

## ВВЕДЕНИЕ В КУЛЬТУРУ *IN VITRO* НЕКОТОРЫХ СОРТООБРАЗЦОВ ЯЧМЕНЯ, ИНТРОДУЦИРОВАННЫХ ИЗ МЕЖДУНАРОДНОГО ЦЕНТРА ICARDA

Азербайджан – страна с широким спектром почвенно-климатических условий и богатым видовым разнообразием растений [1]. Сохранение и использование природных растительных ресурсов для решения ряда продовольственных задач, в том числе и обеспечения продовольственной безопасности, является главной целью селекционеров страны. В свете положения о расширении растительного биоразнообразия наряду с дикими видами растений, которые хорошо приспособлены к условиям произрастания и являются основой для создания местных сортов, учеными ряда стран в селекционный процесс вовлекается большое количество генотипов, полученных из коллекций различных Международных центров [2–4].

Надо отметить, что среди зерновых культур в Азербайджане после пшеницы второе место по площади выращивания занимает ячмень. Урожайность этой культуры непосредственно зависит от устойчивости к неблагоприятным факторам окружающей среды и в среднем по стране, в зависимости от года выращивания, достигает 20–25,8 ц/га [5]. Мониторинг урожайности ячменя в различных климатических зонах Азербайджана показал, что для нужд животноводства и обеспечения сырьем промышленности необходимо создание высокоурожайных сортов. Учитывая важность исходного материала в создании высокоурожайных сортов зерновых культур, устойчивых к полеганию, поражению болезнями и с высоким качеством зерна, Азербайджанским научно-исследовательским институтом земледелия проводятся исследования совместно с Международным центром по сельскохозяйственным исследованиям в засушливых зонах ICARDA, которые начаты в 1996 году и успешно продолжаются по нынешний день. Из ICARDA в Азербайджан интродуцируются питомники ячменя с сортаобразцами различного назначения. Все сортаобраз-

цы проходят полевые испытания по выявлению хозяйственно-ценных генотипов, устойчивых к стрессовым воздействиям в конкретных почвенно-климатических условиях страны. Жесткий отбор по указанным признакам позволил выделить формы, которые были вовлечены в гибридизацию в качестве исходного материала для улучшения генотипов районированных и перспективных местных сортов [6].

В институте, наряду с фенологическими и полевыми исследованиями, проводятся исследования с применением современных технологий, в том числе и технологии *in vitro*. Основу технологии *in vitro* составляют культуры клеток и тканей. Исходя из этого, целью данной работы было получение клеточных культур ряда сортообразцов различных питомников ячменя, интродуцированных из ICARDA.

### Материалы и методы

В качестве исходного материала использовались 12 сортообразцов ячменя из питомников различного назначения: IBSGP (entry 14), IBPMGP (entry 16), IBSTGP (entry 11), İNBYT (entry 20), İBON-НІ (entry 4, 20, 58, 62, 76, 80), İEBON (entry 13, 24). Образцы отличались по количеству рядов, высоте растения, срокам созревания, степени адаптивности к почвенно-климатическим условиям. Практически все образцы устойчивы к мучнистой росе, ринхоспориозу и гельминтоспориозу.

В качестве эксплантов использовались зрелые зародыши и этиолированные проростки всех указанных сортообразцов. Перед вычлениением зрелых зародышей и последующим проращиванием зерновки последовательно стерилизовали в 70 % этаноле в течение 5 мин, затем в растворе гипохлорита натрия с содержанием основного вещества 5 % в течение 20 мин и трижды промывали стерильной водой (по 1 мин в

каждой смене). Для получения этиолированных проростков простерилизованные зерновки высаживались на ½ среды МС без добавления витаминов и сахарозы. Для индукции каллусогенеза зрелые зародыши и этиолированные проростки культивировались на питательных средах МС и В5 с добавлением 5 мг/л 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты в темноте при 26°C.

Во всех вариантах эксперимента культивация осуществлялась на полутвердых питательных средах.

### Результаты и обсуждения

У высаженных на среды МС и В5 зрелых зародышей сортообразцов entry 4, 20 (IBON-HI) и entry 13 (IBON) на 5–7 день культивирования отмечали образование каллусных клеток. Каллусная ткань была рыхлой консистенции и хорошо пролиферировала (рис. 1).

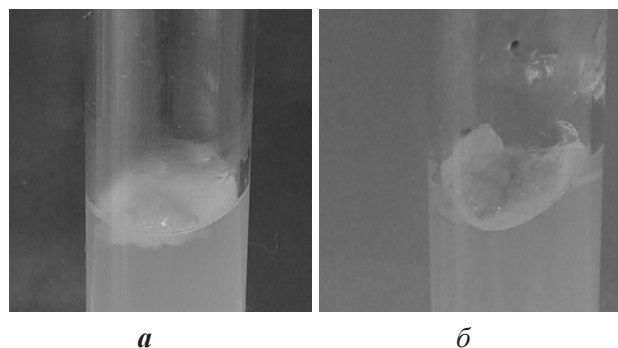


Рис. 1. Полученная из зрелых зародышей пролиферирующая каллусная ткань сортообразцов питомника IBON-HI: entry 4 (а) и entry 20 (б)

У образцов entry 11 (IBSTGP), entry 20 (INBYT), entry 58, 62, 76 (IBON-HI) каллусообразование началось на несколько дней позже, каллусная масса также была рыхлой консистенции, однако менее интенсивно увеличивалась в размерах и имела некротические участки (рис. 2).

На зрелых зародышах образцов entry 14 (IBSGP), entry 16 (IBPMGP), entry 80 (IBON-HI) и entry 24 (IBON) появлялись отдельные каллусные клетки, которые практически не делились.

Имеются данные о сложностях получения каллусной ткани и зависимости образования морфогенного каллуса от продолжительности вегетационного периода сортов ячменя [7–9], что связывают с различием гормонального баланса сортов [10]. Показано также, что системы генов, контролирующие тип развития и фотопериод у зерновых культур *in vivo*, регулируют процессы каллусообразования и пролиферации *in vitro*,

что проявляется в различии данных процессов у скоро- и позднеспелых сортов [11]. Кроме того, определенную роль в каллусо- и морфогенезе *in vitro* играет тип используемого экспланта. Известно, что в молодых развивающихся зародышах уровень эндогенных цитокининов очень высок, а на более поздних стадиях развития семени он быстро снижается [12].

В нашем эксперименте, когда в качестве эксплантов использовались полностью сформировавшиеся зрелые зародыши, различий в каллусообразовании между средне- и позднеспелыми сортами выявлено не было. Но при использовании в качестве экспланта этиолированных проростков индукция каллусогенеза и пролиферация каллусов шли более интенсивно (рис. 3). Каллусогенез был отмечен даже у неперспективных с точки зрения предыдущего эксперимента сортообразцов entry 14 (IBSGP), entry 16 (IBPMGP), entry 80 (IBON-HI) и entry 24 (IBON), причем наряду с каллусной массой в размере увеличивались как стеблевая, так и корневая части, что, вероятно, связано с высоким уровнем эндогенных фитогормонов в тканях этиолированных проростков [13, 14].

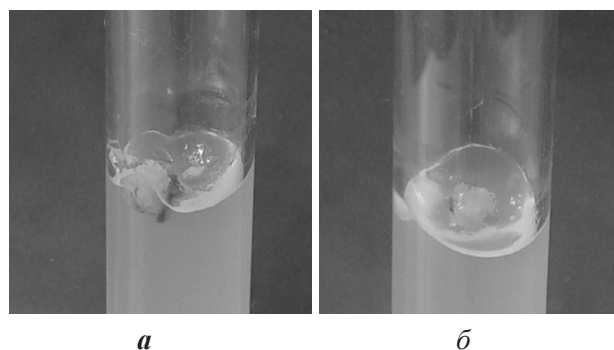


Рис. 2. Каллусогенез из зрелых зародышей сортообразцов питомника IBSTGP: entry 11 (а) и IBON-HI: entry 76 (б)

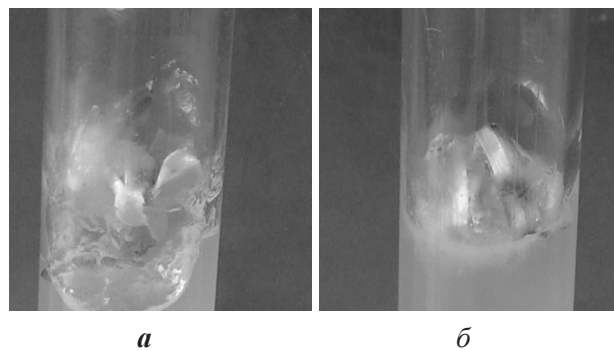


Рис. 3. Каллусогенез на этиолированных проростках (а, б)

Надо сказать, что данный эксперимент четко показал зависимость каллусогенеза от генотипа сортообразца. Так, если в одинаковых условиях культивирования наблюдались сложности при индуцировании каллусогенеза из зрелых зародышей, то на этиолированных проростках этих же сортообразцов формировалась очень слабо пролиферирующая каллусная ткань.

Несмотря на различия минерального состава питательных сред МС и В5 каких-либо значительных отличий в полученных результатах выявлено не было.

Полученные каллусы перенесены на питательные среды для последующей регенерации.

### Выводы

Индуцировать каллусогенез удалось у сортообразцов, относящихся к питомникам IBSTGP,

INBYT, IBON-HI и IEVON. Анализ результатов эксперимента показал зависимость каллусогенеза от генотипа и типа экспланта. В вариантах с этиолированными проростками каллусогенез наблюдался у всех изученных образцов, а процесс пролиферации шел более интенсивно. Для выявления связи адаптивных характеристик питомника со способностью расти в культуре *in vitro* необходимо провести эксперименты с большим количеством сортообразцов в каждом отдельно взятом питомнике.

Данные, освещенные в публикации, представляют один из начальных этапов биохимических и молекулярно-генетических исследований генотипов ячменя, интродуцированных из ICARDA.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Акперов З.И., Мамедов А.Т. Информационная система по генетическим ресурсам растений Азербайджана [Электронный ресурс] // Современные проблемы науки и образования. – 2007. – 6. – С. 9–13. – Режим доступа: [http://www.science-education.ru/download/2007/06/2007\\_06\\_01.pdf](http://www.science-education.ru/download/2007/06/2007_06_01.pdf).
2. Тохетова Л.А. Селекция ячменя на засоленных почвах Приаралья: автореф. дис. на соискан. учен. степени док. биол. наук: спец. 06.01.05 «Селекция и семеноводство». Алмалыбак, 2009. – 50 с.
3. Мамедов З.А., Алиев Э.Б., Талаи Д.М., Мусаев А.Д. Роль и перспективы международного сотрудничества в развитии селекции ячменя в Азербайджане // Сборник научных трудов АЗНИИЗ. – 2010. – 12. – С. 89–91.
4. Ортаев А.К. Изучение номеров ячменя из ИКАРДА в условиях полуобеспеченной богары Казахстана // Вестник Региональной сети по улучшению озимой пшеницы Центральной Азии и Закавказья. – 2002. – № 2. – С. 23–24.
5. Данные Государственного комитета по статистике Азербайджанской Республики [Электронный ресурс] // Веб-портал. – 2014. – Режим доступа: <http://www.stat.gov.az/source/agriculture/>.
6. Мусаев А.Д., Мамедов З.А., Алиев Э.Б., Карибов З.А. Значение первичного материала, полученного из ИКАРДА, в селекции ячменя // Сборник научных трудов АЗНИИЗ. – 2010. – 12. – С. 77–81.
7. Дунаева С.Е., Лукьянова М.В., Ковалева О.Н., Козырева О.Г. Регенерация растений из незрелого зародыша скороспелых и позднеспелых сортов ячменя. 1. Регенерация растений в первичном каллусе полученном от незрелого зародыша // Физиол. растений. – 2000. – 47, № 1. – С. 48–51.
8. Ковалева О.Н. Цитологические аспекты регенерации сортов ячменя: автореф. дис. на соискан. учен. степени канд. биол. наук: спец. 03.00.05 «Ботаника». – Санкт-Петербург, 2000. – 19 с.
9. Курапов П.Б., Скоробогатова И.В., Сиушева А.Г., Соркина Г.Л., Ковалев В.М., Сальникова Е.И. Гормональный баланс различных по засухоустойчивости сортов ячменя // Вестник РАСХН. – 1996. – № 1. – С. 17–19.
10. Чернов В.Е., Пендинен Г.И. Сравнительная оценка каллусогенеза и регенерации у различных видов ячменя // Сельскохозяйственная биология. – 2011. – № 1. – С. 44–53.
11. Жмурко В.В., Аксентьева О.А. Эффекты генов фотопериодической чувствительности и потребности в яровизации на физиолого-биохимические и морфогенетические процессы растений *in vivo* и *in vitro* // Материалы Международной научно-практической конференции «Клеточная биология и биотехнология растений», 13–15 февраля 2013 г. – Минск, Изд. Центр БГУ, 2013. – С. 71.
12. Уоринг Филипс Рост растений и дифференцировка. – Изд. Мир, 1984. – 512 с.
13. Kraepiel Y., Miginiac E. Photomorphogenesis and phytohormones // Plant, Cell and Environment. – 1997. – 20. – P. 807–812.
14. Орлова А.Г. Роль индолилуксусной кислоты в развитии ответной реакции зеленых и этиолированных проростков пшеницы на тепловой шок: автореф. дис. на соискан. учен. степени канд. биол. наук: спец. 03.00.12 «Физиология и биохимия растений». – Нижний Новгород, 2004. – 23 с.

ASADOVA S.SH.<sup>1,2</sup>, GARIBOV Z.A.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Institute of Molecular Biology and Biotechnology of Natl. Acad. Sci. of Azerbaijan, Azerbaijan, AZ 1073, Baku, Metbuat Avenue, 2a, e-mail: biotexnoloqaz@mail.ru

<sup>2</sup> Research Institute of Crop Husbandry, Azerbaijan, Baku, state farm № 2, e-mail: zohrab\_79@mail.ru

### INTRODUCTION OF SOME BARLEY ACCESSIONS TO *IN VITRO* CULTURE INTRODUCED FROM INTERNATIONAL CENTRE ICARDA

**Aim.** From ICARDA in Azerbaijan barley seed nursery introduced with accessions of different purposes. Along with field tests to identify economically valuable genotypes, studies conducted under *in vitro* technology. The aim of this work was to obtain cell cultures of a number of different accessions of different seed nursery, introduced from ICARDA.

**Methods.** *In vitro* methods for the induction of callusogenesis and organogenesis of barley are used. **Results.** When used as explants of mature embryos callus differences between speed and late-ripening varieties have not been identified. In embodiments with etiolated germs, callusogenesis was observed in all the samples studied, and the proliferation process was more intense. **Conclusions.** The obtained data showed a rigid dependence of callusogenesis processes on the genotype and explant used. For comparison of the adaptive characteristics of a particular nursery with the ability to grow *in vitro* conditions it is necessary to carry out experiments with a large number of accessions in each individual nursery.

**Keywords:** barley, callusogenesis, mature corcule, etiolated germs, ICARDA.