные технологии возделывания сельскохозяйственных культур: учебно-методическое пособие. – Гор-ки: БГСХА, - 2016, – С. 383.
- 4 Айнебекова Б.А. Этапы развития и результаты селекции тритикале в Казахстане//Система создания кормовой базы животноводства на основе интенсификации растениеводства и использования природных кормовых угодий: материалы Международной научной конференции. – Алмалыбак: ТОО «Асыл кітап» Баспа үйі, - 2016, – С.191-193
- 5 Айнебекова Б.А. Селекция озимого гексаплоидного тритикале в Казахстане // Сборник научных трудов, посвященный 75 – летию академика НАН РК, РАСХН и УААН Уразалиева Р.А.- Алматы, - 2010, — С. 24-31.
- 6 Zhanabayeva K.K., Ongarbayeva N., Ruchkina G.A., G.K. Yesseyeva G.K., Smolyakova V.L. Features of Technological Properties of Triticale Grain of Kazakhstan's Selection // *Journal of Engineering and Applied Sciences*, - 2018, - V.13, - P. 207-211.
- 7 Лукин С.М., Ильин Л.И. Яровое тритикале: возделывание в Нечерноземной зоне России // ФГБНУ ВНИИОУ, ФГБНУ Владимирский НИИСХ; — Владимир: - 2017, — С.7.
- 8 Лукин С. М., Русакова И. В., Тысленко А. М. Инновационные сорта и технологии возделывания ярового тритикале: коллективная монография // ФГБНУ ВНИИОУ. — Владимир: ПресСто, 2017, — С. 30.
- 9 Еськов А.И., Ильин Л.И. Яровая тритикале: возделывание в нечерноземной зоне России // ГНУ ВНИИОУ Россельхозакад —Владимир: Транзит - ИКС, - 2011, — С. 23 .
- 10 GrowNote. Triticale: Plant Growth and Physiology. Western Section 4. – Western, - 2018, – P. 2, <https://www.scribd.com/document/421530264/GRDC-GrowNotes-Barley-Western>
- 11 GrowNote. Triticale: Plant Growth and Physiology. Western Section 2. – Western, - 2018, – P. 9, <https://www.scribd.com/document/421530264/GRDC-GrowNotes-Barley-Western>

- 12 GrowNote. Triticale: Plant Growth and Physiology. Western Section 1 // Western, -2018, – №1. -P. 1-7.
<https://www.scribd.com/document/421530264/GRDC-GrowNotes-Barley-Western>
- 13 Blum, A. The Abiotic Stress Response and Adaptation of Triticale — A Review // Cereal Research Communications, - 2014, - Т. 42, - P. 359–375.
- 14 Jessop, R.S. Stress tolerance in newer triticales compared to other cereals // In: Guedes-Pinto, H., Darvey N., Carnide, V.P. (eds) Triticale: Today and Tomorrow. Developments in Plant Breeding. – Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, - 2006, - P. 419–428.
- 15 Kolomeychenko V.V. Triticale Horticulture/Textbook. – Moscow: Agrobiznesentr, - 2007, - P. 600.
- 16 В.К. Швидченко, Т.В. Савин, В.С. Киян, А.М. Тыслено, Д.В. Зуев Оценка в условиях климата Северного Казахстана гибридных линий ярового тритикале по комплексу хозяйственно-ценных признаков. – 2016, - P. 16.
- 17 Рсалиев Ш. С. Отечественные сорта тритикале в Казахстане // <https://kazniizr.kz/otechestvennyye-sorta-tritikale-v-kazahstane//КазНИИЗиР>, - 2023.
- 18 С. Е. Скатова, канд с.-х. наук А. М. Тысленко, канд с.-х. наук Технология возделывания яровой тритикале // Всероссийский научно-исследовательский институт зернобобовых и крупяных культур (ВНИИЗиК). Владимир, - 2017, - С. 5-12.
- 19 Тысленко А.М. Инновационные сорта и технологии возделывания ярового тритикале // Сборник материалов // Владимир, - 2017, - С. 159 -199 .
- 20 А.К. Куришбаев, С.М. Лукин, А.М. Тысленко Результаты и перспективы развития на севере Казахстана селекции ярового тритикале в рамках международного сотрудничества Россия – Казахстан. - Владимир, - 2017, - С. 80 - 112
- 21 Валиханова Г.Ж. Сельскохозяйственная биотехнология // Учебное пособие. – Алматы, - 2010, – С. 22-25.
- 22 Ертаева Б.Е., Амирова А.К., Бишимбаева Н.К. Особенности морфологической гетерогенности каллусных тканей хлопчатника казахстанской селекции // Молодой ученый №10 – 2015. – С. 40-42.
- 23 Медведев А.М., Пома Н.Г., Осипов В.В., Жихарев С.Д. О направлениях и методах повышения морфогенетического разнообразия и селекционной ценности тритикале // Вестник сельскохозяйственной науки Казахстана. – №9 – 2015. – С. 50-53.

РЕЦЕНЗИЯ

на дипломную работу

Толкыновой Томирис Армановны и Сұлтан Ақнұр Біржанқызы

6B05101 – «Химическая и биохимическая инженерия»

На тему: «Культивирование соматических клеток ярового тритикале *in vitro*»

Выполнено:

- а) графическая часть состоит из 12 рисунков и 10 таблиц
- б) пояснительная записка на 41 странице

ЗАМЕЧАНИЯ К РАБОТЕ

Дипломная работа Толкыновой Т.А. и Сұлтан А.Б. посвящена исследованию факторов, влияющих на частоту каллусообразования при культивировании соматических клеток ярового тритикале *in vitro*. Тема актуальна и соответствует профилю подготовки, а структура и содержание работы удовлетворяют требованиям государственного образовательного стандарта.

В процессе выполнения дипломного исследования авторами была поставлена цель — изучение процессов каллусообразования на различных типах питательных сред. Работа включает анализ современных литературных источников, описания используемых методик, а также интерпретацию полученных экспериментальных данных. Представленные результаты обоснованы и логично связаны с поставленными задачами. Авторы демонстрируют хорошее понимание исследуемой темы, умение проводить анализ, систематизировать информацию и делать обоснованные выводы.

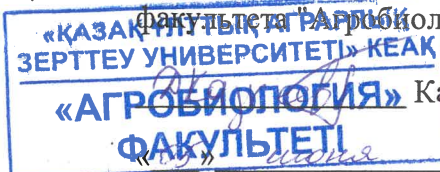
Оформление дипломной работы соответствует установленным требованиям. Существенных замечаний по содержанию и методологической части не выявлено.

Оценка работы

Дипломная работа соответствует предъявленным требованиям и заслуживает оценки «отлично» 98 баллов. Авторы дипломной работы Толкынова Томирис Армановна и Сұлтан Ақнұр Біржанқызы достойны степени бакалавра по специальности 6B05101 – «Химическая и биохимическая инженерия».

Рецензент

Доктор PhD, старший преподаватель
кафедры "Агрономия, селекция и биотехнология"



Казкеев Д.Т.

2025 г.

ОТЗЫВ

НАУЧНОГО РУКОВОДИТЕЛЯ

на _дипломную работу Толкынова Томирис Армановны и
Сұлтан Ақнұр Біржанқызы

6B05101 – Химическая и биохимическая инженерия

Тема: «Культивирование соматических клеток ярового тритикале in vitro»

Тема дипломной работы Толкынова Томирис Армановны и Сұлтан Ақнұр Біржанқызы является очень актуальным и посвящена исследованию биотехнологических методов культивирования соматических клеток тритикале. Как известно тритикале является новой культурой, который является высокоурожайным и устойчивым к неблагоприятным биотическим и абиотическим стрессовым факторам окружающей среды. Поэтому разработке и использованию биотехнологических методов в селекции тритикале уделяется особое внимание.

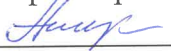
В дипломной работе приведены результаты исследования факторов влияющих на частоту процессов каллусогенеза в культуре соматических клеток ярового тритикале в условиях in vitro. Авторами дипломной работы были полностью выполнены цели и задачи исследования.

Оформление дипломной работы соответствует нормативным требованиям.

Подводя итог можно отметить, что тема дипломной работа Толкынова Томирис Армановны и Сұлтан Ақнұр Біржанқызы очень актуальна, отличается теоретической и практической ценностью и соответствует всем требованиям для присвоения квалификации бакалавр по специальности 6B05101 – «Химическая и биохимическая инженерия» и заслуживает очень высокой оценки «Отлично» - 98 %.

Научный руководитель

доктор биологических наук,
профессор

 Анапияев Б. Б.
«02»  2025 г.



Similarity Report

Metadata

Name of the organization

Satbayev University

Title

Культивирование соматических клеток ярового тритикале in vitro

Author(s)

Coordinator

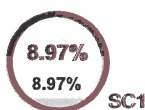
Султан Акнур, Толкынова Томирис Бакытжан Анапияев

Organizational unit

ИГИНГД

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.



25
The phrase length for the SC 2



7010
Length in words



52989
Length in characters

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		1
Spreads		0
Micro spaces		3
Hidden characters		0
Paraphrases (SmartMarks)		40

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	Биотехнология культивирования изолированных клеток тритикале.doc 6/1/2023 Satbayev University (ИГИНГД)	84 1.20 %
2	Биотехнология культивирования изолированных клеток тритикале.doc 6/1/2023 Satbayev University (ИГИНГД)	75 1.07 %
3	https://kazatu.edu.kz/assets/i/science/vn1603-agro10.pdf	47 0.67 %

4	https://kazatu.edu.kz/assets//science/vn1603-agro10.pdf	37 0.53 %
5	https://knowledge.allbest.ru/agriculture/2c0a65635a2bd69b4d43a88421216d27_0.html	31 0.44 %
6	https://knowledge.allbest.ru/agriculture/2c0a65635a2bd69b4d43a88421216d27_0.html	21 0.30 %
7	Бизнес план проект производства кормовой тритикале 6/7/2021 West Kazakhstan Agrarian Technical University named after Zhangir Khan (Институт агротехнологии)	21 0.30 %
8	https://knowledge.allbest.ru/agriculture/2c0a65635a2bd69b4d43a88421216d27_0.html	21 0.30 %
9	Биотехнология культивирования изолированных клеток тритикале.doc 6/1/2023 Satbayev University (ИГиНГД)	16 0.23 %
10	Культура соматических клеток тритикале in vitro 6/10/2024 Satbayev University (ИГиНГД)	15 0.21 %

from RefBooks database (0.00 %)

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

from the home database (5.08 %)

NO	TITLE	NUMBER OF IDENTICAL WORDS (FRAGMENTS)
1	Биотехнология культивирования изолированных клеток тритикале.doc 6/1/2023 Satbayev University (ИГиНГД)	223 (9) 3.18 %
2	Культура соматических клеток тритикале in vitro 6/10/2024 Satbayev University (ИГиНГД)	105 (14) 1.50 %
3	Культура соматических клеток сахарного сорго в условиях in-vitro 5/31/2024 Satbayev University (ИГиНГД)	28 (4) 0.40 %

from the Database Exchange Program (0.71 %)

NO	TITLE	NUMBER OF IDENTICAL WORDS (FRAGMENTS)
1.	Бизнес план проект производства кормовой тритикале 6/7/2021 West Kazakhstan Agrarian Technical University named after Zhangir Khan (Институт агротехнологии)	50 (4) 0.71 %

from the Internet (3.18 %)

NO	SOURCE URL	NUMBER OF IDENTICAL WORDS (FRAGMENTS)
1	https://knowledge.allbest.ru/agriculture/2c0a65635a2bd69b4d43a88421216d27_0.html	106 (7) 1.51 %
2	https://kazatu.edu.kz/assets//science/vn1603-agro10.pdf	91 (3) 1.30 %
3	https://official.satbayev.university/download/document/39747/2023_%D0%91%D0%90%D0%9A_%D0%A0%D0%B0%D0%BA%D0%B0%D0%B5%D0%B2%20%D0%90%D1%80%D0%BC%D0%B0%D0%BD.pdf	26 (4) 0.37 %

List of accepted fragments (no accepted fragments)