

Two patterns of gynogenesis have been observed in ovary culture: embryo – plant (direct embryogenesis) and embryo – callus – plant (indirect embryogenesis). Observations suggest that embryogenesis and callus formation do not take place simultaneously in the same ovule. Direct embryogenesis is the most desirable pattern because, in this case, photosynthesizing plants, while plants from callus may be albino or demonstrate different levels of ploidy.

References

1. In vitro haploid production in higher plants. Vol. 5. Ed. by Jain S.M. Sopory S.K., Veileux R.E. , Kluwer Academic Publisher, 1997. – 256 p.
2. Advances in haploid production in higher plants. Ed. by Touraev A., Brian P. Forster S. Jain M. Heidelberg: Springer, 2009. – 347 p.
3. Doubled haploid production in crop plants. Climate Change and Crop Production Publisher, 2010. – 320 P.
4. Pollen biotechnology for crop production and improvement. Ed. by Shivanna K.R., Sawhney V.K. Cambridge Univ. Press, 1997. – 464 p.
5. Yang H.Y., Zhou C. In vitro induction of haploid plants from unpollinated ovaries and ovules // Theor. And Applied Genetics, 1982, V.63. – p. 97-104.
6. Mukhambetzhano S. K. Culture of nonfertilized female gametophytes in vitro // Plant Cell Tiss. Org. Culture, 1997, V. 48. – p. 111-119.
7. Мұхамбетжанов С.К., Рахымбаев И.Р., Ережепов Ә.Е. Аналық гаметофитті өсірудегі тәжірибелік гаплоидияның мәселелері // Биотехнология: теория и практика. – 2006. - №4. – бб.11-16.

Түйін

Шолу мақалада ауылшаруашылығы дақылдарының аталық және аналық гаметофит клеткаларын жасанды қоректік ортада өсіру арқылы гаплоидты өсімдіктер алудың жолдары қарастырылған.

Резюме

В настоящем обзоре представлены основные пути получения гаплоидных растений сельскохозяйственных культур в культуре клеток мужского и женского гаметофитов.

УДК 581.143:577.175.1.05

Мусалдинов Т.Б.

ВЛИЯНИЕ КУЛЬТУРАЛЬНОЙ СУСПЕНЗИИ МИКРОВОДОРОСЛИ *CHLORELLA VULGARIS BEIJR.*, УА-1-20 НА ПОСЕВНЫЕ КАЧЕСТВА, НА ПОВЫШЕНИЕ ИНДУКЦИИ УСТОЙЧИВОСТИ К ФИТОПАТОГЕНАМ И УРОЖАЙНОСТЬ ЛУКА
РГП «Институт биологии и биотехнологии растений» КН МОН РК, г. Алматы, Казахстан
tbmusaldinov@mail.ru

В результате проведенных исследований установлено, что предпосевная обработка семян лука культуральной суспензией *Chlorella vulgaris Beijr.*, УА-1-20 оказывает положительное влияние на их посевные качества, а также индуцирует устойчивость растений к болезням, биологическая эффективность при этом против фузариоза составляет 50,8%, против бактериоза - 41,2%, урожайность лука повышается на 26,8%.

Как известно лук является ценной овощной культурой и используется в течении круглого года в рационе питания населения. Для удовлетворения потребности населения республики в данной витаминной продукции необходимо постоянное увеличение его урожайности. Однако в последние годы в республике наблюдается существенное снижение урожая и ухудшение качества лука. Одной из серьезных причин недобора урожая данной культуры являются потери от болезней. Так, по данным А.А. Джаймурзиной и др., [1] наиболее распространенными болезнями на Юго-Востоке Казахстана являются фузариоз и бактериоз, поражение которыми достигает 72 и 46% соответственно. Особенно на этой культуре вредоносны факультативные паразиты-грибы *Botrytis allii*, *Fusarium oxysporum*, бактерия - *Erwinia carotovora*. В период хранения луковиц, они вызывают массовую гниль продукции, ухудшают их качество. К тому же, повсеместное применение химических обработок приводит к развитию устойчивых форм фитопатогенов к применяемым фунгицидам.

Поэтому проблема снабжения населения дешевой овощной продукцией стоит остро. В связи с этим, ученые многих стран ведут поиск новых подходов в решении проблемы борьбы с фитопатогенными микроорганизмами. При этом все большее признание получают концепции направленные на сохранение окружающей среды и использование экологически чистых технологий [1, 2, 3, 4, 5, 6, 7]. Одним из приоритетных направлений в защите растений от болезней являются исследования по индуцированию естественного механизма устойчивости. Использования препаратов нового поколения для защиты растений, стимулирующих естественный иммунитет к болезням. В качестве иммунизаторов устойчивости растений к болезням рекомендуются удобрения, микроэлементы, физиологически активные вещества, термотерапия, фунгициды, триходермин, растительные экстракты и физические методы [8, 9, 10, 11].

Среди биологически активных веществ, регулирующих клеточный метаболизм, имеются соединения, которые действуют на возбудителей болезней через изменения обмена веществ растения хозяина. Они вызывают накопление в растениях антигрибных, антибактериальных веществ и усиливают активность ферментов, контролирующей болезнеустойчивость изменяя его в сторону неблагоприятную для патогена.

Научные исследования о биологических способах обеззараживания, стимуляции роста семян и растений изучены недостаточно. Среди биологических препаратов повышенный интерес представляют водоросли, которые широко распространены в природе и отличаются разнообразием форм. Азотфиксирующие и не азотфиксирующие сине-зеленые и зеленые водоросли почти не имеют "конкурентов" по способности синтезировать различные физиологически активные вещества. Во вторичных метаболитах водорослей обнаружено множество витаминов, ферментов, аминокислот, макро- и микроэлементов. В них найден широкий спектр фитогормонов (индольной природы, ауксины, цитокинины и др.), способных оказывать регулирующее влияние на многие процессы роста, развития и корнеобразования растений. Они повышают резистентность и устойчивость растений к различным стрессовым факторам [12, 13, 14].

Цель работы – изучить влияние культуральной суспензии микроводоросли *Chlorella vulgaris* Beijr., VA-1-20 на посевные качества, на повышение индукции устойчивости к фузариозу, бактериозу и на урожайность лука.

Материалы и методы

Объектами исследований явились семена и посадки лука, а также грибные и бактериальные заболевания. Опыты проводились в лабораторных и производственных условиях на естественном инфекционном фоне согласно методическим указаниям [15]. Нарработку суспензионной культуры *Chlorella vulgaris* Beijr., VA-1-20 коллекции лаборатории альгологии и гидробиологии Научно-производственного центра «Ботаника» НА РУз проводили на среде Тамия по методике М.Г. Владимировой и В.Е. Семененко [16]. В качестве эталона использовали, для обеззараживания семян перед посевом протравитель ТМТД, 80% с. п. из расчета 5 г на кг семян). В качестве аналогов брали для обработки семян биостимуляторы гумат натрия и янтарная кислота из расчета 300 мг каждого на литр воды.

Опыт имел следующие варианты: 1. Контроль - обработка водой. 2. ТМТД, 80% с.п. - эталон. 3. Гумат натрия 0,3%. 4. Янтарная кислота - 0,3%. 5. Культуральная суспензия хлореллы с плотностью 25 млн кл/мл. Первоначально в лабораторных условиях проверяли влияние обработки семян лука, сорта «Табыс» селекции КазНИИ картофелеводства и овощеводства на их посевные качества (энергия прорастания и лабораторную всхожесть) путем замачивания в растворе препаратов по 100 шт. с экспозицией 12 часов [17]. Продолжительность опыта - 10 суток, повторность опыта 3-х кратная. По истечению времени экспозиции, семена лука извлекались из лабораторных стаканов, затем подсушивали на солнце до кондиционной влажности и высевали их в чашки Петри с фильтровальной бумагой согласно вариантам опыта. Чашки Петри с семенами лука в контрольном и опытных

вариантах поливали дистиллированной водой один раз в сутки до полного увлажнения фильтровальной бумаги. Проращивание семян проводили при температуре 22°C на приборе Якобсона. На 4 сутки определяли энергию прорастания и на 8 сутки - лабораторную всхожесть семян лука. Влияние регуляторов роста на микрофлору семян устанавливается во влажной камере и на твердых питательных средах – Чапека и картофельном агаре по общепринятым методикам. При этом слабое заплесневение семян отмечается – (+), среднее – (+ +), сильное – (+ + +), отсутствие – (-).

В полевых условиях оценивали эффективность этих же вариантов. Исследования проводились на экспериментальных полях КазНИИКО (п. Кайнар) на заранее подобранном естественном инфекционном фоне. Площадь делянок 10 м², повторность опыта 4 кратная. На опытах соблюдаются агротехнические мероприятия согласно рекомендаций для условий Алматинской области. Учет урожая проводится по вариантам опыта.

Расчет биологической эффективности проводится по формуле:

$$Б = (Рк - Рo) \cdot 100 / Рк, \quad (1)$$

где

Б - биологическая эффективность, %;

Рк - показатель развития болезни в контроле, %;

Рo - показатель развития болезни в опыте, %.

Хозяйственная эффективность результатов производственной проверки термохимической обработки семян и эффективность фунгицидов определяется по формуле:

$$Х.э. = Уo - Ук / Ук \times 100, \quad (2)$$

где

Х.э. – хозяйственная эффективность, в %;

Ук – урожай основной продукции в контроле (ц/га);

Уo - урожай основной продукции в опыте (ц/га).

Результаты опыта обрабатывались согласно методике Б.А. Доспехова [18]. На опытах регулярно, один раз в неделю, проводились учеты за развитием болезни и фенологические наблюдения по общепринятым методикам [19, 20, 21].

Результаты и их обсуждение

Оздоровление семенного материала должно быть направлено не только на подавление инфекции, но и на повышение устойчивости растений к заболеваниям в период вегетации. Для этого используют различные индукторы, активизирующие естественный иммунитет растений.

Результаты лабораторного опыта показали, что во всех вариантах опыта по предпосевной обработке семян отмечается положительное влияние на посевные качества семян (таблица 1).

Из полученных данных таблицы 1 видно, что в вариантах с биостимуляторами наблюдается повышение энергии прорастания и лабораторной всхожести по сравнению с контролем и эталоном, а также более интенсивное развитие проростков. Наибольшие результаты в варианте опыта с обработкой семян в культуральной суспензии микроводоросли хлорелла. Так, энергия прорастания и лабораторная всхожесть, в этом варианте выше, чем в контроле и эталоне на 11 и 13%, 10 и 16%, соответственно. По многим вариантам отмечается также сдерживание и подавление семенной инфекции. Однако полного подавления микрофлоры семян не выявлено ни в одном варианте. Несмотря на положительное влияние янтарной кислоты на посевные качества семян, в этом варианте отмечалось более интенсивное плесневение семян. Культуральная суспензия хлореллы полностью не подавляла семенную инфекцию, но положительно влияла на энергию прорастания и лабораторную всхожесть семян.

Таблица 1 - Влияние обработок семян лука сорта «Табыс» биостимуляторами на их посевные качества и интенсивность роста микрофлоры семян (лабораторный опыт, 2004)

| Варианты опыта | Посевные качества семян, % | | Интенсивность роста микрофлоры семян | |
|---|----------------------------|------------------------|--------------------------------------|---------|
| | энергия прорастания | лабораторная всхожесть | бактериальной | грибной |
| 1. Контроль - обработка водой | 65 | 88 | ++ | +++ |
| 2. ТМТД, 80% с.п. (эталон) | 62 | 82 | + | + |
| 3. Гумат натрия - 0,3% (аналог) | 70 | 94 | +++ | +++ |
| 4. Янтарная кислота -0,3% (аналог) | 67 | 90 | +++ | +++ |
| 5. Культуральная суспензия хлореллы (25 млн.кл./мл) | 76 | 98 | ++ | ++ |

* Примечание:

[+] – слабое плесневение семян

[++] – среднее плесневение семян

[+++] – сильное плесневение семян

Таблица 2 - Эффективность обработки семян лука сорта «Табыс» биостимуляторами против болезней (полевой опыт, 2005 г.).

| Варианты опыта | Индексы болезней, % | | Биологическая эффективность, % | | Урожайность, ц/га | Прибавка урожая | |
|--|---------------------|------------------|--------------------------------|-----------|-------------------|-----------------|------|
| | Фузариоз | бактериоз | фузариоз | бактериоз | | ц/г | % |
| | степень развития | степень развития | | | | | |
| 1. Контроль - обработка водой | 35,6 | 32 | - | - | 302 | - | - |
| 2. ТМТД, 80% с.п. (эталон) | 12,9 | 12,3 | 63,7 | 61,5 | 361 | 59 | 19,5 |
| 3. Гумат натрия-0,3% (аналог) | 27,5 | 20,5 | 22,7 | 35,9 | 346 | 44 | 14,5 |
| 4. Янтарная кислота -0,3% (аналог) | 25,6 | 27,8 | 29,1 | 32 | 326 | 24 | 7,9 |
| 5. Культуральная суспензия хлореллы (25млн кл./мл) | 17,5 | 18,8 | 50,8 | 41,2 | 383 | 81 | 26,8 |
| НСР _{0,05} | | | | | 14,695 | | |

Оценка эффективности обработки семян культуральной суспензией хлореллы в полевых условиях показала, что данный прием индуцирует устойчивость лука к болезням и повышает его урожайность (табл. 2).

Результаты полевых испытаний таблицы 2 показывают, что в вариантах с биостимуляторами пораженность фузариозом и бактериозом ниже чем в кантроле. Однако биологическая эффективность гумата натрия и янтарной кислоты низкая и составляет против фузариоза 22,7 и 29,1% , против бактериоза 35,9 и 32% соответственно в то время в варианте с хлореллой биологическая эффективность против фузариоза 50,8%, против бактериоза 41,2%. В этом варианте отмечается также наивысшая прибавка урожая – 26,8%.

Таким образом, результаты исследований показали, что обработка семян лука суспензией микроводоросли хлорелла положительно влияет на посевные качества семян, а также индуцирует устойчивость растений к болезням, биологическая эффективность против фузариоза составляет 50,8%, против бактериоза - 41,2%. При этом урожай повышается на 26,8%.

Литература

1. Джаймурзина А.А., Карбозова Р.Д., Кожамкулова Ж.Ж.. Оздоровление семян лука от бактериальной и грибной инфекции Сб. «Актуальные направления развития научных исследований по картофелеводству и овощеводству». Кайнар, 2008. – С. 127 – 130.
2. Гусева Н.Н., Мироненко Н.В., Усольцева М.Ю. Биотехнологические методы в решении проблемы. «Современная биотехнология в решении проблемы защиты растений». - С-Петербург, 1995. - С. 27-37.
3. Тютерев С.Л., Попова Э.В. Генетическая инженерия в решении проблем индуцирования болезнеустойчивости растений. «Современная биотехнология в решении проблемы защиты растений». - С-Петербург, 1995. - С. 14-24.
4. Сусидка П.И., Писаренко В.И. Защита садовых и овощных культур без применения пестицидов. - М.: Росагропромиздат, 1991. - 75 с.
5. Тютерев С.Л. Индуцированный иммунитет к болезням и перспективы его использования. «Современная биотехнология в решении проблемы защиты растений». - С-Петербург, 1995. - С. 25-30.
6. Джаймурзина А.А. Бактериальные болезни овощных культур и пути снижения их вредности. Проблемы стабилизации и развития сельского-хозяйства в Казахстане, Сибири и Монголии. - Алматы, 2000. - С. 119-120.
7. Левин В.А., Фирсов В.Ф., Дегтев И.В. Безпестицидный способ повышения болезнеустойчивости и урожайности озимой пшеницы// Мат. Всерос. съезда. Фитосанитарное оздоровление экосистем. - С-Петербург, 2005. - С. 306-308.
8. Гребник П.П., Орлова С.С. Действие минеральных удобрений на фитосанитарное состояние почвы под томатами. Мат. конф. Болезни и вредители культурных растений и методы борьбы с ними. - Новосибирск, 1988. - С. 25-29.
9. Джаймурзина А.А. Микроэлементы и фунгициды в борьбе с бактериозом огурца. Тез. докл. Всесоюз. совещ. Бактериальные болезни растений. - Ереван, 1980. - С. 211-214.
10. Машара К.А., Федей И.П., Ванюшкин В.А., Зайнагидданов К.М. Влияние биологических препаратов, микроэлементов, химических иммунизаторов на слизистый бактериоз капусты. Тр. Всерос. конф. Бактериальные болезни картофеля и овощных культур и методы борьбы с ними. - С. Петербург, 1999. - С. 35-38.
11. Сагитов А.О., Рябинина Г.И., Джаймурзина А.А. Эффективность обработки продовольственного лука марганцевокислым калием против комплекса заболеваний при хранении. Мат. конф. по картофелеводству и овощеводству. – Кайнар, 2001. - С.93-95.
12. Музафаров А.М., Таубаев Т.Т. Культивирование и применение микроводорослей. - Ташкент, 1984. - 130 с.
13. Таутс М.И., Семенов В.Е. Выделение и идентификация физиологически активных веществ индольной природы во внеклеточных метаболитах хлореллы // Доклады Академии наук СССР. - 1971. - Том 198. - № 4.С. 970-973.
14. Кадырова Г.Х. Продуцирование ауксина цианобактериями // Узбекский биологический журнал.- 2004. №4. - С. 9-13.
15. Методические указания по проведению регистрационных испытаний фунгицидов протравителей семян и биопрепаратов растениеводстве. - Алматы-Акмола, 1997. - 64 с.
16. Владимирова М.Г. и Семенов В.Е. Интенсивная культура одноклеточных водорослей. - М., 1962. - С. 4-8.
17. Нургасенов Т.Н., Сулейменова С.Е., Каракальчев А.С., Арыстангулов С.С. Сортоведение, семеноводство и семеноведение полевых культур. - Алматы: Агроуниверситет, 2005. – 153 с.
18. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта - М.: Агропромиздат, 1985. - 351с.

19. Чумаков А.Е. Основные методы фитопатологических исследований. М.: ВАСХНИЛ, 1974. - 89 с.
20. Хокряков М.К. Методические указания по экспериментальному изучению фитопатогенных грибов. - Л., 1974. - 64 с.
21. Кирай З.И. Методы фитопатологий. - М.: Колос, 1976. - 343 с.

УДК 577.127:547.973

Нам С.В., Сатыбалдиева Д.Н., Мурсалиева В.К., Мамонов Л.К.
БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ КОНДЕНСИРОВАННЫХ И ГИДРОЛИЗУЕМЫХ
ФРАКЦИЙ ДУБИЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ В СИСТЕМЕ БИОТЕСТОВ
РГП «Институт биологии и биотехнологии растений» КН МОН РК,
Г. Алматы, Казахстан

Выявление биологических активностей веществ растений в модельных опытах является важным звеном изучения роли этих веществ в жизнедеятельности растений и необходимо для выявления возможностей их практического использования.

В наших исследованиях изучалось влияние дубильных веществ на укоренение черенков фасоли, на рост каллусных тканей и ризогенез каллусов однодольных и двудольных растений.

Объектами исследований служили дубильные вещества, выделенные из корней бадана толстолистного *Bergenia crassifolia* L. Fritsch и лабазника вязолистного *Filipendula ulmaria* (L) Maxim, по описанной ранее методике [1]. Целевыми объектами в биотестах являлись черенки фасоли (линия 48), каллусные ткани пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Отан и моркови (*Daucus carota* L.) сорта Нантская 4.

Методики получения и культивирования эксплантов, используемых в опытах и приготовление питательных сред проводили по стандартным методикам [2]. Для получения и культивирования незрелых зародышей пшеницы использовали среду Мурасиге и Скуга (МС) с внесением ауксина 2, 4- дихлорфеноксиуксусной кислоты (2,4Д) в концентрации 2 мг/л. Сегменты сердцевинной паренхимы моркови для получения каллусов и полученные каллусы культивировали на среде МС с дополнением 12 мг/л нафтилуксусной кислоты (НУК) и 1 мг/л бензиламинопурина (БАП).

Результаты экспериментов с каллусами оценивали по следующим показателям: процент корнеобразования, прирост каллусной ткани, который вычисляли по формуле: $K_f = \frac{\text{конечный вес} - \text{начальный вес}}{\text{начальный вес}}$.

Для изучения влияния дубильных веществ в питательную среду вносили водорастворимые и спиртовые экстракты дубильных веществ, выделенных из корней *B. crassifolia* и *F. ulmaria* в таких количествах, чтобы их конечные концентрации в питательной среде составили $10^{-3}\%$ (10 мг/л), $10^{-4}\%$ (1 мг/л), 10^{-5} (0,1 мг/л). Контролем являлись среда МС без внесения гормонов (контроль 1) и среда МС с дополнением гормонов (контроль 2). Оценку накопления биомассы каллусов пшеницы проводили в фазу экспоненциального роста. Каждый вариант опыта и контроль проводились в десяти повторностях. Все результаты исследований обрабатывались стандартными биометрическими методами [3, 4].

В опытах по влиянию дубильных веществ установлено, сравнительно высокие концентрации дубильных веществ как гидролизуемых, так и конденсированных, выделенных из растений *B. crassifolia* в высоких концентрациях (100 мг/л) не отличались от водного контроля. Более низкие концентрации дубильных веществ из этого вида растений, а также из *F. ulmaria* отличались от водного контроля, причем некоторые из них с достаточным уровнем достоверности (таблица 1).

Сравнительное изучение биологической активности в тест-системе каллусной ткани пшеницы (рисунок 1) *in vitro* установило, что добавление как конденсированных, так и