

## КУЛЬТУРА СОМАТИЧЕСКИХ КЛЕТОК *SORGHUM BICOLOUR L. IN VITRO*

К.М. Искакова<sup>1</sup>, Б.Б. Анапияев<sup>1</sup>, Е.Б. Бейсенбек<sup>1</sup>, А.Ш. Омарова<sup>2</sup>,  
Ш.Р. Тузелбаева<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Некоммерческое акционерное общество «Казахский национальный исследовательский технический университет имени К.И. Сатпаева», Институт химических и биологических технологий, Алматы, Казахстан, [bak\\_anapiyayev@mail.ru](mailto:bak_anapiyayev@mail.ru)

<sup>2</sup>Казахский научно-исследовательский институт земледелия и растениеводства, Алмалыбак, Казахстан

**Аннотация.** В работе приведены результаты исследований по культивированию соматических клеток сахарного сорго (*Sorghum bicolor* L.), выращенных в условиях Юго-Востока Казахстана. Соматические клетки сахарного сорго были культивированы в модифицированной питательной среде Мурасиге-Скуга (2 мг/л 2,4-Д, 20 г/л сахароза, 100 мг/л мезоинозит, рН 5,7) при 27 °С. Были выделены генотипы сахарного сорго, способные максимально образовывать морфогенные каллусы в культуре соматических клеток *in vitro*.

**Ключевые слова:** сахарное сорго, *Sorghum bicolor* L., культура соматических клеток, *in vitro*

**DOI:** 10.31255/978-5-94797-319-8-1248-1252

Сорго – пятая по важности зерновая культура после пшеницы, кукурузы, риса и ячменя. Пищевое сорго используется в качестве продукта питания в 30 странах для более, чем 500 миллионов человек, проживающих в тропической Африке и Южной Азии. Кормовое сорго является основным ингредиентом для приготовления корма для крупного рогатого скота, птицы и свиней. Сахарное сорго выращивается в промышленных масштабах для производства сиропа, солода, крахмала и белка [Cifuentes et al., 2014]. Также сахарное сорго является перспективным сырьем для производства биоэтанола [Almodares, Hadi, 2009]. Учитывая огромный потенциал, сахарное сорго является очень перспективной культурой многоцелевого использования [Сарсенбаев, 2014].

В последнее время интенсивно исследуются биотехнологические методы культивирования соматических и репродуктивных клеток сахарного сорго [Zegada-Lizarazu, Monti, 2012]. Также сорго является прекрасным объектом для генетической трансформации [Elkonin et al., 2016]. Биотехнологические методы культивирования клеток сорго *in vitro* является источником изменчивости и может успешно использоваться в мутационной селекции [Elkonin, 2005]. Для ускорения селекционного процесса и увеличения эффективности отбора успешно используются методы молекулярного маркирования сортов и гибридов сахарного сорго [Lekgari, Dweikat, 2014]. Интенсивно развиваются и совершенствуются методы и методологии биотехнологии сахарного сорго. Проводятся фундаментальные и прикладные исследования по культивированию соматических и репродуктивных клеток сорго *in vitro* [Maqbool et al., 2001].

Вместе с тем, имеется много нерешенных вопросов и проблем для широкого использования биотехнологических методов в практической селекции сахарного сорго. В связи с этим, нами были проведены исследования по изучению факторов, влияющих на частоту формирования морфогенных каллусов в культуре соматических клеток сахарного сорго, выращенных в условиях Юго-Востока Казахстана.

**Материалы и методы исследования.** Объектом исследования служили сорта и гибриды сахарного сорго: SABB-1, SAB-2, SAB-3, SAB-10, SAB-11, Hybrid-1 и Hybrid-2. Донорные растения выращивали в темно-каштановой почве в аридных условиях

Юго-Востока Казахстана. Для выделения соматических клеток донорные растения выращивались до фазы молочной спелости. В стерильных условиях незрелые зародыши были выделены и помещены в питательные среды Мурасиге-Скуга с нашими модификациями, которые содержали 20 г/л сахара, 5 мг/л Fe-хелат, 100 мг/л мезоинозит, 2 мг/л 2,4-Д, рН-5,7. Культивирование соматических клеток сахарного сорго осуществляли в темноте при 27 °С. Статистический анализ полученных результатов проводили по общепринятой методике.

**Результаты и их обсуждение.** При культивировании соматических клеток сахарного сорго было отмечено, что на частоту формирования каллусных клеток и их морфологию значительное влияние оказывали исходный генотип донорного растения (табл. 1). По частоте образования каллусных тканей высокие показатели были обнаружены у гибрида Hybrid-2 (69,11 %), генотипов SAB-3 (43,83 %), SABB-1 (42,31%) и SAB-10 (40,32%).

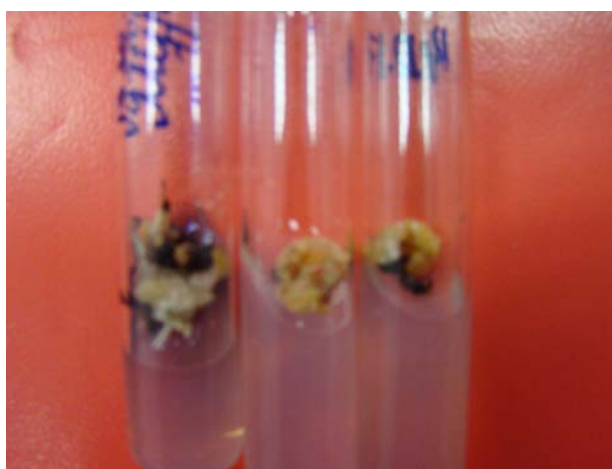
Средние показатели по частоте образования каллусных тканей были обнаружены у генотипов SAB-11 и Hybrid-1, где частота образования каллусных клеток составила 36,70%) и 25,33%, соответственно. Низкий показатель образования каллусных тканей был обнаружен у генотипа SAB-2, где частота каллусогенеза составила 4,47%.

**Таблица 1.**

**Каллусогенез в культуре соматических клеток сахарного сорго (*Sorghum bicolor* L.) *in vitro***

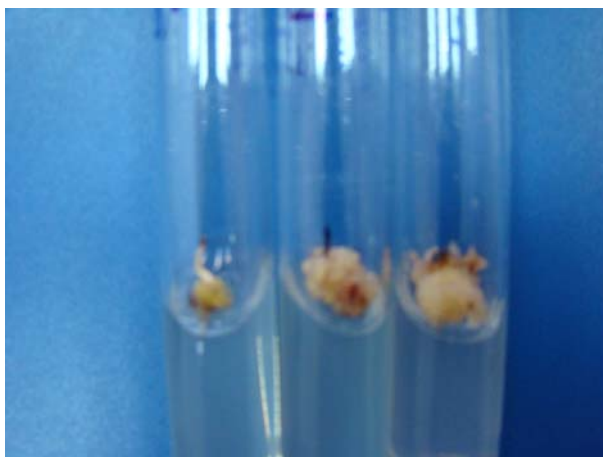
№	Генотип	Количество изолированных зародышей	Количество полученных каллусов	% каллусогенеза
1	SABB-1	52	22	42,31
2	SAB-2	67	3	4,47
3	SAB-3	73	32	43,83
4	SAB-10	62	25	40,32
5	SAB-11	79	29	36,70
6	Hybrid-1	75	19	25,33
7	Hybrid-2	68	47	69,11

Полученные каллусы из соматических клеток сахарного сорго отличались по морфологии и морфогенетическому потенциалу. Большинство полученных каллусов были неморфогенными, состояли, в основном, из рыхлых паренхимных клеток (рис. 1).



**Рис. 1.** Рыхлые неморфогенные каллусы, полученные в культуре соматических клеток *in vitro* сахарного сорго (*Sorghum bicolor* L.).

При культивировании соматических клеток сахарного сорго основной проблемой для большинства генотипов являются фенольные соединения, которые выделяются соматическими клетками на седьмой-десятый день культивирования *in vitro*. Фенольные соединения – вещества ароматической природы, содержащие одну или несколько гидроксильных групп ароматического кольца [Harborne, Williams, 1992]. Их классифицируют в зависимости от числа ароматических колец и количества присоединенных к ним атомов углерода и разделяют на три большие подгруппы: с одним и двумя ароматическими кольцами, а также полимерные фенольные соединения. Иногда в особую группу выделяют димерные фенольные соединения. Фенольные соединения проявляют сильное действие на рост растений, тормозя прорастание семян, удлинение стеблей и корней. В то же время они обладают фитонцидными свойствами и обеспечивают иммунитет растений к грибной и, особенно, бактериальной инфекции. Для ингибирования образования фенольных соединений часто в питательные среды добавляют активированный уголь, аскорбиновую кислоту и диоксид кремния [Сторожик и др., 2015]. Фенолы являются основной причиной некроза клеток и препятствуют росту каллусных клеток сахарного сорго *in vitro*. Поэтому нами были отдельно изучены генотипы, которые были способны формировать морфогенные каллусы, состоящие из плотных тканей с интенсивно делящимися меристематическими клетками (рис. 2).



**Рис. 2. Морфогенные каллусы, полученные в культуре соматических клеток *in vitro* сахарного сорго (*Sorghum bicolor* L.).**

Плотные морфогенные каллусы имели белый цвет и были способны к интенсивному делению и размножению при пассировании на новые питательные среды. При изучении частоты образования морфогенных каллусов в культуре соматических клеток сахарного сорго были выделены следующие генотипы: Hybrid-2 и SAB-3, где частота образования морфогенных каллусов составил 27,94% и 23,28%, соответственно (табл. 2).

Средние показатели частоты образования морфогенных каллусов при культивировании соматических клеток сахарного сорго были обнаружены у генотипов Hybrid-1 и SAB-10, где частота образования морфогенных каллусов составили 16,0% и 12,90%, соответственно. Низкие показатели образования морфогенных каллусов при культивировании соматических клеток на питательной среде Мурасиге-Скуга (2 мг/л 2,4-Д) сахарного сорго были обнаружены у генотипов SAB-11 и SAB-1, где частота образования морфогенных каллусов составила 7,59% и 2,99%, соответственно. В наших экспериментах у генотипа SAB-2 не было обнаружено образования морфогенных каллусов при культивировании соматических клеток *in vitro*.

Таблица 2.

Частота образования морфогенных каллусов в культуре соматических клеток *in vitro* сахарного сорго *Sorghum bicolor* L.

№	Генотип	Количество изолированных зародышей	Количество полученных морфогенных каллусов	% образования морфогенных каллусов
1	SABB-1	52	9	2,99
2	SAB-2	67	0	0
3	SAB-3	73	17	23,28
4	SAB-10	62	8	12,90
5	SAB-11	79	6	7,59
6	Hybrid-1	75	12	16,0
7	Hybrid-2	68	19	27,94

Таким образом, нами было обнаружено, что частота образования каллусов при культивировании соматических клеток сахарного сорго *in vitro*, выращенных в условиях Юго-Востока Казахстана, зависит от исходного генотипа. Также были обнаружены генотипы сахарного сорго, способные образовывать морфогенные каллусы, которые можно использовать в клеточной селекции на устойчивость к биотическим и абиотическим стрессовым факторам окружающей среды.

#### Литература

Сарсенбаев Б.А. Сорго сахарное перспективная культура многоцелевого использования // Известия НАН РК. Сер. биологическая и медицинская. – 2014. – № 3. – С. 3–9.

Сторожик Л.И., Войтковская В.И., Недяк Т.Н. Ингибирование фенольных соединений сорго сахарного *in vitro* // <http://sci-article.ru/stat.php>, SCI-ARTICLE.RU. – 2015. – № 21. – С. 17–26.

Almodares A., Hadi M.R. Production of bioethanol from sweet sorghum: A review // A. J. of Agricultural Research. – 2009. – V. 4 (9). – P. 772–780.

Cifuentes R., Dressani R., Rols C. The potential of sweet sorghum as a source of ethanol and protein // Energy for Sustainable Development. – 2014. – V. 21. – P. 13–19.

Elkonin L.A. Dominant male sterility in sorghum: effect of nuclear background on inheritance of tissue-culture-induced mutation // Theor. Appl. Genet. – 2005. – V. 111. – P. 1377–1384.

Elkonin L.A., Italienskaya J.V., Domanina L.V. et al. Transgenic sorghum with improved digestibility of storage proteins obtained by Agrobacterium-mediated transformation // R. J. of Plant Physiology. – 2016. – V. 63, No. 5. – P. 678–689.

Harborne J. B., Williams C.A. Advances in flavonoid research since 1992 // Phytochemistry. – 2000. – V. 55. – P. 481–504.

Lekgari A., Dweikat I. Assessment of genetic variability of 142 sweet sorghum germplasm of diverse origin with molecular and morphological markers // O.J. of Ecology. – 2014. – No. 4. – P. 372–393.

Maqbool S.B., Devi P., Sticklen M.B. Biotechnology: Genetic improvement of sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) // In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant. – 2001. – V. 37. – P. 504–515.

## CULTURE OF SOMATIC CELLS OF *SORGHUM BICOLOUR L. IN VITRO*

K.M. Iskakova<sup>1</sup>, B.B. Anapiyayev<sup>1</sup>, Y.B. Beisenbek<sup>1</sup>, A.S. Omarova<sup>2</sup>, S.R. Tuzelbayeva<sup>1</sup>

<sup>1</sup>The Kazakh National Research Technical University after K.I. Satpaev, Institute of Chemical and Biological Technologies, Almaty, Kazakhstan, [bak\\_anapiyayev@mail.ru](mailto:bak_anapiyayev@mail.ru)

<sup>2</sup>Kazakh Research Institute of Agriculture and Plant Growing, Almalybak, Kazakhstan

**Abstract** The results of researches on cultivation of somatic cells of sugar sorghum (*Sorghum bicolor* L.) grown in the conditions of the Southeast of Kazakhstan are given. Somatic cells of sugar sorghum were cultured in a modified Murashige-Skoga medium (2 mg /l 2,4-D, 20 g/l sucrose, 100 mg/l meso-inositol, pH 5.7) at 27 °C. Were found the genotypes of sugar sorghum, which were able to form morphogenic calluses in the culture of somatic cells *in vitro*.

**Keywords:** *sugar sorghum, Sorghum bicolor L., somatic cell culture, in vitro*