

ПОЛУЧЕНИЕ МОРФОГЕННЫХ КАЛЛУСОВ РАЗНЫХ ГЕНОТИПОВ ПШЕНИЦЫ В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO*

С.А. Файзиева¹, У.К. Алиев², Ф.Б. Худжамерова¹, К.А. Алиев²

¹Межгосударственное образовательное учреждение высшего образования «Российско-Таджикский (Славянский) университет», Душанбе, Республика Таджикистан, *fayz.sadaf@mail.ru*

²Институт ботаники, физиологии и генетики растений Академии наук Республики Таджикистан, Душанбе, Республика Таджикистан, *lab.gen@mail.ru*

Аннотация. Изучали соотношение цитокининов и ауксинов в различных культуральных средах при выращивании зародышей пшеницы *in vitro* и образование морфогенных структур. Процесс каллусообразования и появления морфогенных клеток являются независимыми процессами и контролируются различными группами генов.

Ключевые слова: зародыши пшеницы, морфогенные каллусы, фитогормоны

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-1403-1406

Основной зерновой культурой сельского хозяйства является пшеница, с которой давно ведется селекционная работа с использованием традиционных подходов. В последнее время все более широкое применение находят биотехнологические приемы на основе селекции растительных клеток в условиях *in vitro* [Бутенко, 1999]. Такой подход существенно ускоряет селекционный процесс в силу реализации свойственной растительной клетке тотипотентности.

Сельскохозяйственные культуры нередко подвергаются действию таких повреждающих факторов как экстремально высокие и низкие температуры, дефицит или избыток влаги, повышенное содержание солей, закисленность почв.

Поэтому важнейшей задачей сельского хозяйства является увеличение производства продуктов высокого качества. Чтобы эффективно управлять ростом и развитием растений, получать высокие и устойчивые урожаи в условиях стресса (солевой, засуха, температура) все больше используют методы современной биотехнологии.

Быстрое развитие современной биотехнологии в последние годы определяется не только прогрессом идей, но и прогрессом в методах исследования и техническом оснащении биологического эксперимента. Для физиологии растений, как и для всей биологии в целом, характерно стремление к глубокому проникновению в сущность процессов, происходящих на клеточном уровне и определяющих закономерности реакций целого растительного организма. Благодаря такому свойству как тотипотентность (способность расти из отдельного органа, ткани, клетки) для растений можно использовать метод культуры *in vitro* [Глеба, 1998; Алиев и др., 2005; Просад, 2003].

На этой основе, создание устойчивых к засолению, особенно, зерновых культур, позволит вовлечь в сельскохозяйственную практику новые земли и снизить потери урожая от неблагоприятных климатических условий. Для этого необходимо развивать методы клеточной и генной технологии.

Пшеница – одна из важнейших зерновых культур в мире. В основном культурные сорта пшеницы (особенно твердой) не обладают устойчивостью к засолению. Поэтому изучение механизмов и повышение солеустойчивости пшеницы имеет не только теоретическое, но и практическое значение.

Одним из путей для решения данной проблемы связано с расширением арсенала методов повышения генетического разнообразия за счет применения культивируемых

клеток растений. Более надежным является использование культуры незрелых зародышей пшеницы *in vitro* с целью получения устойчивых растений пшеницы к неблагоприятным стрессорам, что и являлось задачей данной работы.

Объекты, методы и условия исследований. В качестве объектов исследований использовали такие сорта пшеницы, как Сомони, Навруз, широко используемые в Таджикистане, а также сорт Эритроспермум. Для культуры каллуса из зрелых зародышей использовали общепринятую методику с различными изменениями [Файзиева, 2009].

Выделение зародышей злаковых и приготовление среды. Незрелые зародыши пшеницы изолировали на стадии молочной спелости (на 5-8 день после образования завязей), промывали в дистиллированной воде и стерилизовали в растворе диацета в течение 7-10 минут. После стерилизации промывали дистиллированной водой 3-4 раза по 3-5 мин, затем извлеченные зародыши, помещали в пробирку на агаризованные (7%) культивируемые среды Мурасиге и Скуга (МС) с различным содержанием ауксинов и цитокининов. Освещенность – 600 лк, влажность – 80-85% в регулируемой комнате. Общая продолжительность каллусообразования составила 50-60 дней от начала посадки эксплантов на среду МС.

Результаты исследования и их обсуждения. Средой для культивирования служила среда Мурасиге и Скуга – МС с различными добавками фитогормонов, углеводов, амидов, аминокислот в различных сочетаниях (таблица).

Таблица.

Состав питательных сред для каллусогенеза для генотипов пшеницы (в колонке 1 указаны номера сред выращивания)

№	Компоненты среды						Сорта пшеницы		
	кинетин	2.4-Д	ИУК	НУК	6-БАП	аспарагин	Сомони	Навруз	Эритро сперму м
1	0.5						-	-	+
2		0.5				10	-	-	+
3			0.5			10	+	+	+
4				0.5			-	+	-
5					1.0		+	-	-
6		0.5				10	++	++	++
7	0.5	0.5				10	+	+	-
8	0.2		0.5			10	++	++	++
9	0.2		0.5			10	+	++	+
10	0.2			0.5		10	+++	+++	++
11	0.2	0.2	0.5			10	++	++	+++
12	0.2	0.2		0.5		10	++	+++	++

Как видно из таблицы, мы учитывали соотношение цитокининов и ауксинов в культуральных средах для выращивания зародышей злаковых растений.

Образование каллуса на средах, содержащих БАП, было не очень высоким, при этом каллус образовывался на поздних этапах культивирования зародышей (среда № 5).

Образование морфогенных структур наблюдалось на средах, содержащих НУК, ИУК, кинетин как в отдельности, так и в различных их сочетаниях (среды № 7-12).

Образование морфогенных структур (каллус, адвентивные почки, глобулы) отмечено на средах, содержащих ИУК и кинетин в сочетании с аспарагином (№ 8, 9).

Хорошо шел морфогенный процесс на среде, содержащей НУК и кинетин в сочетании с аспарагином (среда № 10).

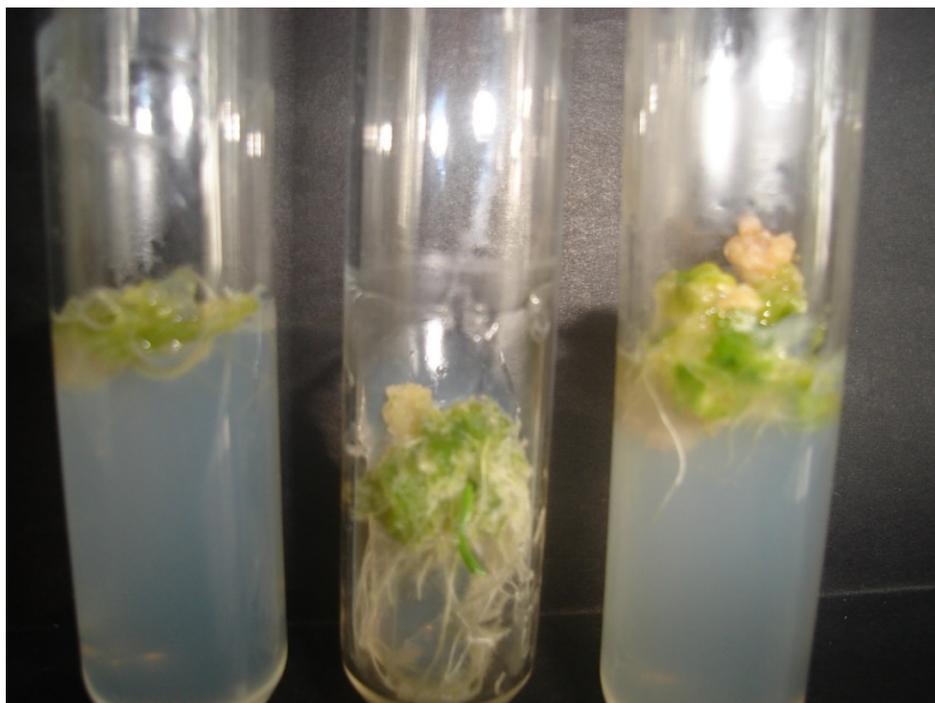


Рисунок. Образование морфогенных структур из незрелых зародышей пшеницы.

Анализ данных показал, что среду № 10 можно рекомендовать как основную для биотехнологии злаковых растений (возможно для клонального микроразмножения пшеницы).

На основе полученных результатов можно заключить, что зародыши культурных растений при их культивировании в определенных условиях формируют каллус. Процесс каллусообразования и появления морфогенных клеток являются независимыми процессами и контролируются различными группами генов. Органогенез и морфогенез злаковых растений тесно связаны с определенным соотношением фитогормонов и углеводов в культуральной среде. Также показано, что в процессе ускорения морфогенетических потенций злаковых растений значительную роль играет правильный подбор концентрации цитокининов и ауксинов и их дифференцированное применение для индукции морфогенеза. Обнаружено также некоторая сортоспецифичность ауксинов и цитокининов при культивировании незрелых зародышей пшеницы *in vitro*.

Таким образом, нам удалось отобрать состав питательных сред, способствующих интенсивному формированию морфогенных структур для различных генотипов злаковых растений. Данные результаты являются необходимыми для дальнейших исследований по получению стрессоустойчивых (засуха, засоление) растений пшеницы методами клеточной технологии.

Литература

Алиев К.А., Давлятназарова З.Б., Алиева С.К. Сельскохозяйственная биотехнология как основа продовольственной безопасности населения. – Мат-лы Республ. научн.-практ. конф. “Продовольственная безопасность Республики Таджикистан”. – Душанбе, 2005. – С. 209–213.

Бутенко Р.Г. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнологии на их основе. – Москва: ФБК Пресс, 1999. – 159 с.

Глеба Ю.Ю. Биотехнология растений. Сорровский образовательный журнал, 1998. – С. 3–8.

Просад М.Н. Практическое использование растений для восстановления экосистем, загрязненных метаболитами // Физиология растений. – 2003. – № 5. – С. 764–781.

Файзиева С.А. Регенерационная активность разных генотипов пшеницы и эгилопса в культуре *in vitro*. – Автореф. дисс... к.б.н. – Душанбе. – 2009.

MAKING MORPHOGENIC CALLI OF DIFFERENT WHEAT GENOTYPES TO *IN VITRO* CULTURE

S.A. Faizieva¹, U.K. Aliev², F.B. Hujamerova¹, K.A. Aliev²

¹Interstate educational institution of the higher education «Russian-Tajik (Slavonik)» university, Dushanbe, Tajikistan, *fayz.sadaf@mail.ru*

²Institute of botany, plant physiology and genetics of Academy of Sciences Republic of Tajikistan, Dushanbe, Tajikistan, *lab.gen@mail.ru*

Abstract. Studied the ratio of cytokinins and auxin in a variety of cultural mediums by the cultivation of wheat germ *in vitro* and the formation of morphogenic structures. The process of callus formation and morphogenic cells appearance are independent processes and controlled by different gene groups.

Keywords: *wheat germ, morphogenic calli, phytohormones*