

ЗЕМЛЕДЕЛИЕ, АГРОХИМИЯ, КОРМОПРОИЗВОДСТВО, АГРОЭКОЛОГИЯ, ЛЕСНОЕ ХОЗЯЙСТВО И ВОДНЫЕ РЕСУРСЫ

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

SERIES OF AGRICULTURAL SCIENCES

ISSN 2224-526X

Volume 2, Number 38 (2017), 40 – 47

**Y. A. Zhanbyrbaev, B. A. Sarsenbaev,
A. B. Rysbekova, D. T. Kazkeev, A. Muhametshin,
B. N. Usenbekov, I. A. Sartbaeva, B. B. Anapiyaev**

Kazakh national agrarian university, Almaty, Kazakhstan,
Institute of plant biology and biotechnology, Almaty, Kazakhstan,
S. Seifullin Kazah agrotechnical university, Astana, Kazakhstan,
K. Satpayev Kazakh national technical university, Almaty, Kazakhstan.
E-mail: eldos_83@mail.ru, bakdaulet7@yandex.ru, aiman_rb@mail.ru

APPLICATION OF HAPLOID BIOTECHNOLOGY IN COLD TOLERANCE RICE BREEDING

Abstract. For obtaining the haploid of rice the most effective method is the method of isolated anther culture and microspores. In this article shown the results of the study using of anther culture for the rapid obtaining cold tolerance homozygous forms and lines from perspective rice hybrids. For doubled haploids rice 20 combinations of cold tolerance F₁ hybrids generation and 10 varieties of local and foreign selection were used. Anthers were removed from clinical genotypes aseptically and cultured on induction medium agar N6, containing 2 mg/l 2.4 D and 60 g/l maltose. After 28 days was observed in some combinations of callus induction. The average callus formation in all hybrid combinations was 1.0-26.6% of the total planted anthers. For plant regeneration obtained calli were transferred to regeneration medium Murashige and Skoog supplemented with 5 mg/l BAP, 1 mg/l IAA and 500 mg/l casein hydrolyzate. This regeneration medium promoted the formation of green regenerants. It was observed the formation of chlorophyll-defective albino regenerants in F₁ hybrids KazNIIR5 / Kuban 3 (12.5%) and F1 Odaebyeo / Madina (9.0%), while this index in F₁ hybrids Opytnyi/Kuban 3, F1 KazNIIR5 /Opytnyi and F1 Avangard/Opytnyi were 5.0%, 4.9% and 5.4% respectively. At the results of research doubled haploid - regenerate were obtained from F₁ hybrid combinations Liman/Jinbubyeo, KazNIIR5 /Opytnyi, Marzhan/Lyman and Odaebyeo/Madina.

Keywords: rice, cold resistance, haploid biotechnology, anthers, calli, regeneration, regenerated plants.

**Е. А. Жанбырбаев, Б. А. Сарсенбаев, А. Б. Рысбекова, Д. Т. Казкеев,
А. Мухамежан, Б. Н. Усенбеков, И. А. Сартбаева, Б. Б. Анапияев**

Казахский национальный аграрный университет, Алматы, Казахстан,
Институт биологии и биотехнологии растений, Алматы, Казахстан,
Казахский агротехнический университет им. С. Сейфуллина, Астана, Казахстан,
Казахский национальный технический университет им. К. И. Сатпаева, Алматы, Казахстан

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГАПЛОИДНОЙ БИОТЕХНОЛОГИИ В СЕЛЕКЦИИ РИСА НА ХОЛОДОСТОЙКОСТЬ

Аннотация. Для получения гаплоидов риса наиболее эффективным способом является метод культуры изолированных пыльников и микроспор. В работе показаны результаты исследования по применению культуры пыльников для ускоренного получения гомозиготных холодостойких форм и линий из перспективных гибридов риса. Для получения дигаплоидов риса использованы 20 комбинаций холодостойких гибридов F₁ генерации и 10 сортов отечественной и зарубежной селекции. Пыльники из исследуемых генотипов извлекали в асептических условиях и культивировали на индукционной агаризованной среде N₆, содержащей 2 мг/л 2,4 Д и 60 г/л мальтозы. Через 28 дней в некоторых комбинациях наблюдалась индукция каллусогенеза. Средний показатель каллусообразования по всем гибридным комбинациям составил 1,0-26,6% от количества высаженных пыльников. Для регенерации растений полученные каллусы переносили на регенерационную среду Мурасиге и Скуге с добавлением 5 мг/л БАП, 1 мг/л ИУК и 500 мг/л гидролизат казеина. Данная регенерационная среда способствовало образованию зеленых регенерантов. Было отмечено образование хлорофилл-дефектных регенерантов-альбиносов у гибридов F₁ КазНИИР 5/Кубань 3 (12,5%) и F₁ Odaebyeo /Мадина (9,0%), в то время как этот показатель у гибридов F₁ Опытный /Кубань 3, F₁ КазНИИР5/Опытный и F₁ Авангард /Опытный составил 5,0%, 4,9% и 5,4% соответственно. В результате проведенных исследований получены дигаплоиды - регенеранты из F₁ гибридных комбинаций Лиман/Jinbubyeo, КазНИИР5/Опытный, Маржан /Лиман и Odaebyeo /Мадина.

Ключевые слова: рис, холодостойкость, гаплоидная биотехнология, пыльники, каллусогенез, регенерация, растения-регенеранты.

Введение. Рис является важнейшей сельскохозяйственной культурой, которая обеспечивает основным продуктом питания более половины населения планеты. В настоящее время посевы риса имеются в более чем в 110 странах на площади 147 млн. га с годовым производством зерна свыше 700 млн. тонн. Отмечен рост мирового производства риса в 2011 г. до исторического максимума – 718,3 млн. тонн. По оценке экспертов Продовольственной и сельскохозяйственной организации Объединенных наций (ФАО), в 2012 г. производство риса в мире возросло на 1,7%, и составило 781 млн. тонн, превысив на 2 – 3% спрос на пшеницу. Ожидаемое производство риса к 2020 году прогнозируется в объеме 750 млн. тонн. Следует отметить, что в последние годы наблюдается определенный дефицит риса в мировой торговле, что обуславливает рост цен на него. В перспективе ожидается усиление этого дефицита [1, 2].

Республика Казахстан относится к северным зонам рисосеяния. Посевы риса доходят до 44°51' северной широты (I зона). По природным особенностям зону рисосеяния Республики Казахстан можно разделить на три климатические зоны:

а) I зона-северная (Каратальский, Ақдалинский, Тасмурунский, Чарынский, Казалинские массивы) с суммарной температурой 2700-3250°C.

б) II зона-центральная (Кызылординский, Шиелийский) с суммарной температурой 3250-3600°C.

в) III зона-южная (Тогускенский, Кызылкумский) с суммарной температурой более 3600°C.

Нестабильные давления атмосферы по сезонам в различные годы приводят к резким изменениям климатических условий. Поэтому в Республике Казахстан остро стоит задача по созданию сортов риса устойчивых к пониженным положительным температурам в начальный период роста и формирование всходов, не снижающие полевую всхожесть, и с повышенной силой роста проростков растений [3].

В настоящее время для ускорения селекционного процесса в селекции растений широко применяют гаплоидную биотехнологию, которое позволяет получить гомозиготную форму за одну генерацию. При традиционных методах селекции на это необходимо 5-7 поколений [4].

Для получения гаплоидов риса наиболее эффективным методом является метод культуры изолированных пыльников и микроспор. Успех получения гаплоидов в культуре пыльников зависит от таких факторов как генотип и условия выращивания донорных растений, стадии развития микроспор и условий культивирования пыльников в питательной среде. С применением метода культуры пыльников и микроспор создан ряд сортов и улучшенных линий риса в Китае, Корее, Японии, США, России, Италии и многих других странах [5, 6]. Культура пыльников была применена для получения выносливых к затоплению [7], солеустойчивых [8, 9] и холодостойких линий риса [10], а также созданы линии с высокой питательной ценностью и качеством зерна [11].

Целью исследования является применение культуры пыльников для ускоренного получения гомозиготных холодостойких форм и линии из перспективных гибридов риса.

Материалы и методы. Культура изолированных пыльников *in vitro*. Донорные растения срезали в фазу трубкования и помещали в холодильник для холодовой обработки при температуре +4°C на трое суток. Поверхностную стерилизацию метелок проводили в ламинарном боксе, 70% этанолом. Индукцию каллусогенеза проводили на питательной среде N6 содержащей 2 мг/л 2,4-Д [12].

Для получения дигаплоидов риса использованы 20 комбинаций холодостойких гибридов F₁генерации и 10 сортов отечественной и зарубежной селекции: F₁Кубань 3/Опытный, F₁Опытный/Маржан, F₁Кубань 3/Баканасский, F₁Опытный/Мадина, F₁Кубань 3/Алтынай, F₁Опытный /Кубань 3, F₁Лиман/Jinbubyeo, F₁КазНИИР 5/Опытный, F₁КазНИИР 5/Кубань 3, F₁Кубань 3/Лиман, F₁Маржан/Лиман, F₁Авангард/Опытный, F₁Odaebyeo/Мадина, F₁Алтынай/Опытный, F₁Jinbubyeo/Авангард, F₁КазНИИР 5/Алтынай, F₁Авангард/КазНИИР5, F₁УзРос7-13/Маржан, F₁FL478/Todorokiwase, Odaebyeo, Jinbubyeo, КазЕр-6, Тогусен 1, Опытный, ПакЛи, КазНИИР 5, Кубань 3, Алтынай, Ко 293, IRRI мутант. Все донорные растения выращивали в оранжерее.

Для увеличения эффективности получения гаплоидных растений применены различные модифицированные варианты питательных сред. После холодовой обработки при температуре +5+7°C в течении 5 суток, пыльники извлекали в асептических условиях и культивировали на индукционной агаризованной среде N6 [13] содержащая 2 мг/л 2,4-Д и 60 г/л мальтозы.

Результаты и обсуждение. Пассированные пыльники гибридов риса на N6 среде культивировали при температуре 25 °C в темноте. Количество высаженных пыльников для каждой комбинации составило от 180 до 720 шт. Через 28 дней в некоторых комбинациях наблюдалась индукция каллусогенеза (рисунок 1).

Средний показатель каллусообразования по всем гибридным комбинациям составил 1,0-26,6% от количества высаженных пыльников (таблица 1).

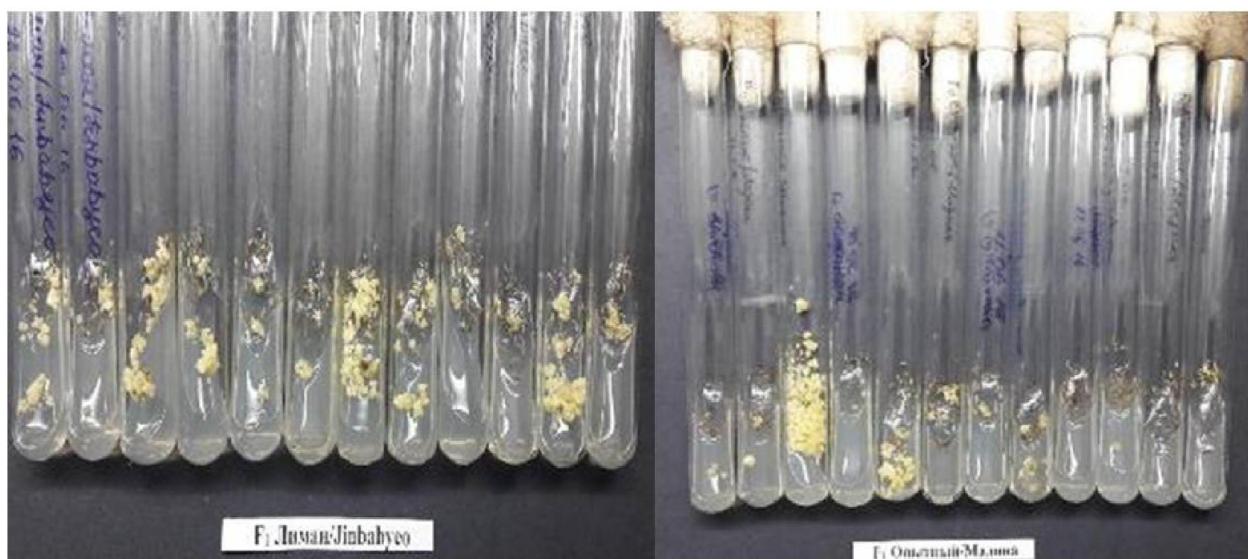


Рисунок 1 – Опыты по культуре пыльников риса для получения холодостойких линий

Таблица 1 – Частота каллусогенеза в культуре пыльников риса холодостойких генотипов

Генотип	Количество пассированных пыльников, шт	Количество каллусов, шт.	Частота каллусогенеза, %
F ₁ Авангард/ КазНИИР 5	620	21	3,3
F ₁ Авангард /Опытный	540	37	6,8
F ₁ Алтынай /Опытный	720	22	3,0
F ₁ КазНИИР 5/Алтынай	280	8	2,8
F ₁ КазНИИР 5/Кубань 3	420	8	1,9
F ₁ КазНИИР5/Опытный	500	61	12,2
F ₁ Кубань 3 /Алтынай	180	33	18,3
F ₁ Кубань 3/ Баканасский	240	64	26,6
F ₁ Кубань 3 /Лиман	280	10	3,5
F ₁ Кубань 3/Опытный	680	21	3,0
F ₁ Лиман /Jinbubyeo	500	104	20,8
F ₁ Маржан / Лиман	440	63	14,3
F ₁ Опытный /Кубань 3	560	78	13,9
F ₁ Опытный/Маржан	220	9	4,0
F ₁ Опытный /Мадина	540	74	13,7
F ₁ УзРОС 7-13/Маржан	400	86	21,5
F ₁ FL478/Todorokiwase	400	4	1,0
F ₁ Jinbubyeo/Авангард	360	4	1,1
F ₁ Odaebyeo /Мадина	420	11	2,6
Алтынай	440	19	4,3
КазЕР-6	280	4	1,4
КазНИИР 5	280	10	3,5
Кубань 3	340	10	2,9
Опытное	300	15	5,0
Пак-Ли	420	–	–
Тугискен	280	8	2,8
Jinbubyeo	380	4	1,0
Odaebyeo	280	28	10,0
Ko 293, IRRI мутант	460	–	–

Как видно, из таблицы 1 у F₁гибридов КазНИИР 5/Кубань 3, F₁Jinbubyeo/Авангард и F₁FL478/Todorokiwase было получено наименьшее количество каллусов (1,9; 1,1 и 1,0%). Известно, что некоторые генотипы риса не отзывчивы в культуре пыльников. Наибольшее количество каллусов наблюдалось у гибридов Кубань 3/Баканасский (26,6%), Лиман/Jinbubyeo(20,8%) и УзРОС 7-13/Маржан (21,5%).

Для регенерации зеленых растений полученные каллусы (диаметр >3 мм) переносили на регенерационную среду Мурасиге и Скуге [14] содержащую 2,5 мг/л БАП, 2 мг/л кинетин, 0,5 мг/л ИУК и 30 г/л сахарозы. Микро-, макроэлементы, сахарозу, мезоинозит автоклавировали, витамины и гормоны стерилизовали фильтрованием через стерильный мембранный фильтр диаметром 0,22 мкм. При охлаждении до 70°C в стерильную питательную среду добавляли фильтрованием витамины и гормоны. Процент регенерации рассчитывали от количества посаженных каллусов. Данная регенерационная среда способствовала образованию зеленых регенерантов у 4 гибридов: F₁Лиман/Jinbubyeo, F₁КазНИИР5/Опытный, F₁Маржан/Лиман и F₁Odaebyeo/Мадина составило 5,7%, 1,6%, 1,5% и 36,3%, соответственно (рисунок 2).

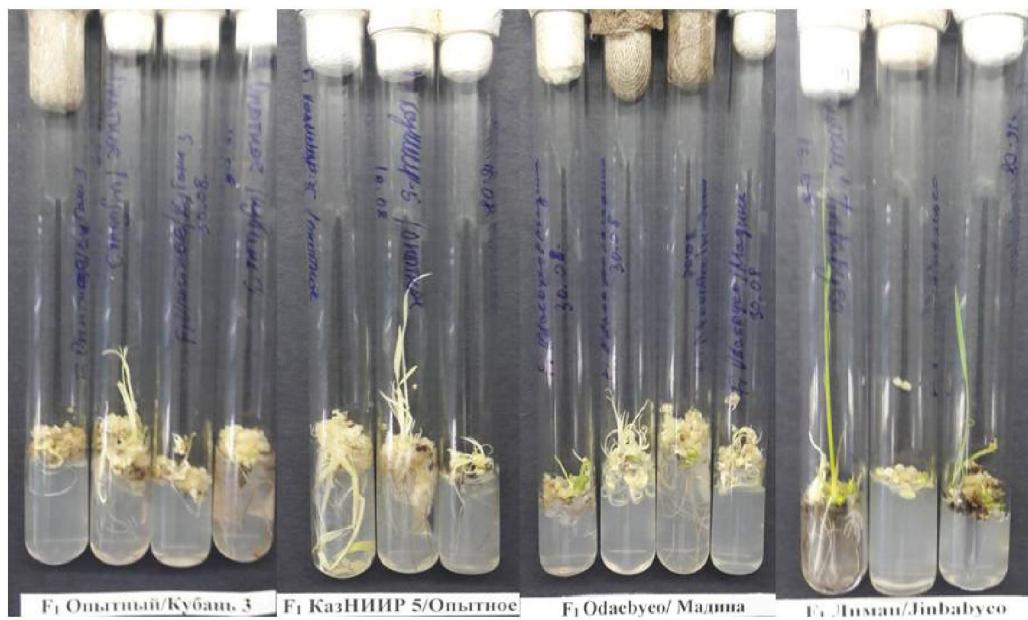


Рисунок 2 – Зеленые растение регенеранты гибридов полученные в культуре пыльников

Наибольшая частота регенерации зеленых растений была у каллусов гибрида F₁Odaabyeo/Мадина. Существует предположений о том, что на начальной стадии микроспоры пластиды находятся в состоянии метаморфоза, подготавливаясь к функционированию в гаметофитном поколении. У микроспориальных клеток, образующихся при холодовой обработке, отсутствуют обычные гаметофитные признаки, они не могут развивать зеленые пластиды из-за дефектов в хлоропластном геноме. Каллусы, возникающие из таких клеток, дают начало альбиносам [15]. Появление альбиносных растений зависит от генотипа донорного растения и условий культивирования. Наибольшее количество образования хлорофилл-дефектных регенерантов-альбиносов отмечена у гибридов F₁КазНИИР 5/Кубань 3 (12,5%) и F₁Odaabyeo /Мадина (9,0%), в то время как этот показатель у гибридов F₁ Опытный /Кубань 3, F₁ КазНИИР5/Опытный и F₁ Авангард /Опытный составил 5,0%, 4,9% и 5,4% соответственно (таблица 2).

Из-за дефектов на уровне ядерного генома микроспоры не способны к полному развитию фотосинтетического аппарата. Альбиносные растения регенеранты риса [16] и ячменя [17] лишенные

Таблица 2 –Частота регенерации сортов и гибридов риса

Генотип	Количество пассированных каллусов, шт.	Количество зеленых регенерантов, шт.	Регенерация зеленых растений, %	Количество альбиносных регенерантов, шт.	Регенерация альбиносных растений, %
F ₁ Кубань 3 /Алтынай	33	–	–	1	3,0
F ₁ Опытный /Кубань 3	78	–	–	4	5,1
F ₁ Лиман /Jinbabyeo	104	6	5,7	–	–
F ₁ КазНИИР5/Опытный	61	1	1,6	3	4,9
F ₁ КазНИИР 5/Кубань 3	8	–	–	1	12,5
F ₁ Маржан / Лиман	63	1	1,5	–	1,5
F ₁ Авангард /Опытный	37	–	–	2	5,4
F ₁ Odaabyeo /Мадина	11	4	36,3	1	9,0
F ₁ Кубань 3/Лиман	10	1	10	–	–
Опытное	15	–	–	2	13,3
Алтынай	19	1	5,2	–	5,2

23S и 16S рРНК не содержат зрелые хлоропласти. В пластидном геноме альбиносных растений пшеницы, ячменя, и риса наблюдаются делеции [18, 19]. В исследовании Э. Галиевой (2001) выявлено два типа альбиносных регенерантов пшеницы андроклинного происхождения – «облигатные» и «факультативные». «Облигатные» растения-альбиносы не содержат хлоропласти ни на одном этапе развития, в то время как «факультативные» растения-альбиносы теряют сформированные хлоропласти и приобретают хлоротические признаки к фазе 3-го листа. Эти данные указывают на существование двух различных клеточных механизмов формирования альбиносов в культуре изолированных пыльников *in vitro*. При проведении ультраструктурного анализа генезиса пластид выявлено, что пластиды зеленых растений-регенерантов проходят стадии пропластид, лейкопластов, милопластов, хлоропластов. Пластиды «облигатных» альбиносных растений-регенерантов проходят стадии пропластид, лейкопластов, амилопластов и затем деградируют, не образуя хлоропласти. Пластиды «факультативных» альбиносных растений-регенерантов, проходя стадии пропластид, лейкопластов, амилопластов, хлоропластов, деградируют в клетках растений в фазе 3-го листа. ПЦР-анализ в пластидах растений альбиносов пшеницы и тритикале полученных в культуре пыльника, выявило изменения цитоплазматических генов в геноме пластид, связанных с фотосинтезом [20]. Предполагается, что делеции фотосинтезирующих генов, особенно *atpB* гена, кодирующий β-субъединицу CF1-комплекса АТФ-синтазы, является основной причиной формирования альбиносных растений в культуре пыльников злаков [21]. Литературные данные свидетельствуют отсутствие единой тщательно отработанной технологии, которая обусловлена тем, что не только для каждого вида, но порой сорта необходимо подбирать специфические процедуры культивирования. Однако, эти сложности носят технический характер и могут быть преодолены. Принципиальные трудности в решении проблемы экспериментальной гаплоидии связаны главным образом с недостаточностью теоретических знаний о механизмах регуляции морфогенеза в культуре пыльников и изолированных микроспор. По частоте регенерации альбиносов генотипы расположились в следующем порядке: Опытное, F₁ КазНИИР 5/Кубань 3, F₁ Odaebyeo/Мадина, F₁ Авангард/Опытный, Алтынай, F₁ Опытный/Кубань 3, F₁ Кубань 3/Алтынай и F₁ Маржан/Лиман.

С целью улучшения регенерации растений злаковых зерновых, полученных андрогенезом, Ю. Гончарова и ряд других исследователей рекомендуют зеленые проростки культивировать на безгормональной питательной среде МС содержащей половинный набор макро, микро элементов, Fe-хеллата и витаминов [22]. Следуя рекомендации, зеленые растеничица регенерантов полученных в культуре пыльников из гибридов - F₁ Опытный/Кубань 3, F₁ Авангард/Опытный, F₁ Лиман/Jinbabyeo, F₁ КазНИИР5/Опытный и сорта Алтынай пассировали на половинную среду МС. На 8-е сутки отмечали апикальное доминирование и начало ризогенеза. В настоящее время, все каллусы культивируются на регенерационной среде в светокультуральной комнате.

Таким образом, для ускоренной стабилизации перспективных холодостойких гибридов риса проведены биотехнологические работы и получены дигаплоиды – регенеранты из комбинации Лиман/Jinbabyeo, КазНИИР5/Опытный, Маржан /Лиман и Odaebyeo /Мадина.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Кененбаев С.Б. Состояние и перспективы научного сопровождения производства риса в Казахстане // Матер. междунар. научно-прак. конф. «Научно-инновационные основы развития рисоводства в Казахстане и странах зарубежья». - Кызылорда: «Ақмесіт Баспа үйі», 2012. 8-16 б.
- [2] Ляховкин А.Г. Рис. Мировое производство и генофонд СПб., 2005. – С. 288.
- [3] Коваленко В.И., Дуденко В.П. Культура риса в Казахстане. Алмат-ата, 1974. - 176 с.
- [4] ChenY. Anther and pollen culture of rice // Haploids of higher plants *in vitro*, China Academic Publishers, Beijing. - 1986. - P.3-25.
- [5] Gupta P.K. Haploidy in Higher Plants: Cytogenetics / 1st Edn., India, Rastogi Publication, Shivaji Road Meerut. - 1999. - P.116-119.
- [6] Niizeki H. Anther (pollen) culture // Science of Rice Plant Genetics. - 1997. -N.3. - P.691-697.
- [7] Mandal N., Gupta S. Anther culture of an interspecific rice hybrid and selection of fine grain type with submergence tolerance // Plant Cell, Tissue and Organ Culture. - 1997. - N.51. - P.79-82.
- [8] Lee S. Y., Lee J. H., Kwon T.O. Selection of salt-tolerant doubled haploids in rice anther culture//Plant Cell, Tissue and Organ Culture. - 2003. - N.74. - P.143-149.
- [9] Dang Minh Tam, Nguyen Thi Lan. Selection of salt tolerance genotypes from doubled haploids in rice//Omonrice. - 2004. - N.12. - P.33-37.

- [10] Norman Darvey, Xiaochun Zhao. Improvement of rice breeding using biotechnology approaches / A report for the Rural Industries Research and Development Corporation 2007 Rural Industries Research and Development Corporation
- [11] Fazaa1 M., EL Sabagh A., Anis G., EL-Rewainy I., Barutçular C., Yildirim M., Islam M. S. Grain Quality of Doubled Haploid Lines in Rice (*Oryza sativa L.*) Produced by Anther Culture//Journal of Agricultural Science. - 2016. - N.8. - P.184-190.
- [12] Chu C.C., Wang C.S., Sun C.C., HsuC., Yin K.C., Chu C.Y., Bi F.Y. Establishment of an efficient medium for anther culture of rice through comparative experiments on the nitrogen sources // Scientia Sinic. - 1975. - Vol.18. - P.659-668.
- [13] Chu C.C., Wang C.C., Sun C., Chon H., Yin K.C., Chu C.Y., Bi F.Y. Establishment of an efficient medium for anther culture of rice through comparative experiments on nitrogen sources // Sci. Sin. - 1975. - N.18. - P. 659-668.
- [14] Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // Physiol. Plant. - 1962. - N.15. - P.473-97.
- [15] Sunderland N.,Huang B. Barley anther culture –The switch of programme and albinism // HeridiraSirpl. - 1985. - N.3. - P.27-40.
- [16] Sun C.S., Wu S.C., Wang C.C., Chu C.C. The deficiency of soluble proteins and plastid robosomal RNA in the albino pollen plantlets of rice // Theoretical and Applied Genetics. - 1979. -V. 55. - N.5. - P.193-197.
- [17] Makowska K., Oleszczuk S. Albinism in barley androgenesis // Plant Cell Rep. 2014. - N.33. - P.385-392.
- [18] Harada T., Ishikawa R., Niizeki M., Saito K.Pollen-derived rice calli that have large deletions in plastid DNA do not require protein synthesis in plastid for growth // Mol. Gen. Genet. - 1992. - N.233. - P.145-150.
- [19] Zubko M.K., Day A. Differential regulation of NEP transcribed genes, and DNA amplification within ribosome deficient plastids in stable phenocopies of cereal albino mutants // Mol. Gen. Genomics. - 2002. - N.267. - P.27-37.
- [20] Галиева Э.Р. Феномен альбинизма в культуре изолированных пыльников пшеницы: влияние низких положительных температур: авторефер. биол. наук: Башкир. гос. ун-т. - Уфа. - 2001.
- [21] Mozgovaya G.V., Zaitseva O.I., Lemesh V.A. Structural changes in chloroplast genome accompanying albinism in anther culture of wheat and triticale // Certif Res Commun. - 2012. - N.40. - P.467-475.
- [22] Гончарова Ю.К. Использование метода культуры пыльников в селекции риса / Ю.К. Гончарова. - Краснодар, 2012. - 91 с.

REFERENCES

- [1] Kenenbayev S.B. State and prospects of scientific support rice production in Kazakhstan // Mater. Intern. Scientific and Prac. Conf. "Scientific and innovative basis for the development of rice growing in Kazakhstan and CIS countries".- Kyzylorda "Akmeshit Baspayyi" 8-16, 2012. b. (In Russ)
- [2] Lyahovkin A.G. Rice. World production and gene pool of the St. Petersburg, 2005. - . C. 288. (in Russ).
- [3] V.I.Kovalenko, V.P. Dudenko Culture of rice in Kazakhstan. Almaty-Ata, 1974. - 176 p. (In Russ).
- [4] ChenY. Anther and pollen culture of rice // Haploids of higher plants *in vitro*, China Academic Publishers, Beijing. - 1986. - P.3-25. (in Eng).
- [5] Gupta P.K. Haploidy in Higher Plants: Cytogenetics / 1st Edn., India, Rastogi Publication, Shivaji Road Meerut. - 1999. - P.116-119. (in Eng).
- [6] Niizeki H. Anther (pollen) culture // Science of Rice Plant Genetics. - 1997. -N.3. - P.691-697. (in Eng).
- [7] Mandal N., Gupta S. Anther culture of an interspecific rice hybrid and selection of fine grain type with submergence tolerance // Plant Cell, Tissue and Organ Culture. - 1997. - N.51. - P.79-82. (in Eng).
- [8] Lee S.Y., Lee J. H., Kwon T.O. Selection of salt-tolerant doubled haploids in rice anther culture//Plant Cell, Tissue and Organ Culture. - 2003. - N.74. - P.143-149. (in Eng).
- [9] Dang Minh Tam, Nguyen Thi Lan. Selection of salt tolerance genotypes from doubled haploids in rice//Omonrice. - 2004. - N.12. - P.33-37. (in Eng).
- [10] Norman Darvey, Xiaochun Zhao. Improvement of rice breeding using biotechnology approaches / A report for the Rural Industries Research and Development Corporation 2007 Rural Industries Research and Development Corporation. (in Eng).
- [11] Fazaa1 M., EL Sabagh A., Anis G., EL-Rewainy I., Barutçular C., Yildirim M., Islam M. S. Grain Quality of Doubled Haploid Lines in Rice (*Oryza sativa L.*) Produced by Anther Culture//Journal of Agricultural Science. - 2016. - N.8. - P.184-190. (in Eng).
- [12] Chu C.C., Wang C.S., Sun C.C., HsuC., Yin K.C., Chu C.Y., Bi F.Y. Establishment of an efficient medium for anther culture of rice through comparative experiments on the nitrogen sources // Scientia Sinic. - 1975. - Vol.18. - P.659-668. (in Eng).
- [13] Chu C.C., Wang C.C., Sun C., Chon H., Yin K.C., Chu C.Y., Bi F.Y. Establishment of an efficient medium for anther culture of rice through comparative experiments on nitrogen sources // Sci. Sin. - 1975. - N.18. - P. 659-668. (in Eng).
- [14] Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // Physiol. Plant. - 1962. - N.15. - P.473-97. (in Eng).
- [15] Sunderland N.,Huang B. Barley anther culture –The switch of programme and albinism // HeridiraSirpl. - 1985. - N.3. - P.27-40. (in Eng).
- [16] Sun C.S., Wu S.C., Wang C.C., Chu C.C. The deficiency of soluble proteins and plastid robosomal RNA in the albino pollen plantlets of rice // Theoretical and Applied Genetics. - 1979. -V. 55. - N.5. - P.193-197. (in Eng).
- [17] Makowska K., Oleszczuk S. Albinism in barley androgenesis // Plant Cell Rep. 2014. - N.33. - P.385-392. (in Eng).
- [18] Harada T., Ishikawa R., Niizeki M., Saito K.Pollen-derived rice calli that have large deletions in plastid DNA do not require protein synthesis in plastid for growth // Mol. Gen. Genet. - 1992. - N.233. - P.145-150. (in Eng).
- [19] Zubko M.K., Day A. Differential regulation of NEP transcribed genes, and DNA amplification within ribosome deficient plastids in stable phenocopies of cereal albino mutants // Mol. Gen. Genomics. - 2002. - N.267. - P.27-37. (in Eng).

- [20] E.R. Galieva The phenomenon of albinism in the culture of isolated anthers of wheat: the impact of low positive temperatures: avtorefer. biol. Sciences: Bashkir. state. Univ. - Ufa. - 2001. (in Russ).
- [21] Mozgova G.V., Zaitseva O.I., Lemesh V.A. Structural changes in chloroplast genome accompanying albinism in anther culture of wheat and triticale // Certif Res Commun. - 2012. - N.40. - P.467-475. (in Eng).
- [22] J.K. Goncharova Using the method of anther culture in rice breeding / JK Goncharova. - Krasnodar, 2012. - 91 p. (in Russ).

**Е. А. Жанбырбаев, Б. А. Сарсенбаев, А. Б. Рысбекова, Д. Т. Казкеев,
А. Мухамежан, Б. Н. Усенбеков, И. А. Сартбаева, Б. Б. Анапияев**

Қазақ ұлттық аграрлық университеті, Алматы, Қазақстан,
Өсімдіктер биологиясы және биотехнологиясы институты, Алматы, Қазақстан,
С. Сейфуллин атындағы қазақ агротехникалық университеті, Астана, Қазақстан,
Қ. И. Сәтбаев атындағы қазақ ұлттық техникалық университеті, Алматы, Қазақстан

СУЫҚҚА ТӨЗІМДІЛІК БОЙЫНША КҮРІШ СЕЛЕКЦИЯСЫНДА ГАПЛОИДТЫ БИОТЕХНОЛОГИЯНЫ ҚОЛДАНУ

Аннотация. Күріш гаплоидтарын алудың бір тиімді жолы оқшаулаған атальқ тозанды және микроспораны қолдану болып табылады. Зерттеу жұмысында күріштің перспективті гомозиготалы сұыққа төзімді гибридтері мен формаларын жылдам алу үшін тозан дақылдарын қолданудың нәтижелері көрсетілген. Күріш дигаплоидтарын алуда 20 комбинацияның F₁ гибридтері және 10 отандық және шетел сорттары қолданылды. Зерттеу материалдарынан атальқ тозандар аsepтикалық жағдайда бөлініп алынып, құрамында 2 мг/л 2,4 Д және 60 г/л мальтоза бар N₆ индукциялық агарозалы ортаға отырғызылды. 28 қүннен кейін кейбір комбинацияларда каллусогенез индукциясы байқалды. Барлық гибридтік комбинация бойынша орташа каллус түзілу көрсеткіші жалпы отырғызылған атальқ тозан санынан есептегендеге 1,0-26,6% құрды. Өсімдік регенерациясы үшін каллустарды 5 мг/л БАП, 1 мг/л ИСҚ және 500 мг/л казеин гидролизаты бар Мурасиге және Сұғын ортасына ауыстырылды. Бұл регенерациялық орта жасыл регенеранттардың түзілуіне ықпал етті. F₁ КазНИИР 5/Кубань 3 (12,5%) және F₁ Odaebyeo /Мадина (9,0%) гибридтеріндегі хлорофилл-дефектті альбинос-регенеранттардың түзілуі байқалды, осы көрсеткіш F₁ Опытный /Кубань 3, F₁ КазНИИР5/Опытный және F₁ Авантгард /Опытный гибридтеріндегі сәйкесінше 5,0%, 4,9% және 5,4% құрды. Жүргізілген зерттеу жұмыстарының нәтижесінде F₁ Лиман/Jinbubyeo, КазНИИР5/Опытный, Маржан /Лиман және Odaebyeo /Мадина гибридтік комбинацияларынан дигаплоид-регенеранттар алынды.

Түйін сөздер: күріш, сұыққа төзімділік, гаплоидты биотехнология, тозанқап, каллусогенез, регенерация, регенерант-өсімдік.