

бактериоциногенной активностью были проверены на антагонизм к *Listeria monocytogenes* B-0600 КДК-1 на базе РГП «НВЦР» МСХ РК (таблица 1).

Проверка на антагонизм осуществлялась как самих культур МКБ методом агаровых блоков [3], так и супернатантов методом Yang et al [4].

Большинство из исследуемых штаммов МКБ проявили антагонистическую активность по отношению к *Listeria monocytogenes* B 0600, в эксперименте с применением метода агаровых блоков. Исключение составили штаммы *L.acidophilus* 23, *Lb.fermentum* 58, *P.acidilactici* Л-2.

Но при проверке активности супернатантов, лишь у 2 штаммов была выявлена бактериоциногенная активность, при которой регистрировалась зона задержки роста *Listeria monocytogenes* B 0600 вокруг всех 3 лунок с супернатантами. Это штаммы: *P.acidilactici* 25 (выделенный из сметаны фирмы «Родина» г.Астана) и *Lb.pentosus* 16ал (сметана домашняя г.Астана) (рисунок 1).

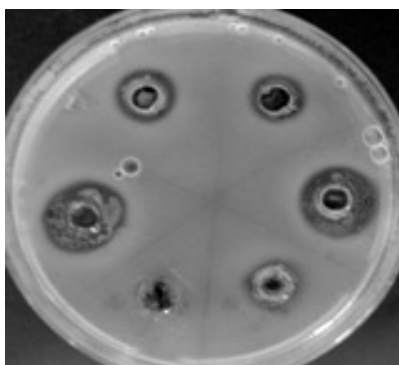


Рисунок 1 – Антагонистическое действие супернатантов МКБ в отношении *Listeria monocytogenes* B 0600: стрелками показаны 3 лунки заполненные тремя видами супернатанта (1 - чистый; 2 - с добавлением NaOH; 3 – с добавлением NaOH и каталазы) штамма *Lb. pentosus* 16 ал.

В результате проведенных нами исследований были выделены и определены бактериоцин-продуцирующие штаммы МКБ, обладающие широким спектром антимикробного действия, в том числе в отношении возбудителя листериоза бактерии *Listeria monocytogenes*. Данные штаммы в дальнейшем могут быть применены в качестве бактериоцин-продуцентов в борьбе со штаммами - контаминантами в мясо-молочной промышленности.

Литература

1. Криницина Э.В. Листериоз / Памятка врачу. Новосибирск, Вектор, 2011. - С.14.
 2. Тартаковский И.С. Листерии: роль в инфекционной патологии человека и лабораторная диагностика // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2000. -Т.2, - №10. - С. 121-125.
 3. Hartmann H., Wilke T. Efficacy of bacteriocin containing cell-free culture supernatants from lactic acid bacteria to control *Listeria monocytogenes* in food // International Journal of Food Microbiology. – 2011. - P.192-199.
- Yang E., Fan L., Doucette C., Fillmore S. Antimicrobial activity of bacteriocin-producing lactic-acid bacteria isolated from cheeses and yogurts // AMB Express a Springer Open Journal. - Canada.- 2012. – P.134-139.

УДК: 631.52. 633. 633.1; 635

Б.Н. Усенбеков^{*1}, Д.Т.Казкеев¹, Е.А. Жанбырбаев¹, А.Б. Рысбекова¹, К.М. Булатова², И.А. Сартбаева¹,
Л.К. Мамонов¹, Х.А. Беркимбай¹

¹Институт биологии и биотехнологии растений, г. Алматы, Казахстан

²КазНИИ земледелия и растениеводства, пос. Алмалыбак, Казахстан

*e-mail: bakdaulet7@yandex.ru,

Перспективы использования дигаплоидных регенерантов в селекции отечественных сортов глютинозного риса

В работе приведены данные по оптимизации получения дигаплоидных регенерантов в культуре пыльников для селекции казахстанских глютинозных сортов риса.

Ключевые слова: глютинозный рис, селекция, культура пыльников, содержание амилозы, перспективные линии.

B.N. Ussenbekov, D.T. Kazkeyev, E.A. Zhanbyrbayev, A.B. Rysbekova, K.M. Bulatova, I.A. Sartbayeva,
L.K. Mamonov, H.A. Berkimbai

Prospects for application the doubled-haploid regenerants in glutinous rice breeding

This paper present an optimization approaches of obtaining doubled-haploid plants through anther culture for kazakhstan glutinous rice breeding.

Keywords: glutinous rice, breeding, anther culture, content of amylose, perspective lines.

Б.Н. Үсенбеков, Д.Т. Қазкеев, Е.А. Жаңбырбаев, А.Б. Рысбекова, К.М. Болатова, И.А. Сартбаева, Л.К. Мамонов, Х.А. Беркімбай

Отандық глютинозды күріш сорты селекциясында дигаплоидты регенеранттарды қолданудың болашағы

Жұмыста қазақстандық глютинозды күріш сорттарының селекциясына қажетті аталық тозаңдардан дигаплоидты регенеранттарды алуды оңтайландырудың мәліметтері келтірілген.

Түйін сөздер: глютинозды күріш, селекция, аталық тозаңдарды өсіру, амилоза мөлшері, перспективті линиялар.

По биохимическому составу рис бывает обычным и восковым (глютинозным или «клейким»). Обычные сорта риса богаты и амилозой (от 8 до 37 %) и амилопектином, а у глютинозного риса влажное зерно клейкое и он отличается низким содержанием амилозы (> 2%) [1]. Мука глютинозного риса может использоваться как компонент продуктов детского питания, в сухих и жидких молочных смесях на зерновой основе, приближенных по составу к женскому молоку [2]. Для продовольственной безопасности страны необходимо создание собственных высокопродуктивных глютинозных сортов риса адаптированных к местным условиям возделывания [3].

В настоящее время в селекции риса широко используют биотехнологические подходы позволяющие повысить результативность селекционного процесса [4]. Одним из таких методов является метод гаплоидной биотехнологии, которая позволяет получить стабильное растение за одно поколение [5]. Для массового получения гаплоидов риса наиболее эффективным является метод культуры изолированных пыльников и микроспор.

Целью исследований является - получение дигаплоидных аналогов глютинозного сорта Виолетта и отбор перспективных линии по низкому содержанию амилозы с последующим вовлечением их в селекционный процесс для получения первого отечественного глютинозного сорта.

Материалы и методы

Объектом исследований является российский глютинозный сорт риса Виолетта.

Для индукции каллусогенеза пыльники риса пассировали на питательную среду N6 с добавлением 2,4-Д в концентрации 2 мг/л. Регенерацию каллусов проводили на среде МС содержащая 5 мг/л БАП, 1 мг/л ИУК. Электрофоретический анализ запасных белков риса проводили в ПААГе 10 и 12% концентрации модифицированным методом Laemmli [6].

Результаты и их обсуждение

На среде N6 культивировали 1400 пыль-ников глютинозного сорта Виолетта, из которых получено 72 каллуса. При пересадке каллусов на регенерационную среду МС получено 7 зеленых фертильных и 1 стерильное растение. Из длительного культивируемых каллусов через 10 месяцев получены растения-регенеранты из глютинозного сорта Виолетта. Регенерантов пассировали на среду МС содержащий 5 мг/л БАП и 1мг/л ИУК. На третий неделе культивирования наблюдали кущение регенерантов (рисунок 1).

Для получения большего количества гаплоидных регенерантов было проведено клонального размножение. Регенерант гаплоид сорта Виолетта делили на 8 отдельных растений. После двух недель культивирования на регенерационной среде МС, растения регенеранты переводили на безгормональную среду МС для развития корневой системы. Через месяц культивирования на безгормональной среде растения с хорошо развитой корневой системой отмывали от питательной среды в проточной воде и переводили на почвенно-торфяную смесь. После адаптации растений к почве, переводили в вегетационные сосуды для получения семенного поколения. Среди регенерантов наблюдались гаплоидные растения, которые были стерильными.

Одной из альтернатив получения фертильных растений из стерильных регенерантов гаплоидов является метод культивирования стеблевых узлов (рисунок 2).



Рисунок 1 – Регенеранты глютинозного сорта Виолетта

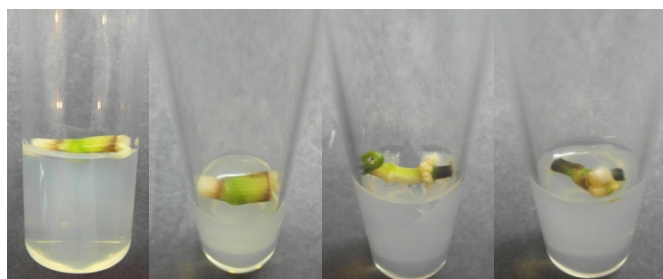


Рисунок 2 – Стеблевые узлы глютинозного риса на среде для регенерации

В стеблевых узлах находятся меристематические клетки, из которых можно регенерировать целое растение. В результате активного роста меристем в *in vitro* происходит спонтанное удвоение хромосом. Во ВНИИ риса (г. Краснодар) используют метод стеблевых узлов и зачаточных побегов для получения фертильных удвоенных из гаплоидных растений. Для получения регенерантов из стеблевых узлов срезают стебли гаплоидных растений и пересаживали на среду МС, содержащую 2 мг/л 2,4-Д для регенерации. В условиях оранжереи ИББР из глютинозных регенерантов получено семенное поколение (рисунок 3).

Различная отзывчивость на культуру пыльников характерна для сортов, видов и подвидов риса. Максимальная отмечена у глютинозного риса, далее следуют: подвид *japonica*, *japonica/indica* гибриды, *indica/indica* гибриды и подвид *indica* [7].

В результате проведенных исследований у глютинозного дигаплоида наблюдалось превышение показателей хозяйственно-ценных признаков, кроме высоты растений и пустозерности метелок (таблица 1).

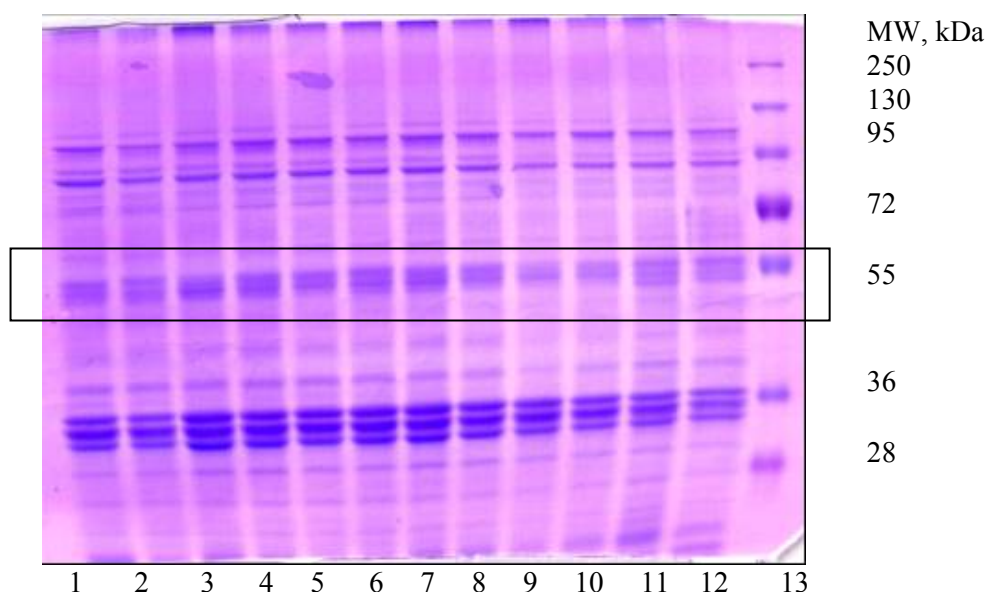
Для установления сходства и (или) различия с исходным глютинозным сортом Виолетта были проведены электрофоретические анализы запасных белков семян. Все дигаплоидные линии внутрисортных типов сорта Виолетта по содержанию амилозы относятся к группе с очень низким содержанием амилозы. Причиной расщепления линии по содержанию амилозы (от 1,86 до 5,32%) могут являться мутации, частота которых в диплоидных линиях, полученных в культуре пыльников, значительно выше (таблица 2). В то же время, по спектру запасных белков отмечается вариация между линиями по интенсивности отдельных полос в зоне компонентов с молекулярной массой около 55 кДа (выделены рамкой), что подтверждает расщепления линии по содержанию амилозы в культуре пыльников (рисунок 4).



Рисунок 3 – Растения-регенеранты глютинозного сорта Виолетта в фазе полной спелости в оранжерее ИББР

Таблица 1 – Показатели хозяйственно-ценных признаков сорта Виолетта и ее дигиплоидов

Признаки	Виолетта контроль	Виолетта дигиплоид
Кустистость, шт	2,5±0,4	10,1±1,1
Высота растений, см	72,8±5,1	71,5±4,4
Длина метелки, см	11,8±1,5	14,3±1,3
Количество колосков метелки, шт	56,0±4,4	92,5±4,4
Количество зерновок метелки, шт	42,7±1,7	67,1±5,6
Длина флагового листа, см	29,3±2,2	23,1±2,7
Ширина флагового листа, см	1,1±0,1	1,2±0,1
Пустозерность, шт	16,2±1,7	26,6±4,1
Масса зерна с главной метелки, г	1,3±0,4	1,5±0,1
Масса зерна с 1 растения, г	2,5±0,7	5,8±0,8
Масса 1000 зерен, г	25,4±0,7	23,7±1,7
Диаметр стебля, мм	2,9±0,5	3,7±0,4



1,2 – Виолетта (амилоза 3,17%); 3,4 – Виолетта дигиплоид №1 (содержание амилозы 3,17%); 5,6 – Виолетта дигиплоид №2 (содержание амилозы 3,64%); 7,8 – Виолетта дигиплоид №3 (содержание амилозы 2,33%); 9,10 – Виолетта дигиплоид №5 (содержание амилозы 4,10%); 11,12 – Виолетта дигиплоид №6 (содержание амилозы 2,52%); 13 – Белковый маркер

Рисунок 4 – Электрофореграмма спектра запасных белков у дигиплоидов сорта Виолетта

Таблица 2 – Содержание амилозы у сорта Виолетта и дигиплоидных линии

Образцы	Содержание амилозы, %
1	2
Виолетта контроль	3,17

Продолжение таблицы 2

1	2
Виолетта дигаплоид №1	3,17
Виолетта дигаплоид №1а	1,86
Виолетта дигаплоид №2	3,64
Виолетта дигаплоид №2а	3,54
Виолетта дигаплоид №3	2,33
Виолетта дигаплоид №3а	2,24
Виолетта дигаплоид №4	5,32
Виолетта дигаплоид №4а	2,52
Виолетта дигаплоид №5	4,10
Виолетта дигаплоид №5а	2,80
Виолетта дигаплоид №6	2,52
Виолетта дигаплоид №6а	3,17
Виолетта дигаплоид №7	3,92
Виолетта дигаплоид №7а	4,5

Таким образом, в ходе проведенных работ по оптимизации получения глютинозных дигаплоидов в культуре пыльников впервые созданы перспективные линии с низким содержанием амилозы (от 1,86 до 3,17%), как исходного материала в селекции первого казахстанского глютинозного сорта.

Авторы выражают благодарность заведующему лаборатории исходного материала ВНИИ риса РАСХН, автору глютинозного сорта «Виолетта» доктору сельскохозяйственных наук, профессору Зеленскому Г.Л. за любезно предоставленный исходный материал.

Литература

- 1 Sano Y. Differential regulation of waxy gene expression in rice endosperm // Theor. Appl. Genet. -1984.-V68.-P.467-473.
- 2 Зеленский Г.Л., Туманьян Н.Г., Лоточникова Т.Н., Лоточников С.В., Ефименко С.Г. Эксклюзивные сорта в селекции ВНИИ риса. Рисоводство. - 2004.- №4. - С.20-23.
- 3 Научные основы и практика рисоводства в Казахстане / Сборник статей. Отв. редакторы: Л.К. Мамонов, Б.А. Сарсенбаев. Алматы: «Тоганай Т», 2012. - 320 с.
- 4 Silva and WJ Ratnayake. Anther culture potencial of indica rice varieties, Kurulu thuda and BG 250 TD // Tropical Agricultural Research & Extension 12(2): 2009. - P.53-56.
- 5 Рахимбаев И.Р., Тивари Ш., Кударов Б.Р. Экспериментальная гаплоидия в культуре пыльников и микроспор зерновых злаков // Сельскохозяйственная биотехнология. - 1990. - №3. - С.44-55.
- 6 Булатова К.М. Изучение компонентного состава глютеина пшеницы // Вестник с.-х. науки Казахстана. - 1985, №4. - С.37-39.
- 7 Гончарова Ю.К. Использование метода культуры пыльников в селекции риса. - Краснодар, 2012. - 91 с.

УДК 636.22/28.082.12

Е.С. Усенбеков*¹, О.О. Жансеркенова¹, Ш.Н. Касымбекова¹, М.Д. Кенешбаев¹, А.А. Спанов²

¹Казахский национальный аграрный университет, г. Алматы, Казахстан

²Казахский НИИ животноводства и кормопроизводства, г. Алматы, Казахстан

*e-mail: usen03@mail.ru

Использование пятна крови для проведения полимеразной цепной реакции и генотипирование предимплантационных эмбрионов

В данной статье рассматривается возможность применения метода полимеразной цепной реакции в сочетании с ПДРФ анализом для генотипирования предимплантационных эмбрионов коров на наличие таких генетических дефектов, как BLAD и Citrullinemia. В опытах в качестве источника ДНК, авторы использовали пятно крови, высушенное на фильтровальной бумаге для амплификации нужного фрагмента гена. Применение указанных методов позволяет в течение 4-5 часов провести тестирование эмбрионов и племенных животных методом ПЦР.

Ключевые слова: предимплантационные эмбрионы, летальная аутосомальная рецессивная мутация, BLAD, Citrullinemia, ПЦР, электрофорез, пятно крови.

E.S. Usenbekov, O.O. Zhanserkenova, Sh.N. Kasymbekova, M.D. Keneshbaev, A.A. Spanov

Вестник КазНУ. Серия биологическая. №3/1(59). 2013