

**А.А. Шилманова, К. Касымхан, А.К. Парменова, А.К. Амирова, Н.К. Бишимбаева**

*РГП «Институт биологии и биотехнологии растений»  
г. Алматы.*

## ПОЛУЧЕНИЕ СКОРОСПЕЛЫХ ФОРМ ПШЕНИЦЫ ИЗ ДЛИТЕЛЬНО- КУЛЬТИВИРУЕМЫХ КАЛЛУСОВ

Получены растения-регенеранты из длительно культивируемых эмбриогенных каллусов 28 коммерчески важных сортов яровой мягкой пшеницы. Проведено фенологическое и морфологическое изучение, анализ элементов структуры урожая растений-регенерантов R<sub>1</sub> поколения. Отобраны линии перспективные для получения скороспелых форм яровой мягкой пшеницы с комплексом ценных признаков. Из 70 соматоклональных линий R<sub>1</sub> поколения выделено 25 скороспелых линий, опережающих исходные сорта по срокам созревания на 2-7 дней; из них по продуктивности отобрано 11 линий, по признаку засухоустойчивости – 7 линий. В итоге по комплексу ценных признаков – скороспелость, урожайность, засухоустойчивость, отобрано 4 соматоклональных линии R<sub>1</sub> поколения.

*Ключевые слова:* биотехнология, культура тканей растений, селекция, пшеница, регенерация, соматоклональные варианты, скороспелость.

### **Введение**

Пшеница является важнейшей продовольственной, кормовой и экспортной сельскохозяйственной культурой Казахстана. Основные площади возделывания яровой пшеницы находятся в северных областях Казахстана, характеризующихся поздней весной, ранней осенью, коротким и засушливым летним периодом. Ввиду растянутости продолжительности вегетационного периода в этих условиях большинство коммерческих сортов - среднепоздних и поздних, попадает под осенние осадки и невзгоды (заморозки и т.д.), в силу чего значительная часть урожая имеет повышенную влажность, и, как правило, загнивает, что естественно, приносит большой экономический ущерб. Поэтому создание скороспелых форм и сортов основной продовольственной культуры - яровой пшеницы, является весьма актуальной задачей.

Одним из основных дополнительных биотехнологических инструментов повышения генетического разнообразия отечественной пшеницы считается изменчивость, накапливаемая клетками в процессе культивирования *in vitro* и передающаяся полученным из них растениям-регенерантам [1, 2]. В Казахстане и за рубежом достаточно много исследований, посвященных получению форм растений устойчивых к абиотическим и биотическим стрессовым факторам при помощи методов биотехнологии. Однако, недостаточно исследований, посвященных биотехнологическому получению скороспелых форм

Нами разработана генотип-независимая клеточная технология длительной регенерации растений [3], позволяющая получать растения-регенеранты любого генотипа яровой мягкой пшеницы из многократно субкультивируемых каллусов. С использованием этой технологии получены скороспелые формы с комплексом хозяйственно-ценных признаков (повышенная продуктивность, устойчивость к полеганию и т.д.) на основе двух генотипов яровой пшеницы. Целью данной работы является изучение возможности получения скороспелых форм с ценными признаками у 28 коммерчески важных сортов яровой пшеницы с использованием данной технологии. Для достижения этой цели

необходимо было получить растения-регенеранты из каллусов 4-5 пассажей, получить семена  $R_0$ ,  $R_1$  поколений от самоопыления, провести фенологическое, морфологическое изучение и анализ структуры урожая растений-регенерантов  $R_1$  поколения, отобрать скороспелые формы с комплексом ценных признаков.

#### **Материалы и методы**

Объектами исследования служили 28 коммерчески важных сортов яровой мягкой пшеницы нового поколения (Самгау, Алмакен, Казахстанская 75, Астана-2, Карабалыкская 98, Байтерек, Новосибирская 15, Омская-36, Асар, Арай, Жазира, Казахстанская 17, Казахстанская раннеспелая, Казахстанская 10, Казахстанская 15, Карагандинская 22, Карагандинская 30, Надежда, Ертис 7, Павлодарская 93, Павлодарская 8, Секе, Бекзат, Кондитерская яровая, Павлодарская Юбилейная, Лютесценс 90, Отан и Целинная 3С). В качестве эксплантов для индукции каллусов пшеницы служили незрелые зародыши длиной 1,0-1,4 мм, которые высаживали на агаризованную питательную среду Мурасиге и Скуга (МС) [4], дополненную 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты (2,4-Д) - 1,0 мг/л и 5,0 мг/л. Каллусы инкубировали на свету при 16-часовом фотопериоде и температуре  $24 \pm 2^\circ\text{C}$  и субкультивировали через каждые 30 дней на свежие питательные среды того же состава. Растения-регенеранты получали из каллусов 4-5 пассажей и пересаживали на среду для укоренения МС с 0,1 НУК или МС с 0,5 ИУК.

Для получения семенного материала  $R_1$  поколения проводили выращивание в теплице растений-регенерантов  $R_0$ , полученных из длительно культивируемых каллусных тканей. Семена  $R_1$  растений-регенерантов высаживали в грунт на экспериментальном участке ИББР. Фенологическое, морфологическое изучение и анализ структуры урожая растений-регенерантов  $R_1$  поколения проводили общепринятыми методами [5]. Обработку данных проводили статистическими методами [6].

#### **Результаты и обсуждение**

Согласно разработанной нами клеточной технологии первым этапом получения длительно культивируемых каллусных тканей является получение глобулярных каллусов, из которых на модифицированной питательной среде МС индуцируют эмбриогенные ткани [3]. В соответствии с этим, на первом этапе нами получены первичные глобулярные каллусы из незрелых зародышей 28-ти сортов яровой мягкой пшеницы (Самгау, Алмакен, Казахстанская 75, Астана-2, Карабалыкская 98, Байтерек, Новосибирская 15, Омская-36, Асар, Арай, Жазира, Казахстанская 17, Казахстанская раннеспелая, Казахстанская 10, Казахстанская 15, Карагандинская 22, Карагандинская 30, Надежда, Ертис 7, Павлодарская 93, Павлодарская 8, Секе, Бекзат, Кондитерская яровая, Павлодарская Юбилейная, Лютесценс 90, Отан и Целинная 3С) на питательной среде МС, дополненной 1,0 и 5,0 мг/л 2,4-Д. Далее, из глобулярных каллусов на модифицированной питательной среде МС с 1,0 мг/л 2,4-Д и удвоенной концентрацией макроэлементов были индуцированы длительно культивируемые эмбриогенные регенерационно-способные каллусные ткани 28 сортов пшеницы. Выход длительно культивируемых эмбриогенных каллусов колебался от 6,3% до 77,4% в зависимости от сорта (таблица 1).

Количество растений-регенерантов из длительно культивируемых эмбриогенных каллусов 4-5 пассажей варьировало от 3 до 20 растений-регенерантов в зависимости от генотипа (таблица 1). Растения-регенеранты укореняли и выращивали в грунте в условиях теплицы для получения семенного материала  $R_0$ .

Всего в условиях теплицы было выращено 214 растений-регенерантов  $R_0$  поколения, полученных из длительно культивируемых каллусных тканей 4-5 пассажа 28 сортов пшеницы. Из 214 растений-регенерантов  $R_0$  поколения, полученных в культуре тканей, выжило 155 растений, из которых 62 - формировали пустые колосья без семян. Получены семена  $R_1$  поколения от самоопыления из оставшихся 93-х растений-регенерантов 16 коммерчески важных сортов пшеницы: Алмакен, Казахстанская 75, Казахстанская ранне-

Таблица 1 – Морфогенез и регенерация растений в культуре тканей коммерчески важных сортов яровой мягкой пшеницы

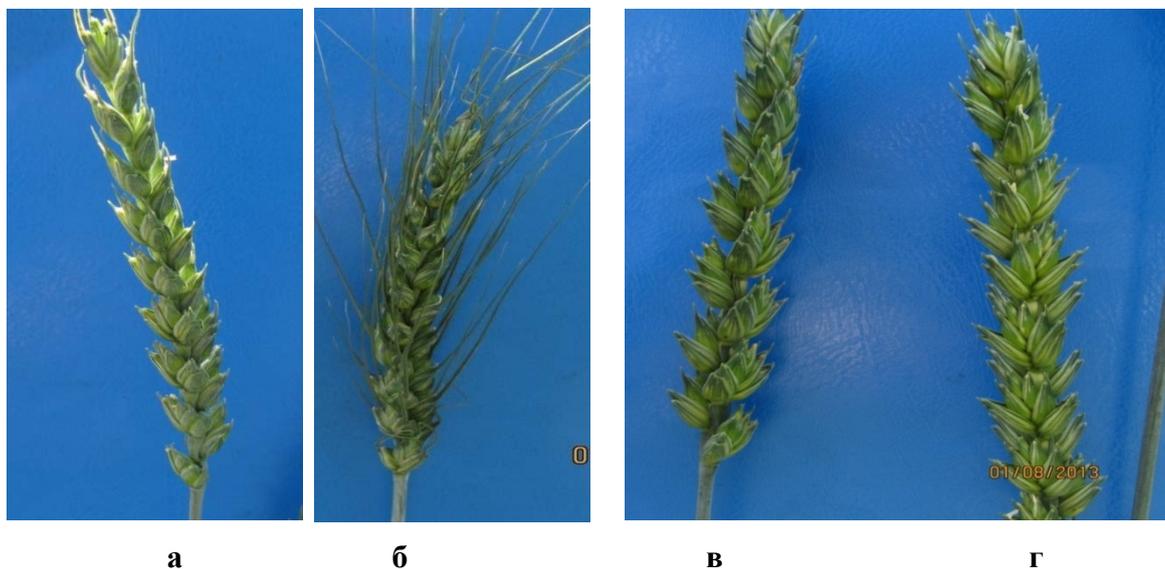
Сорта	Глобулярные каллусы, %	Длит. культив. эмбриоген. каллусы, %	Общее к-во получ. растений регенерантов	К-во высаженных раст. в грунт	К-во высаж. раст. на укоренение
Арай	71,0	29,0	6	1	-
Омская 36	61,8	38,2	19	19	19
Жазира	31,2	68,8	9	4	4
Казахстанская 17	77,8	22,2	10	10	10
Казахстанская раннеспел.	79,2	20,8	5	2	1
Карабалыкская 98	24,4	75,6	16	9	9
Лютесценс 90	78,6	21,4	5	2	2
Казахстанская 10	93,7	6,3	5	1	1
Байтерек	42,5	57,5	20	10	9
Бекзат	48,3	51,7	15	10	10
Карагандинская 22	22,6	77,4	17	17	17
Казахстанская 15	46,8	53,2	7	7	7
Казахстанская 75	34,2	65,8	14	14	14
Павлодарская юбил.	74,2	25,8	7	5	5
Карагандинская 30	40,9	59,1	10	8	8
Асар	58,8	41,2	5	5	-
Астана 2	51,7	48,3	6	1	1
Павлодарская 8	66,7	33,3	5	5	-
Самгау	90,0	10,0	7	7	-
Кондитерская яровая	64,7	35,3	13	8	8
Ертис 7	54,5	45,5	8	7	5
Павлодарская 93	83,3	16,7	6	6	-
Новосибирская 15	53,8	46,2	3	3	2
Алмакен	92,8	7,2	10	8	4
Секе	50,0	50,0	5	3	2
Надежда	40,0	60,0	6	6	6
Целинная 3С	62,9	43,3	30	28	26
Отан	84,1	46,7	45	45	44

спелая, Бекзат, Надежда, Байтерек, Новосибирская 15, Омская-36, Жазира, Казахстанская 15, Карагандинская 22, Карагандинская 30, Ертис 7, Секе, Кондитерская яровая, Отан, Целинный 3С.

Семена растений-регенерантов R<sub>1</sub> поколения 70 из 93 соматоклональных линий выращивали на экспериментальном участке ИББР для получения семян R<sub>2</sub> поколения. В результате, получены семена R<sub>2</sub> поколения от самоопыления 70-ти растений-регенерантов 15 коммерчески важных сортов пшеницы: Алмакен, Казахстанская 75, Карабалыкская 98,

Байтерек, Новосибирская 15, Омская-36, Жазира, Казахстанская 15, Карагандинская 22, Карагандинская 30, Ертис 7, Секе, Кондитерская яровая, Отан, Целинный 3С.

Проведено морфологическое и фенологическое изучение растений-регенерантов R1 поколения в полевых условиях. Среди морфологических особенностей у сорта Целинная 3С выявлены остистые соматоклональные линии (рисунок 1 а, б). У сорта Отан соматоклональные линии отличались более крупным колосом по сравнению с исходным сортом (рисунок 1 в, г).



Обозначения: (а) – исходный сорт Целинная 3С; (б) – остистая линия с. Целинная 3С; (в) – исходный сорт Отан; (г) – крупноколосая линия с. Отан.  
Рисунок 1 – Морфология растений-регенерантов R1 поколения.

В результате фенологических наблюдений отобраны скороспелые формы растений-регенерантов R<sub>1</sub> поколения. Колошение и цветение наступало раньше у растений-регенерантов 6-ти сортов - Омская 36, Байтерек, Целинный 3С, Карагандинская 30, Новосибирская 15, Алмакен, Кондитерская яровая. Выделено 25 скороспелых линий растений-регенерантов R<sub>1</sub>, опережающих исходные сорта по срокам созревания на 3-6 дней, которые относятся к 11 сортам и одной гибридной комбинации (Алмакен, Казахстанская 75, Байтерек, Омская-36, Казахстанская 15, Карагандинская 30, Новосибирская 15, Ертис 7, Кондитерская яровая, Целинный 3С, Отан и гибридная линия Г4).

По результатам структурного анализа по признаку «количество зерен в главном колосе» выделены 11 соматоклональных линий сортов Карагандинская 30, Алмакен, Кондитерская яровая, Байтерек, Казахстанская-75, Целинная 3С, Ертис -7, превышающие по данному показателю исходные сорта. Из 25 скороспелых линий отобрано 11 соматоклональных линий (2.1.1; 5.1.1; 9.2.1; 4.3.1; 1.1.1; 5.1.1; 8.2.1; 8.2.2; 9.7.1 и 6.1 и 6.2), опережающих исходные сорта по признаку «масса зерен с главного колоса», относящихся к сортам Карагандинская 30, Алмакен, Кондитерская яровая, Байтерек, Казахстанская-75, Целинная 3С, Ертис -7 и гибридной линии Г4.

Из рисунка 2 видно, что среди указанных 25 линий по признаку «длина верхнего междоузлия», коррелирующему с засухоустойчивостью, выделяются 8 линий, из них 4 линии относятся к 1 группе – превышение исходного сорта на 7-16 см, ко 2-ой группе – 4 линии, превышение на 3 -5 см:

- 1-ая группа – длина верхнего междоузлия составляет 7 - 16 см:
- 1) № 2.1.1 сорта Карагандинская - 30 - превышение на 13 см
  - 2) № 8.2.1 - превышение на 16 см.
  - 3) № 8.2.2 сорта Казахстанская-75 – превышение на 13 см.
  - 4) № 9.7.1 сорта Целинная 3С - превышение на 7 см.
- 2-ая группа – длина верхнего междоузлия составляет 3 - 5 см:
- 1) № 9.2.1 гибридной линий Г 4 – превышение на 3 см.
  - 2) № 7.2.1 сорта Омская 36 – превышение на 3 см.
  - 3) № 7.2.2 сорта Омская 36 – првышение на 3 см.
  - 4) № 9.5.1 сорта Целинная 3 С – превышение на 5 см.



Обозначения: № 2 Карагандинская-30 сорт; № 2.1.1 Карагандинская-30, соматоклональная линия; № 5 Казахстанская - 15 сорт; № 5.1.1 Казахстанская - 15, соматоклональная линия; № 9 Г 4 сорт; № 9.2.1 Г 4 дигиплоидная линия; № 7 Омская-36; № 7.2.1 Омская-36, соматоклональная линия; № 7.2.2 Омская-36, соматоклональная линия; № 7.3.1 Омская-36, соматоклональная линия; № 4 Алмакен сорт, контроль; № 4.2.1 Алмакен, соматоклональная линия; № 4.3.1 Алмакен, соматоклональная линия; № 1 Кондитерская яровая; № 1.1.1 Кондитерская яровая, соматоклональная линия; № 2 Карагандинская-30 сорт; № 2.2.1 Карагандинская-30, соматоклональная линия; № 5 Байтерек сорт; № 5.1.1 Байтерек, соматоклональная линия; № 8 Казахстанская-75 сорт; № 8.2.1 Казахстанская-75, соматоклональная линия; № 8.2.3 Казахстанская-75, соматоклональная линия; № 9 Целинная 3С сорт; № 9.3.1 Целинная 3С, соматоклональная линия; № 9.3.2 Целинная 3С, соматоклональная линия; № 9.5.1 Целинная 3С, соматоклональная линия; № 9.7.1 Целинная 3С, соматоклональная линия; № 9.7.3 Целинная 3С, соматоклональная линия; № 9.7.4 Целинная 3С, соматоклональная линия; № 9.8.1 Целинная 3С, № 10 Отан сорт; № 10.5.1 Отан, соматоклональная линия; № 10.6.2 Отан, соматоклональная линия; № 11.1.1 Новосибирская-15, соматоклональная линия; № 6 Ертис 7 сорт; № 6.1.1 Ертис 7; № 6.2.1 Ертис 7.

Рисунок 2 – Вариабельность по признаку «длина верхнего междоузлия» (участок ИББР).

### Выводы

При помощи разработанной нами клеточной технологии длительной регенерации *in vitro* получены растения-регенеранты из эмбриогенных каллусов 4-5 пассажа 28 коммерчески важных сортов пшеницы. Получен семенной материал соматоклональных линий R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> поколений от самоопыления 70-ти растений 15 сортов пшеницы.

В результате фенологического, морфологического изучения и анализа элементов структуры урожая растений-регенерантов R<sub>1</sub> поколения отобраны линии перспективные для получения скороспелых форм яровой мягкой пшеницы с комплексом ценных признаков:

- из 70 соматоклональных линий R<sub>1</sub> поколения выделено 25, опережающих исходные сорта по срокам созревания на 2-7 дней; из них по продуктивности отобрано 11 линий, по признаку засухоустойчивости – 7 линий. По комплексу ценных признаков – скороспелость, урожайность, засухоустойчивость, отобрано 4 соматоклональных линии R<sub>1</sub> поколения.

#### Литература

1 Larkin P.J., Scowcroft W.R. Somaclonal variation – a novel source of variability from cell culture for plant improvement // Theor. And Appl. Genet. – 1981. – Vol. 60, №4. – P. 197-214.

2 Сидоров В.А. Биотехнология растений. Клеточная селекция / Отв. Ред. Глеба Ю.Ю. – Киев: Наукова Думка, 1990. – 280 с.

3 Бишимбаева Н.К., Амирова А.К., Беглов Р.Б., Карабаев М.К., Рахимбаев И.Р. Разработка биотехнологических методов для генетического улучшения пшеницы //Материалы республиканского научно-практического семинара «Итоги выполнения РНТП Ц0252 «Научно-техническое обеспечение и организация производства биотехнологической продукции в Республике Казахстан» на 2001-2005 гг. – Астана. – 2005. – С. 8-15.

4 Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // Physiol. Plant., 1962. – Vol. 15. – P. 473-497.

5 Апробация сельскохозяйственных культур Казахстана / Под ред. Н.Л. Удольской, И.В. Соснина и А.И. Пастухова. – Алма-Ата: Кайнар, 1974. – С. 4-12.

6 Лакин Г.Ф. Биометрия. – М.: Высшая школа, 1990. – 352 с.

А.А. Шилманова, К. Касымхан, А.К. Парменова, А.К. Амирова, Н.К. Бишимбаева

#### БИДАЙДЫҢ ТЕЗ ПІСІП ЖЕТІЛЕТІН ФОРМАЛАРЫН ҰЗАҚ МЕРЗІМДІ ӨСІРІЛГЕН КАЛЛУСТАРДАН АЛУ

Жаздық жұмсақ бидайдың 28 коммерциялық маңызды сорттарынан ұзақ мерзімді өсірілген эмбриогенді каллустарынан өсімдік регенеранттары алынды. Тез пісіп жетілу, өнімділік, құрғақшылыққа төзімділік сияқты құнды белгілер жүйесі бидайдың тез пісіп жетілетін формаларын алу үшін перспективті линиялар сұрыпталды.

*Кілттік сөздер:* биотехнология, өсімдік ұлпа культурасы, селекция, бидай, регенерация, соматоклональды варианттар, тез пісіп жетілу.

А.А. Shilmanova, K. Kasymkhan, A.K. Parmenova, A.K. Amirova, N.K. Bishimbayeva

#### OBTAINING OF PRECOCIOUS WHEAT FORMS FROM LONG-TERM CALLUS TISSUES

Regenerated plants were obtained from long-term embryogenic calli of 28 commercially important varieties of spring soft wheat. Somaclonal lines perspective for the obtaining of wheat precocious forms with a set of valuable features - precocity, high yield, drought resistance, have been selected.

*Key words:* biotechnology, plant tissue culture, breeding, wheat, regeneration, somaclonal variants, precocity.