

Отан обнаружено 13 фрагментов, отсутствовали три фрагмента размером 550, 800 и 2500 п.о., но присутствовал фрагмент в 400 п.о., отсутствующий у сорта Отан. В спектре выравненной линии отсутствовали два фрагмента размером 550 и 2500 п.о.

ПЦР анализ геномной ДНК соматоклональных вариантов и их исходных форм с использованием молекулярно-генетических IRAP-маркеров позволил выявить различия соматоклональных линий как по сравнению с исходным сортом, так и между собой и отобрать наиболее полиморфные комбинации праймеров: PawS5+PawS16 и Nikita C0699+Sabrina C0945.

Выявление нами сохранения некоторых ценных признаков в нескольких поколениях и отбор стабильных линий с новыми ценными признаками позволяет сделать заключение о принципиальной возможности использования разработанной нами технологии длительной регенерации для улучшения существующих сортов.

Литература

- 1 Бишимбаева Н.К., Амирова А.К., Беглов Р.Б., Оразалы М., Рахимбаев И.Р. Расширение спектра генетической изменчивости пшеницы на основе клеточной технологии длительной регенерации растений *in vitro* // Доклады НАН РК. – 2005. – № 5. – С. 71-76.
- 2 Larkin P.J., Scowcroft W.R. Somaclonal variation – a novel source of variability from cell culture for plant improvement // Theor. And Appl. Genet.–1981. – Vol. 60. – №4. – P. 197-214.
- 3 Апробация сельскохозяйственных культур Казахстана / Под ред. Н.Л. Удольской, И.В. Соснина и А.И. Пастухова. – Алма-Ата: «Кайнар», 1974. – С. 4-12.
- 4 Плохинский Н.А. Биометрия. – 2-е изд. М.: Изд-во Московского университета, 1970. – 367 с.
- 5 Kalendar R., Grob T., Regina M., Suoniemi A., Schulman A. IRAP and REMAP: two new retrotransposon-based DNA fingerprinting techniques // Theor. App. Gen. – 1999. – № 98. – P. 704-711.
- 6 Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Дж. Молекулярная биология. – Москва: «Мир», 1984. – 479 с.

УДК 581.1.035

Б.Б. Анапияев^{1*}, К.М. Исакова¹, Е.Б. Бейсенбек¹, П.А. Момбаева¹, А.С. Жангазиев²,
А.Т. Сарбаев², И.М. Двейкат³, П.С. Баензигер³

¹Институт высоких технологии и устойчивого развития КазНТУ им. К.И. Сатпаева, г.Алматы, Казахстан;

²КазИИ земледелия и растениеводства; ³Университет штата Небраска, США;

*e-mail: bak_anapiyayev@mail.ru

Использование гаплоидной биотехнологии в создании нового высокопродуктивного сорта *Triticum aestivum* L.

В работе приведены результаты многолетних исследований по культуре изолированных микроспор пшеницы *in vitro*, результаты исследования путей развития микроспор *in vitro* и процессы морфогенеза и регенерации гаплоидных растений. Приведены практические результаты использования гаплоидной биотехнологии в экологической селекции *Triticum aestivum* L. на устойчивость к биотическим и абиотическим стрессовым факторам окружающей среды. В работе также приведены результаты использования молекулярных маркеров на ранних этапах селекционного процесса.

Ключевые слова: гаплоидная биотехнология, культура микроспор *in vitro*, *Triticum aestivum* L.

Б.Б. Анапияев, К.М. Исакова, Е.Б. Бейсенбек, П.А. Момбаева, А.С. Жангазиев,
А.Т. Сарбаев, И.М. Двейкат, П.С. Баензигер

Гаплоидтық биотехнологияны *Triticum aestivum* L. жоғары өнімді жаңа сортын алуда қолдану

Күздік бидай бірінші ұрпақтары гаплоидты биотехнологиясын қолдана отырып, АДГ-линиялары алынды. Олардың өнімділігі және сапасы жағынан жоғары. Өзінің үлгілерінен артық өнім береді. Дигаплоидтық линиялардан бидайдың «Нуреке» деген жаңа сорты алынып Алматы және Жамбыл облыстарында аудандастырылды.

Түйін сөздер: гаплоидтық биотехнология, *in vitro* микроспора культурасы, *Triticum aestivum* L.

B.B. Anapiyayev, K.M. Iskakova, E.B. Beisenbek, P.A. Mombayeva, A.S. Jangaziev,
A.T. Sarbayev, I.M. Dweikat, P.S. Baenziger

Use of haploid biotechnology for production of new highly productive cultivars of *Triticum aestivum* L.

By using of haploid biotechnologies *in vitro* are received valuable DHL-lines of a winter wheat which have surpassed on productivity and on quality of grain of parental grades or the standard. From DHL lines has been selected

the new highly productive cultivar of wheat under the name "Nureka" which has been zoned in Almaty and Zhambyl region is created.

Keywords: haploid biotechnology, culture of microspores in vitro, *Triticum aestivum* L.

Регуляция процессов морфогенеза и регенерации растений является одним из фундаментальных вопросов физиологии, биохимии, эмбриологии, генетики и селекции растений. В настоящее время учеными интенсивно изучаются гены влияющие на процесс деления клеток и разрабатываются различные методы для ускорения селекционного процесса. Поэтому очень актуальным является изучение процессов морфогенеза и регенерации растений в культуре микроспор in vitro зерновых злаков. В ведущих лабораториях по биотехнологии интенсивно изучаются процессы развития микроспор пшеницы in vitro, процессы эмбриогенеза, органогенеза и проблемы регуляции процессов морфогенеза и регенерации растений. Гаплоиды являются уникальным объектом для клеточной селекции и генетической инженерии. Экономическая эффективность использования гаплоидов заключается в возможности ускоренного создания генетически стабильных гомозиготных линий из перспективных гибридов и ценных генетических материалов в том числе и ценных мутантов. Обычно для генетической стабилизации перспективных гибридов и ценных форм при использовании традиционных методов селекции требуется 6-8 лет. Использование гаплоидной биотехнологии позволяет создать генетически стабилизированные, гомозиготные константные дигаплоидные линии всего за 1-2 года. Также очень важным является то, что у полученных дигаплоидных линий проявляются и рецессивные гены, многие из которых могут нести ценные признаки. Обычно, при использовании традиционных методов селекции, доминантные и рецессивные гены расщепляются по закону Менделя (3:1) и поэтому не проявляются. При использовании гаплоидной биотехнологии для генетической стабилизации доминантные и рецессивные гены распределяются и закрепляются в пропорции 1:1. Это является очень важным преимуществом гаплоидной биотехнологии поскольку позволяет экспрессироваться и закрепляться в растениях-регенерантах рецессивным генам наравне с доминантными генами. Однако гаплоидная биотехнология все еще не находит широкого применения. В работе приведены результаты изучения путей развития микроспор *Triticum aestivum* L в культуре in vitro и процессы морфогенеза и регенерации растений. Также приведены результаты использования гаплоидной биотехнологии в практической селекции *Triticum aestivum* L. на устойчивость к биотическим и абиотическим стрессовым факторам окружающей среды.

Материалы и методы

Материалом для исследования служили сорта, изогенные линии и гибриды мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.): изогенная форма озимой пшеницы Грекум-476, андроклинные дигаплоидные (АДГ) - линии 1027, 1042, 1054, 1057, созданные ранее с применением культуры изолированных пыльников, а также гибриды, несущие RL 1 и RL 2 - гены и не имеющие их, сорта мягкой пшеницы Казахстанская-4, Саратовская-29, Стекловидная-24, Омская-9, Эритроспермум-350, зарубежные сорта пшеницы (СИММТ, ICARDA, Турция) Qafzah-32, Girvill-9, Girvill-7, Qimma-3, Qimma-11 с адаптивными признаками, способствующими засухо-устойчивости. Для селекции пшеницы на устойчивость к биотическим стрессовым факторам использовали гибриды пшеницы несущие ген устойчивости к бурой ржавчине *Lr 24*. Донорные растения выращивали в полевых условиях на экспериментальных участках до фазы трубкования. Срезанные колосья содержащие микроспоры на одноядерной стадии подвергали холодовой предобработке при + 4 С в течение 7 дней. Для культуры пыльников и микроспор in vitro использовали базовые питательные среды Blaydes (0,5 мг/л 2,4 - Д) и N6 (1 мг/л 2,4 - Д) с нашими модификациями (Анапияев, 2001). Культивирование пыльников и микроспор in vitro осуществляли в темноте при 27 С. После 20-30 дней культивирования наблюдали образование эмбриоидов и каллусов. Для получения растений-регенерантов эмбриоиды и морфогенные каллусы пересаживали на среды для регенерации Мурасиге-Скуга с 0,5 мг/л ИУК. Цитоэмбриологические исследования андроклинных структур и микроспор осуществляли по методике описанной Батыгиной Т.Б. (2007). Статистический анализ полученных результатов проводили по общепринятой методике.

Результаты и их обсуждение

Нами были осуществлены фундаментальные исследования по регуляции процессов морфогенеза и регенерации растений в культуре микроспор *Triticum aestivum* L. in vitro. В результате

цитозембриологических исследований были определены пути развития микроспор пшеницы *in vitro* приводящие к быстрому формированию многоклеточных комплексов (МК) и эмбриоидов, обозначенный нами как путь Е. В культуре микроспор *Triticum aestivum* L. *in vitro* регенерация растений осуществляется в результате прямого эмбриоидогенеза, вторичного эмбриоидогенеза через каллусогенез. Также из морфогенных каллусов пшеницы полученных в культуре микроспор *in vitro* регенерация растений может осуществляться в результате органогенеза – геммогенез и гемморизогенез. Также были оптимизированы составы питательных сред и условия культивирования для создания дигаплоидных линий из перспективных гибридов пшеницы несущие гены устойчивости к биотическим и абиотическим стрессовым факторам окружающей среды. С использованием молекулярных маркеров на ранних стадиях селекционного процесса были отобраны АДГ линий пшеницы несущие гены устойчивости к ржавчинным болезням. Созданные в результате использования дигаплоидные линии были переданы на испытания в селекционные центры Казахстана и зарубежных стран по линии СУММИТ.

В результате испытания АДГ - линии в СП-1 из 50 по продуктивности и по высоте растений выделились некоторые АДГ - линии: АДГ-1050, АДГ-1048, АДГ-1051, АДГ-1-38 и др. В дальнейшем их изучении в СП-2 и в контрольном питомнике, особенно выделились высокой продуктивностью и кустистостью: АДГ-1050, АДГ-1048, АДГ-1051. По данным КП, среди АДГ - линии для дальнейшего исследования выделена две формы: АДГ-1050 и АДГ-1048, сочетающиеся повышенной продуктивностью и низкостебельностью, а также слабой восприимчивостью к желтой ржавчине. АДГ-1050 отличается высокой урожайностью и испытывался в конкурсном испытании. Разновидность-Эритроспермум. Относится к среднеазиатской группе. Колос цилиндрической формы, средней длины (8-9см), средней плотности. Масса 1000 зерен 43 г. (39-49). Сорт среднеспелый, вегетационный период 260-278 дней. Зимостойкость хорошая на уровне стандарта Жетысу. Высота растений 87-110 см. Сорт слабо восприимчив к ржавчине и твердой головне. АДГ-1050 линия под названием «Нуреке» проходил в конкурсном испытании по хозяйственно ценными признаками. Результаты испытаний в КСИ представлено в таблице 1.

Таблица 1 – Хозяйственно-биологическая характеристика сорта Нуреке в сравнении с сортом-стандартом Жетысу (КазНИИЗиР, КСИ)

Новый сорт, стандарт	Урожайность, ц/га				Вегетационный период, день	Высота растений, см.	Продуктивная кустистость, шт.	Масса 1000 зерен, г	Число зерен с главного колоса	Порожаемость болезнями, бал/ %
	1-ый год	2-ой год	3-ий год	Средняя						
Нуреке	85,2 ±1,0	66,0±0,6	45,0±0,7	65,4±0,5	270	99	3,4±0,1	46	41	3/40
Жетысу-ст.	75,6±0,8	57,0±1,0	40,0±1,0	57,5±0,9	272	97	3,2±0,2	43	41	4/60

Сорт высокоурожайный, за годы конкурсного испытания в орошаемых землях предгорной зоны Алматинской области урожайность зерна Нуреке в среднем за три года составил 65,4 ц/га (с колебаниям от 45 до 85 ц/га) или была на 7,9 ц/га выше, чем у стандарта Жетысу. В новом сорте удачно сочетается хозяйственно-ценные признаки родительских форм - высокая продуктивность и качества зерна, а также засухоустойчивость. Одно из основных положительных достоинств - высокое качество зерна. По данным лаборатории технологической оценки качества зерна КазНИИЗиР новый сорт Нуреке стабильно формирует высококачественные зерна (таблица 2).

Так как и для создания нового сорта были привлечены два выдающихся по качеству сорта - яровой пшеницы Саратовская-29 и Грекум-497. Это обусловило высокие качества зерна, по которым он превосходил не только Жетысу (на 172 мм. куб), и Безостую 1 (на 80 мм куб). Содержание белка в зерне сорта Нуреке составляет 15-16% сырой клейковины -31%, физические качества клейковины (упругость, растяжимость, сила муки) очень хорошие, благодаря чему по хлебопекарному свойству сорт относится к сильной пшенице. Интересной особенностью сорта Нуреке является способность формировать высокий урожай, как при яровом, так и при осенне-зимнем посеве в зоне

районирования, т.е. сорт факультативный. Сорт при осеннем посеве хорошо переносит зимы. В условиях жесткой богары на яровом посеве на Кербулакском сортоучастке урожайность зерна за три года составила 13,0 ц/га, что на 1,2 ц/га больше, чем у сорта стандарта Казахстанская-4, предшественнику – озимая пшеница. Высокая урожайность этого сорта подтверждено на озимом посеве, по данным Государственного испытания в Алматинской области. Так, на Илийском неорошаемом сортоучастке по предшественнику многолетние травы, средняя урожайность за три года испытания составила 32,0 ц/га, что на 2,8 ц/га больше чем у стандарт – сорта Стекловидная-24. На Илийском сортоучастке по зерновому предшественнику средняя урожайность нового сорта составила 29,6 ц/га, что на 2,5 ц/га больше, чем у стандарта Стекловидная-24. Самый высокий урожай получен на Жамбылском сортоучастке - на орошаемом сортоучастке урожайность сорта Нуреке составила 45,0 ц/га, что на 11,0 ц/га больше, чем у стандарта Южная-12, по предшественнику люцерны. Новый сорт двуручка -Нуреке допущен к использованию в условиях производства как факультативный сорт на влагообеспеченных богарных и необеспеченных поливных землях предгорной и среднегорной зоны Алматинской области. Ускоренное внедрение нового сорта Нуреке в производство способствует увеличению урожайности и валового сбора зерна этой культуры.

Таблица 2 – Технологическая характеристика сорта Нуреке (КСИ среднее за три года)

Сорт и стандарт	Натура зерна, г/л	Стекловидность %	Содержание клейковины, %	Содержание белка %	Сила муки е.а.	Валором оценка е.в.	Объем хлеба мм. куб.	Общая оценка хлеба, бал
Нуреке	775	40,7±0,9	31,2±0,6	15,5±0,7	415	53	975	3,8±0,1
Жетысу-ст.	756	41,0±1,0	30,4±0,9	14,2±0,3	222	46	803	3,2±0,3

В результате проведенных исследований по использованию гаплоидной биотехнологии на основе культуры изолированных микроспор *in vitro* в экологической селекции пшеницы *Triticum aestivum* L. на устойчивость нами были получены эмбриониды, морфогенные каллусы и растения-регенеранты, из которых были созданы дигаплоидные линии.

Таким образом, было показано, что гаплоидная биотехнология является эффективным методом для ускорения селекционного процесса и быстрой генетической стабилизации перспективных гибридов. Для создания нового сорта традиционными методами требуется 12-15 лет. При использовании гаплоидной биотехнологии всего за 1-2 года можно создавать из перспективных гибридов генетически стабилизированные дигаплоидные линии, которые могут быть основой создания нового сорта. Используя гаплоидную биотехнологию на основе культуры изолированных микроспор *in vitro*, нам впервые в Казахстане удалось создать новый высокопродуктивный сорт пшеницы, который районирован в Алматинской и Жамбылской области Южного Казахстана.

Литература

- 1 Анапияев Б.Б. Культура микроспор и гаплоидная биотехнология пшеницы. – Алматы, 2001. – 220 с.
- 2 Международный классификатор – СЭВ рода *Triticum* L. – Л., 1980. – 81 с.
- 3 Рахимбаев И.Р. Биотехнология в Казахстане // Вестник региональной сети по внедрению сортов и семеноводства. – 2004. – №1-2 (8-9). – С.75-77.

УДК 579.864

С.С. Ануарбекова*, Э. Нагызбеккызы, Г.Н. Ахметова, К.Х. Алмагамбетов
Республиканская коллекция микроорганизмов, г. Астана, Казахстан
*e-mail: rkm_zavlab@list.ru

Изучение биологической совместимости штаммов бактерий рода *Lactobacillus*, перспективных в качестве пробиотиков

В данной статье представлены результаты изучения биологической совместимости лактобацилл, а именно выявлен характер их межбактериальных взаимоотношений на основе их совместного культивирования на плотной питательной среде. Выделены штаммы, перспективные в отношении совместного культивирования. Большинство культур лактобацилл проявляют совместимость. Наиболее активные штаммы *L. pentosus* 7 LB, *L. rhamnosus* 10 LB, *L. pentosus* 12 LB, *L. brevis* 3 LB, *L. casei* 11 Г В-РКМ 0004.

Ключевые слова: штамм, *Lactobacillus* антагонизм, межбактериальные взаимоотношения.