

проявляется как слабый антагонизм: данная культура в зоне совместного культивирования «выходит наверх», подавляя рост второй культуры, независимо от последовательности нанесения. Отношения 5:9 расцениваются как сильный антагонизм с хорошо выраженной зоной задержки роста одной культуры по периферии пятна другой испытываемой культуры.

Культуры лактобацилл проявили совместимость в разной степени проявления. Большинство культур лактобацилл проявляют совместимость. Наиболее активны штаммы *L. brevis* 3 LB, *L. pentosus* 7 LB, *L. rhamnosus* 10 LB, *L. pentosus* 12 LB, *L. casei* 11 Г В-РКМ 0004, которые совместимы с 12-14 штаммами, а штамм *L. pentosus* 7 LB с 15 штаммами. Наименее активные штаммы *L. paracasei* 1 LB, *L. pentosus* 8 LB, *L. fermentum* 9 LB, *L. pentosus* 14 LB, которые совместимы с 4-7 штаммами из 22 исследуемых объектов. Они являются слабыми антагонистами, так как в ходе опыта их развитие подавлялось 12-15 штаммами. Использование данных лактобактерий в консорциуме нецелесообразно в силу того, что низкая устойчивость к метаболитам родственных бактерий приведет к скорой гибели этих микроорганизмов.

Сильные антагонистические проявления наблюдаются у *L. plantarum* 8 RA-3 В-РКМ 0015 с *L. paracasei* 2 LB, *L. fermentum* 9 LB с *L. plantarum* 5 LB и *L. brevis* 6 LB. Высокий уровень антагонизма этих бактерий по отношению к представителям этого же рода ограничивает их применение при реализации принципа совместного культивирования.

Таким образом, данные о межвидовых взаимоотношениях полученных нами, позволили выделить группу бактерий рода *Lactobacillus*, наиболее перспективных в отношении совместного культивирования. Они представлены видами *brevis*, *pentosus*, *rhamnosus*, *pentosus*, *casei*. Полученные результаты учитывались при создании консорциумов с пробиотическими свойствами. Нами подобраны 9 вариантов консорциума, которые в данный момент отрабатываются с учетом стабильности показателя ЖСП, антагонизма к патогенным и условно-патогенным микроорганизмам и адгезии.

Литература

- 1 Квасников Е.И., Нестеренко О.Л. Молочнокислые бактерии и пути их использования. - М.:Наука, 1975. - 389 с.
- 2 Ускова М.А. Изучение свойств пробиотических молочнокислых бактерий как биологически активных компонентов пищи: Автореф. дис. канд. биол. наук. – Москва, 2010. - 28 с.
- 3 Тюрин М.В., Шендеров Б.А., Рахимова Н.Г. и др. К механизму антагонистической активности лактобацилл // Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. – 1989. - № 2. – С. 3-8.
- 4 Толеген Ж., Ратникова И.А., Гаврилова Н.Н. Исследование природы антибиотических веществ, продуцируемых *Lactobacillus cellobiosus* // Биотехнология. Теория и практика. - 2001. - № 1-2. - С. 32-35.
- 5 Kleerebezem M. Quorum sensing control of lantibiotic production; nisin and subtilin autoregulate their own biosynthesis // Peptides. – 2004. – V. 25, № 9. – P. 1405-1414.
- 6 Лихачева А.Ю. Биологические свойства лактобацилл и тест-системы для их идентификации: Дисс. ... канд. мед. наук. - Н.Новгород, 1992. – 210 с.
- 7 Глушанова Н.А. Экспериментальное обоснование новых подходов к коррекции микробиоценоза кишечника: Автореф. дисс. ... д. м. н. – Москва, 2005. – 24 с.
- 8 Соловьева И.В., Точилина А.Г., Новикова Н.А. и др. Изучение биологических свойств новых штаммов рода *Lactobacillus* // Вестн. Нижегородского университета. - 2010. - № 2 (2). – С. 462-468.

УДК 58.085

¹Д.К. Асанова*, ²С.А. Джокебаева, ²С.Б. Оразова

¹Казахский национальный аграрный университет, г. Алматы, Казахстан

²Казахский национальный университет имени аль-Фараби, г.Алматы, Казахстан

*e-mail: daniya.asanova@gmail.com

Каллусогенез в культуре некоторых кормовых трав

В последние десятилетия наблюдается устойчивая тенденция к деградации пастбищных земель и угодий. К наиболее высокопродуктивным кормовым растениям относятся люцерна (*Medicago sativa* L.) и клевер луговой (*Trifolium pretense* L.). Использование люцерны и клевера в севооборотах препятствует засолению и предотвращает деградацию почвы. Однако условия дефицита влаги в весенне-летний период и высокая температура окружающей среды могут существенно снизить прорастание семян и выживаемость молодых

растений. Повышение устойчивости и продуктивности многолетних кормовых трав может быть достигнуто с помощью методов культуры клеток и клеточной инженерии. Целью данной работы являлось получение каллусов из семян и проростков клевера белого и люцерны. Изучено влияние условий культивирования на средах Мурасиге-Скуга и Гамборга (B5) на каллусогенез при культивировании различных эксплантов. Получены каллусные культуры пяти генотипов люцерны и клевера ползучего (*Trifolium repens* L.).

Ключевые слова: люцерна, клевер, каллусогенез.

D.K. Asanova, S.A. Dzhokebaeva, S.B. Orazova

Callus formation in the culture of some forage grasses

In recent decades there has been a steady degradation of pastures and farmland. The most high-yielding food plants include alfalfa (*Medicago sativa* L.) and red clover (*Trifolium pretense* L.). The use of alfalfa and clover in crop rotations prevent salinization and the degradation of the soil. However, the lack of moisture conditions in spring and summer and high ambient temperature can significantly reduce seed germination and survival of young plants. Increased productivity and long-term stability of forage grass can be achieved using the methods of cell culture techniques and cell engineering. The aim of this work was to obtain callus from seeds and seedlings of white clover and alfalfa. It was study the influence of culture conditions on Murashige-Skoog medium and Gamborg (B5) on callusogenesis by culturing different explants. We obtained callus cultures of the five genotypes of alfalfa and white clover (*Trifolium repens* L.).

Keywords: alfalfa, clover, callusogenesis.

Д.К. Асанова, С.А. Жөкебаева, С.Б. Оразова

Малазықтық шөптердің кейбір түрлерінің культурасындағы каллусогенезі

Соңғы он жыл ішінде жайылым жерлер мен өрістік алқаптардың деградацияға ұшырауының тұрақты үрдісі байқалады. Жоғары өнімді малазықтық өсімдіктерге жоңышқа (*Medicago sativa* L.) және шалғын беде (*Trifolium pretense* L.) өсімдіктерін жатқызуымызға болады. Жоңышқа және беде өсімдіктерін егіс айналымында қолдану топырақ жабынының тұздануы мен деградацияға ұшырауына тосқауыл болады. Алайда көктем-жаз мезгілдерінде ылғалдың жетіспеуі және қоршаған ортаның жоғары температурасы сияқты жағдайлар тұқымның өнуі және жас өсімдіктердің тірі қалу көрсеткіштерін айтарлықтай төмендетуі мүмкін. Көп жылдық малазықтық шөптердің төзімділігі мен өнімділігін арттыру мәселелері клетка культурасы және клеткалық инженерия әдістерін қолданған жағдайда шешілу мүмкін. Бұл жұмыстың мақсаты ақ беде және жоңышқа өсімдіктері тұқымдарынан және өскіндерінен каллус алу болды. Мурасиге-Скуг және Гамборгтың (B5) орталарында культивирлеу жағдайларының жекелеген экспланттардың каллусогенезіне әсері зерттелді. Жоңышқа өсімдігінің 5 генотипі мен жатаған беде (*Trifolium repens* L.) өсімдігі үшін каллус культурасы алынды.

Түйін сөздер: жоңышқа, беде, каллусогенез.

Более 180 млн. гектар земель Республики Казахстан заняты пастбищами. В последние десятилетия наблюдается устойчивая тенденция к деградации пастбищных земель и угодий. Пастбища деградируют не только в результате нерегулируемого выпаса, сокращения площадей обводненных пастбищ, изъятия под промышленные объекты, полигоны и населенные пункты, но и вследствие неадекватных методов ведения сельского хозяйства.

В создании прочной кормовой базы для животноводства большая роль принадлежит многолетним кормовым травам. Многолетние травы эффективно защищают почву от эрозии, в том числе и в ранне-весенний и поздне-осенний периоды. Оставляя много органики, они окультуривают малоплодородные почвы [1-3].

Многолетние культуры характеризуются рядом преимуществ. Имея более продолжительный вегетационный период, они дают корм с ранней весны до поздней осени. Эти растения максимально используют энергию солнца и формируют большую биомассу, оставляя до 10 т/га органики в почве, в том числе 120-150 кг/га азота [1]. Особенно ценными в этом отношении являются многолетние бобовые травы, способные вступать в симбиотические взаимоотношения с азотфиксирующими бактериями рода *Rhizobium* [4].

К наиболее высокопродуктивным кормовым растениям относятся люцерна (*Medicago sativa* L.) и клевер луговой (*Trifolium pretense* L.) [5]. Поэтому они интенсивно используются в качестве лугопастбищных растений. Имеются сведения, что в мире посеvy люцерны занимают более 32 миллионов гектаров [6,7]. Использование люцерны и клевера в севооборотах препятствует засолению и предотвращает деградацию почвы [8-10].

Наиболее высокая продуктивность сельскохозяйственных культур достигается при совокупном действии оптимальных условий для их роста и развития, многие из которых не регулируются [11].

Условия дефицита влаги в весенне-летний период и высокая температура окружающей среды могут существенно снизить прорастание семян и выживаемость молодых растений, хотя в более взрослом возрасте эти растения, особенно люцерна, весьма устойчивы к засухе, растут на разных типах почв, при различных значениях pH [12]. Многие исследователи проводят исследования по трансформации этих ценных кормовых растений с целью повышения их устойчивости и продуктивности [13,14]. Помимо методов молекулярной биологии для улучшения качеств этих растений применяются и методы культуры клеток и клеточной инженерии [15,16].

Целью данной работы являлось получение каллусов из семян и проростков клевера белого (*Trifolium repens* L.) и люцерны (*Medicago sativa* L.)

Материалы и методы

Семена люцерны (*Medicago sativa* L.) сортов разнообразней: Семиреченская местная, Траутфеттера, Тяньшанская, Синяя, Желтая и Клевера ползучего (*Trifolium repens* L.) сорта Нанук для поверхностной стерилизации обрабатывали в 10% ном растворе перекиси водорода в течение 5 минут, трижды промывали стерильной водой и помещали в стерильные чашки Петри на влажные фильтры для прорастания. Семидневные проростки извлекали из чашек Петри и помещали в 0,1%-ный раствор сулемы на 15 минут. Затем троекратно отмывали от стерилизующего раствора по 5 минут. Для каллусообразования вычленили экспланты из разных частей проростков: семядольные листья и отрезки гипокотила. Для использования в качестве эксплантов семян проводили предварительную обработку 80%-ной серной кислотой в течение 5 минут с трехкратной отмывкой в проточной воде, замачивание на ночь в стерильной воде. Кроме обработки семян в 0,1%-ном растворе сулемы в день посадки применяли дополнительную стерилизацию в 90%-ном этаноле в течение 2 минут. После каждого приема стерилизации проводили трехкратную отмывку в стерильной воде по 5 минут. Использованы агаризованные питательные среды МС и Гамборга (B5). Состав питательных сред приведен в соответствии со стандартами [17].

Среда Мурасиге и Скуга (мг/л): NH_4NO_3 –1650, KNO_3 –1900, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ – 440, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 370, KH_2PO_4 – 170, H_3BO_3 – 6,2, $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ – 22,3, $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ – 0,025, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ – 0,025, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 8,6, $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ – 0,25, KI – 0,83, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 27,8, $\text{Na}_2\text{ЭДТА} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ – 37,3, Тиамин (B_1)– 0,1, Пиридоксин (B_6)–0,5, Никотиновая кислота (PP) – 0,5, Мезоинозит – 100, Глицин – 2,0, Сахароза – 30000.

Среда Гамборга и Эвелеге (B5) (мг/л): NaH_2PO_4 – 150, KNO_3 – 2500,

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ – 134, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 250, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ – 150, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 28,0, H_3BO_3 – 3,0, $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ – 10,0, $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ – 0,025, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ – 0,025, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 2,0, $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ – 0,25, KI – 0,75, Тиамин (B_1)– 10,0, Пиридоксин (B_6) – 1,0, Никотиновая кислота (PP) – 1,0, Мезоинозит – 100, Сахароза – 20000.

В качестве индуцирующего каллусо-образование фактора к питательной среде добавляли ИУК в концентрациях от 2,0 до 6,0 мг/л. Пробирки с высаженными эксплантами помещали в термостат с температурой 25°C.

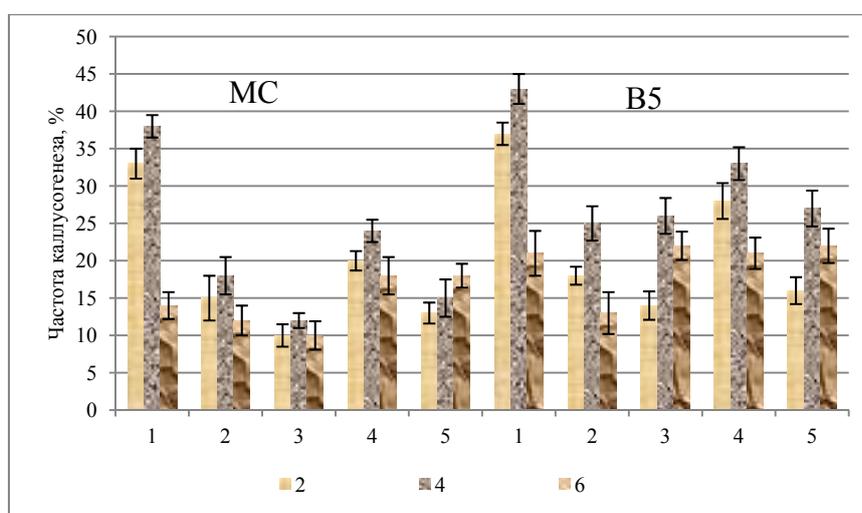
Результаты и их обсуждение

Основным фактором в индукции каллусогенеза является взаимодействие генотип-среда, существенный моментом в котором считается наличие генетической компоненты в реакции растения, его клеток на повреждение и во многих случаях - на экзогенные регуляторы роста. Считают, что баланс эндогенных фитогормонов является существенным фактором, влияющим на первичный каллусогенез [18]. Отмечается, что наименее отзывчивыми к индукции каллусогенеза являются ткани тех растений, которым не свойственно каллусообразование в природе. Если незрелые и зрелые зародыши пшеницы и некоторых других злаков относительно чувствительны к индукции каллусогенеза, то выделить зародыши из мелких семян клевера и люцерны не представлялось возможным. Плотная кожура, окружающая семя, не всегда удалялась даже при обработке серной кислотой и проведении всех стадий стерилизации. После обработки вышеуказанными стерилизующими агентами лишённые семенной кожуры экспланты помещали на питательную среду. Через 2 дня после посадки наблюдали набухание эксплантов белого цвета. Однако через 2 недели при осмотре пробирок с культурами было обнаружено, что экспланты существенно уменьшились в размере и окружены семенной кожурой темного цвета. При осмотре под бинокулярной лупой наблюдали растрескивание семенной кожуры и начало процессов прорастания с появлением стебля

и семядолей, которые при дальнейшем культивировании сильно увеличивались в размере. Через 4-6 недель наблюдали появление мелких каллусов. В наших опытах каллусообразование из семян у люцерны и клевера проходило с довольно низкой интенсивностью. Дальнейший рост каллусов отличался весьма медленным течением. Жесткую детерминированность ростовых процессов семян клевера на прорастание, по-видимому, можно снять подбором методов скарификации и оптимальной питательной среды. Каллусообразование из семян у белого клевера успешно проходило на среде SBSM1 и SBSM12 [19].

Установлено, что для каллусогенеза в отрезках гипокотилия всех генотипов люцерны и клевера определенное значение имеет место отбора эксплантов. Частота образования каллусов из верхней части гипокотилей была выше, чем при использовании семядолей и нижних частей гипокотилей. Наилучшие результаты получены под влиянием 4 мг/л ИУК (рисунок 1).

Определение влияния условий культивирования на каллусогенез у клевера показало преимущество питательных сред, базовой основой которых является среда Гамборга.



1 – Люцерна семиреченская, 2 – Л.Траутфеттера, 3 – Л.тяньшанская, 4 – Л.синяя, 5 – Л.желтая

Рисунок 1 – Влияние культивирования на средах MC и B5 с различными концентрациями ИУК на частоту каллусогенеза в культуре гипокотилей люцерны

Как показано на рисунке 1, наиболее интенсивно процесс каллусообразования протекал на среде B5. Довольно высокое значение частоты каллусообразования отмечено у люцерны семиреченской.

У клевера высокий процент каллусогенеза определен в вариантах с использованием в качестве эксплантов семядольных листьев и добавлением в питательную среду 2 мг/л ИУК, при этом каллусы с большой частотой образовывались у основания семядольных узлов.

По морфологическим признакам каллусы, полученные из эксплантов люцерны, были в основном светлыми и рыхлыми, а у клевера - преимущественно желтого цвета и имели плотную консистенцию.

Таким образом, получены каллусы люцерны пяти генотипов и клевера белого сорта Нанук, которые будут в дальнейшем использоваться в экспериментах по модификации генотипов методами химического мутагенеза, клеточной инженерии и селекции. Однако для получения каллусов с высокими ростовыми показателями необходим дополнительный подбор методов скарификации и оптимальных питательных сред.

Литература

- 1 Стрижова Ф.М., Царева Л.Е., Титов Ю.Н. Растениеводство. - Барнаул: Издательство АГАУ, 2008. - 219 с.
- 2 Полюдина Р.И., Рожанская О.А., Потапов Д.А. Селекция кормовых культур в Сибири // Вестник ВОГиС. – 2005. - Т. 9. № 3. - С.381-389.
- 3 Zhang W., Shehui F., Shan H., et al. Inflorescence Mutant Effect on Seed Yield Components in Alfalfa (*Medicago sativa* L.) // Journal of Animal and Veterinary Advances. - 2013. - Vol. 12. - P. 377-381.
- 4 Ghorttapeh A. H., Taherifard E., Gerami F. Energy Efficiency in Alfalfa (*Medicago sativa* L.) Production System in North West of Iran // Annals of Biological Research. - 2012. - Vol. 3.- № 5. - P. 2469-2473.

- 5 González F., Moreno V., Paniagua M., Paredes J., Prieto P.M. Prospecting and evaluation in degraded areas, of annual forage legumes, fodder shrubs and perennial grasses typical from Extremadura /In : Etienne M. (ed.). Dynamics and sustainability of Mediterranean pastoral systems. - Zaragoza : CIHEAM, 1999. - P. 283-285.
- 5 Michaud R., Lehman W.F., Rumbaugh M.D. World distribution and historical development. Alfalfa and alfalfa improvement // Agronomy monograph. - 1988. - № 29. - P. 25-91.
- 6 Benabderrahim M. A., Mansour H., Ali F. Diversity of Lucerne (*Medicago sativa* L.) populations in South Tunisia // Pak J. Bot. - 2009. -Vol. 41. - P. 2851-2861.
- 7 Doole G.J., Pannell D.J. Role and value of including lucerne (*Medicago sativa* L.) phases in crop rotations for the management of herbicide-resistant *Lolium rigidum* in Western Australia // Agr. and Res. Econ. Work. Paper. - 2007. -P. 3-24.
- 8 Pannell D. J., M. A. Ewing. Managing secondary salinity management: 441 options and challenges // Agricultural Water Management. - 2006. - № 80. - P. 41-56.
- 9 Ward P. R., Micin S. F., Dunin F. X. Using soil, climate, and agronomy to predict soil water use by lucerne compared with soil water use by annual crops or pastures // Australian Journal of Agricultural Research. - 2006. - №57. - P. 347-354.
- 10 Царева Л.Е. Технология производства продукции растениеводства в условиях Алтайского края: учебное пособие. - Барнаул: Изд-во АГАУ, 2007. - 115 с.
- 11 Lang J., Vejražka K. Yields and quality of forage legumes under imbalanced year precipitation conditions on South Moravia // Acta universitatis agriculturae et silviculturae mendelianae brunensis. - 2012. - Vol. 28, №60. - P.217-224.
- 12 Samac D.A., Austin-Phillips S. Alfalfa (*Medicago sativa* L.) // Methods in Molecular Biology. Agrobacterium Protocols. - 2006. - Vol. 343. - P. 301-312.
- 13 Seres A. The enrichment of the genetic map of alfalfa (*Medicago sativa*) and its comparison with other Fabaceae and Arabidopsis thaliana genetic maps // Acta Biologica Szegediensis. - 2003. - Vol. 47. - №1-4. - P. 83.
- 14 Monteiro M., Appezzato-da-Glória B., Valarini M. J. et al. Plant regeneration from protoplasts of Alfalfa (*Medicago sativa*) via somatic embryogenesis // Scientia Agricola. - 2003. - Vol. 60. N 4. - P. 683-689.
- 15 Carrillo J. C., Ojeda V. A., Campos-de Quiroz H. A., Ortega F. M. Optimization of a protocol for direct organogenesis of red clover (*Trifolium pratense* L.) meristems for breeding purposes // Biol. Res. - 2004. - Vol.37. - P. 45-51.
- 16 Калинин Ф. Л., Сарицкая В. В., Полищук В. Е. Методы культуры тканей в физиологии и биохимии растений. - Киев: Наук. Думка, 1980. - 488 с.
- 17 18. Кунах В.А. Геномная изменчивость соматических клеток растений. Каллусообразование in vitro // Биополимеры и клетка. - 1997. - Т. 13. № 5. - С. 362-367.
- 18 Gresshoff P.M. In vitro culture of white clover: callus, suspension, protoplast culture and plant regeneration // Botanical gazette. - 1980. - Vol.141. № 2. - P. 157-164.

ӘОК: 581.1.035

С.Ш. Асрандина*, Ш. Кенжебаева, А.А. Ташимбаева
 Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Қазақстан, Алматы қ.
 *e-mail: asaltanat@yandex.ru

Стевия тұқымдарының өніп-өсу белсенділігіне биологиялық ырықты заттардың тигізетін әсері

Мақалада стевиядан алынған экстракттардың стевия тұқымдарының in vitro жағдайында өніп-өсу белсенділігіне тигізетін әсері қарастырылған. Стевия тұқымдарының өніп-өсу қарқыны экстракт табиғаты мен концентрацияларынан және өңдеу уақытынан тәуелді болатыны анықталды. Тұқымдарды экстракттармен қысқа уақыт өңдеуге қарағанда ұзақ уақыт (60 минут) өңдеу оңтайлы болатындығы анықталды. Зерттеуге алынған экстракттардың ішінде таза стевиозид пен гликозидтердің жиынтығына қарағанда, құрғақ жапырақтан су және спирт негізінде жасалған экстракттар тұқымдардың өніп-өсу қарқынын едәуір арттыратыны анықталды.

Түйін сөздері: стевия, тұқым, өну, өсу, даму, стевия экстракттары.

С.Ш. Асрандина, Ш.Кенжебаева, А.А. Ташимбаева

Влияние биологически активных веществ на проростание, рост и развития семян стевии

В статье приведены результаты по изучению влияния биологически активных веществ на проростание, рост и развития семян стевии в условиях in vitro. Выявлено, что эти процессы зависят от природы и концентрации экстрактов полученных из стевии а также от времени экспозиции. Процент проростания семян