С.Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық университетінің **Ғылым жаршысы**(пәнаралық) = **Вестник науки** Казахского агротехнического университета им. С. Сейфуллина (междисциплинарный). – 2015. - №1 (84). – Б.17-24

АБИОТИКАЛЫҚ СТРЕССТЕРГЕ ТӨЗІМДІЛІККЕ АСБҰРШАҚТЫҢ *IN VITRO* СЕЛЕКЦИЯСЫ

Ж.А. Рашиденова, Д.С. Тагиманова,
К.К. Абдрашева, Р.М.Сулейменов,
О.Н. Хапилина

Аннотация

Зерттеу нысаны ретінде асбұршақтың будандары (*Pisum sativum L.*) пайдаланылды. Зерттеудің мақсаты абиотикалық стресстерге төзімді in vitro селекция әдісімен асбұршақтың өсімдік-регенерантын алу болып табылды. Селективті агенттердің (натрий хлориді мен PEG-6000) асбұршақтың каллус түзу қабілетіне, олардың дифференциациясы мен сабақтық органогенезіне әсері зерттелінді. Пайдаланылған селективті агенттер регенерациялық потенциалға, морфогенез жиілігіне және каллустардың биомассасысының өсуіне әртүрлі әсер ететіндігі, сонымен қатар селективті факторлардың әсерінен асбұршақ генотиптерінің реакциясы анықталды. Нәтижесінде өсімдік-регенеранттары алынып, тұқымдары Қазақстан Республикасының селекциялық орталықтарына көбейтілуге берілді.

Кілтті сөздер тізімі: *Pisum sativum L.* - *а*сбұршақ, in vitro селекция, каллустық ұлпа, натрий хлоридке төзімділік, осмотикалық стресстерге төзімділік.

КІРІСПЕ

Ауылшаруашылық өсімдіктердің генетикалық қоры биотүрліліктің маңызды компоненті болып табылады, себебі олардың азық-түлік өнімдерін өндіру, экологиялық жағынан қауіпсіз ауыл шаруашылығының дамуы, өнеркәсіптің әр түрлі салалары үшін нақты және потенциалды құндылығы бар. Сондықтан да, өнімділікті ұлғайту мәселесі, биотикалық және абиотикалық факторларға төзімділікті жоғарылату, рационалды пайдалануды зерттеу әр мемлекет үшін, сонымен қатар, Қазақстан үшін де мемлекеттік, стратегиялық маңызды және де экологиялық және биоресурстық, глобалды азық-түлік және ұлттық қауіпсіздікті қамтамасыз етумен тікелей байланысты [1].

Асбұршақ (*Pisum sativum L.*) әлемде 9000 жылдан аса бидай мен арпа дақылдарымен қатар өсіріліп келе жатқан көне дақылдың бірі болып табылады [2]. Айта кету керек, асбұршақ адамдармен қатар жануарлардың да қоректенуінде әмбебап дақыл болып табылады

және кейбір сорттарда оның бар болуы 30% жететін өсімдік ақуызының негізгі көзі болып [3, 4].

Дәндібұршақ дақылдарды 2005-2009 жылдар аралығында өсірудің орташа аумағы 66,0 млн. га құраса, жалпы өнімі 55,0 млн. т құрады, яғни өнімділігі 0,1 т/га [5]. CGIAR мәліметтері бойынша асбұршақ (Consultative Group on International Agricultural Research) дәндібұршақ дақылдардың арасында егілу аумағы, дәндібұршақтардың егілу аумағының 37%-нан аса және тағамдық құндылығы бойынша бірінші орында тұр (http://singer.cgiar.org) [6].

Бұл дақылдың осындай бағалы маңыздылығына қарамастан Қазақстанда асбұршақ кеңінен пайдаланылмайды, оның аумағы дәндідақыл ретінде 2009 жылы 43,5 мың га құраса 2010 жылы – 13,5 мың га құрады. FAO мәліметі бойынша 2010 жылы асбұршақтың сұрыптық егілуі 0,1 мың га құрап, бұдан бар - жоғы 10 000,0 тонна тұқым алынған, бұл сапалы тұқым материалымен өзін - өзі қамтамасыз етуге жеткіліксіз екені мәлім. Негізінде Қазақстанда асбұршақтың өнімділігі 11,1 ц/га құрағандықтан, орташа әлемдік деңгейден 4-5 есе төмен. Мысалы, Канаданың құрғақшылық жағдайында өнімділік 23,2 ц/га болса, ал АҚШ – 45,5 ц/га құрады [7]. Сондай-ақ, Солтүстік Қазақстанда өсірілетін сорттардың ассортименті шағын, бар - жоғы шетелдік селекцияның 4 сорты пайдаланылады [8].

Бұл аймақта асбұршақты өсірудің біршама қиындықтары бар – ол тұқымшаруашылығы базасының болмауы, сонымен қатар асбұршақты зиянкестермен және саңырауқұлақ ауруларының жоғары зақымдануы да өз әсерін тигізуде. Зиянкестер мен аурулар әсерінен асбұршақ өнімінің азаюы 30-50% дейін жетеді. Асбұршақ ауруларының арасында ең қауіптілері тамыр шіріктері, аскохитоз, перонопороз, ақ ұнтақ, фузариоз, тат, бактериоз болып табылады. Солтүстік Қазақстан жағдайында, фузариоз ең қауіптісі, өйткені асбұршақты егу ылғалдың аз болуына да байланысты болады.

Құрғақшылық асбұршақ өнімінің төмендеуіне бірден – бір себебі болғандықтан оның жиілігі соңғы кездерде жоғарылып келеді. Егер XII-XV ғасырларда Еуразия аумағында шамамен 12 құрғақшылық байқалса, ал XX ғасырда оның саны 60 дейін көтерілді. Оның ең қолайсызы және құрғақшылы 2010 жыл болды. [9].

Ғылыми әдебиетте құрғақшылыққа және тұздылыққа төзімді өсімдік-регенеранттарын алу үшін натрий хлориді және осмотиктерді пайдалану туралы жұмыстар көптеп кездеседі. *In vitro* жағдайында құрғақшылық жағдайын жасанды түрде әдетте полиэтиленгликоль немесе (ПЭГ-6000 немесе – 8000) маннитті пайдалану арқылы жасайды [10]. Асбұршақтың жасушалық селекциясында ПЭГ-6000 пайдалану жөнінен тәжірибе аз, алайда, құрғақшылыққа төзімді өсімдіктер

күріштен, рапстан, арпа мен бидайдан алынғаны белгілі. [11, 12, 13].

Полиэтиленгликоль (ПЭГ) өткізбеуіш қасиеті бар осмотик, ол жасуша қабырғаларында коллапс тудырып, протопластарды қысады, демек осмотикалық стресс жағдайларында клеткалардағы судың тепе-теңдігін реттеп отырады [14]. Жасушалық деңгейде құрғақшылыққа төзімділік қоректік ортада сыртқы су потенциалын төмендететін осмотикалық белсенді заттардың болуымен анықталады. сыртқы судың потенциалын төмендететін қоректік ортада осмотикалық белсенді заттардың клеткалық толеранттығының қатысуымен анықталады [15].

Асбұршақтың жасушалық селекциясына арналған жұмыстарында сомаклондық вариантты таңдау үшін соматикалық клеткалардың өзіндік арнайы биологиялық әртүрлілігін анықтайтын асбұршақ каллустарын өсіру сұрақтары кеңінен зерттеледі. Егер генотиптерді таңдау селективті ортада жүргізсе, онда сомаклонды вариантардың өсімі едәуір жоғары болады. Судың стресстеріне төзімді асбұршақтың каллус линиялары осмотикалық белсенді реагенттері, соның ішінде полиэтиленгликоль қосылған қоректік ортада моделді жағдайда өсімдік клеткаларын өсіру жағдайында алынған [16].

Бұл жерде бастапқы материал, өсіру уақыты және ПЭГ концентрациясы арасындағы тәуелділік байқалған. Зерттеу нәтижесінде селективті фактордың жоғарғы концентрациясы анықталды, 15, 20 және 25% ПЭГ қосылған селективті ортада 5 көшірімнен кейін асбұршақтың каллус клондары бөлініп алынды, селективті фактордың оңтайлы концентрациясы таңдалып алынды [17]. Асбұршақтың жасушалары мен ұлпаларын селективті ортада өсіру кезінде жасушалық деңгейімен қатар өсімдік-регенерантында да генетикалық өзгерістер байқалған [16]. Генетикалық маркерлер талдауымен дәлелденген каллус культурасынан алынған регенеранттарда генетикалық тұрақтылық байқалған [16].

Қазақстанға молекулалық биология, заманауи биотехнология әдістері көмегімен жасалынған асбұршақтың отандық сорттары қажет. Сондай-ақ, селекцияның жаңа деңгейіне ауысу үшін отандық сорттар мен будандардың молекула-генетикалық паспорттарын жасау қажет.

Осыған байланысты, ортаның стресс факторларына төзімді асбұршақтың жаңа бастапқы материалын алу бойынша жүргізілетін зерттеулер өзекті болып табылады.

Дәстүрлі селекция және биотехнология әдістерін қатар пайдалану сапасы мен жоғары өнімділікпен ерекшеленетін қолайсыз ортаның абиотикалық және биотикалық факторларына төзімді, өзіндік ерекшеліктері бар жаңа селекциялық материал алуға мүмкіндік туғызады.

Зерттеудің мақсаты *in vitro* селекция әдістері негізінде

биотикалық және абиотикалық стресстерге төзімді асбұршақтың (*Pisum sativum L.*), жаңа бастапқы материалын алу болып табылады.

МАТЕРИАЛДАР МЕН ӘДІСТЕР

Зерттеу объектісі ретінде А. Бараев атындағы Тұқымшаруашылығы Ғылыми-өндірістік орталығы ұсынған асбұршақ селекциясының будандары пайдаланылды.

Асбұршақ дәндері алдын-ала 10% гипохлорит натрий ерітіндісінде залалсыздандырылып, кейін құрамында ½ минералды тұздары бар Мурасиге және Скуг қоректік ортасына салынды.

Каллусогенез индукциясы үшін 3-5 күндік жарғақ жапырақтары мен сабақтарының залалсыздандырылған өскіндері пайдаланылды. Зарарсыз өскіндердің 3-5 күндік буынаралықтары каллустардың индукциясы үшін пайдаланылды. Эксплантты өлшемдері 0,5-1 см болатындай етіп бөліктерге бөліп қоректік ортаның беткі жағына салынды. Каллусогенездің индукциясы үшін құрамында 0,5 мг/л кинетина және 0,1 мг/л 2,4-Д бар Мурасиге және Скуг (МС) қоректік ортасы пайдаланылды. Сонымен қатар, каллусогенез индукциясы ұқсас минералды тұздары бар, бірақ NaCl мен PEG-6000 селективті агенттері қосылған қоректік ортада жүргізілді. Эксплантар 28°С температурада қосымша жарықтандырусыз Binder KBWF-240 климаттық камера жағдайында 6-8 апта бойы өсірілді.

Ары қарай салмағы 50 мг төмен емес асбұршақтың каллус ұлпаларын морфогенез индукциясы үшін құрамында 5 мг/л БАП және 0,01 мг/л ИСҚ гормондары бар Мурасиге және Скуг қоректік ортасына көшірілді.

Регенерантты өркендер 2 мг/л НСҚ қосылған ½ минералды тұздары бар Мурасиге және Скуг қоректік ортасына көшірілді. Регенеранттарды өсіру фитотронда 16 сағаттық фотокезеңде, ылғалдылығы 80%, температурасы 22°С, жарықтандырылуы 20 μmol/м^2/сек жағдайында өсірілді. Асбұршақтың тамырланған өсімдік регенерантын R_0 тұқымын алу үшін топыраққа отырғызылды.

ТАЛҚЫЛАУ ЖӘНЕ НӘТИЖЕСІ

Селективті агенттердің каллус клеткаларының реакциясына әсері каллустарды өсіруге арналған қоректік ортадағы селективті фактордың концентрациясына байланысты. Біздің экспериментте каллус ұлпалары бірден селективті жағдайда алынады және селективті агент клетканың тіршілік ету үрдісі мен кезеңінде өз әсерін тигізеді. Бақылау ретінде селективті факторлар қосылмаған жалпыға бірдей МС қоректік ортасы пайдаланылды.

Асбұршақтың каллус ұлпаларының реакциясын бағалау бастапқы каллус ұлпаларының массасы (мг) және қалыптасқан

каллустар саны (%) сияқты көрсеткіштері арқылы жүргізілді. Нәтижесінде селективті агенттердің әсері асбұршақтың каллус жасушаларына әртүрлі әсер ететіндігі анықталды (1 кесте).

Селективті факторлардың әсері кезінде генотиптер мен олардың каллус түзу қабілеті реакциясы әртүрлі болған. Селективті агент каллус түзу қабілетіне қарағанда, бастапқы каллус ұлпаларының биомассасының өсуіне көбірек әсер еткен. Селективті агенттердің каллус түзілуіне әлсіз түрде әсер ететіні, асбұршақ жасушаларының пролиферацияға қабілеттілігі бақылау нұсқасында да, сонымен қатар, селективті жағдайда да пайдалынған өсу реттегіштері, яғни, экзогенді фитогормондардың концентрациясына тәуелділігімен байланысты болуы мүмкін. Біздің көзқарас бойынша, биомассаның өсуі генотиптік ерекшелікке және стресстердің әсеріне байланысты болды.

Асбұршақ генотиптердің реакциясын бағалай келе селективті факторлардың әсеріне әртүрлі реакция болатынын бақылауға болады. Сонымен, 831-1, 771-1 гибридтерінің осмотикалық стресске қарағанда, натрий хлоридке сезімталдығы жоғары болды, олар пролиферацияға қабілеттілігі мен биомассаның өсуін төмендетті.

1 кесте - Селективті ортада асбұршақтың каллус түзу қабілеттілігі

Генотиптер	Өсіру ортасы	Эксплант саны, дана	Каллус түзілуі, %	Каллустардың салмағы, мг
831-1	МС+2% ПЭГ	60	75,0	47,6±1,2
	МС+2% NaCI	66	72,7	52,2±2,0
	МС (бақылау)	58	86,2	60,9±2,7
771-1	МС+2% ПЭГ	80	66,3	37,2±2,8
	МС+2% NaCI	75	58,7	30,7±1,8
	МС (бақылау)	90	80,0	50,8±2,4
838-3	МС+2% ПЭГ	63	92,1	41,2±3,1
	МС+2% NaCI	65	92,3	54,5±2,6
	МС (бақылау)	82	97,6	64,8±3,8

Пролиферациялық потенциалды төмендете келе 838-3 будандарының клеткалары стресстік агентке төзімділігі жоғары болды.

Нәтижесінде пайда болған каллустарды құрамында минералды тұздар мен селективті агент қосылған қоректік ортаға көшірілді. Өзгерістер экзогенді фитогормондарға қатысты болды: қорекік ортаға 2,4-Д және кинетиннің орнына 5 мг/л БАП және 0,01 мг/л ИУК қосылды. Селективті агенттердің ықпалын морфогенез қарқындылығымен,

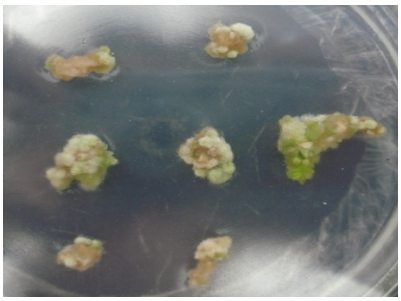
сондай-ақ тірі қалған каллустар мен олардың өсуі сияқты белгілері бойынша анықталды. Генотиптердің морфогенетикалық потенциалын каллустардың жалпы санын (%) морфогенді каллустардың қатысы арқылы бағаланды (%).

Зерттеулер нәтижесінде морфогенетикалық дифференциация кезеңінде де асбұршақтың әртүрлі генотиптер реакциясына селективті агенттердің әсері бар екені анықталды (1 сурет).

Жалпы, ПЭГ-6000-ң 2% концентрациясы натрий хлоридімен салыстырғанда морфогенез процестеріне жоғарырақ селективті әсер ететіні және морфогенді құрылымдар мен глобулярлы құрылымдар, белсенді өсумен сипатталатын тірі қалған каллустардың санын едәуір азайтатыны туралы айтуға болады.

Селективті ортаға қайта көшірген кезде каллустардың бір бөлігі тіршілігін жойды, яғни оған некроз, шырышты және кеуіп қалған каллустар жатады. ПЭГ-6000 қосылған селективті ортада өсуге бейім каллустар саны 838-3 гибридінде 21% болса, 831-1 гибридінде 54% дейін ауытқыды. Құрамына натрий хлориді қосылған қоректік ортада өсуге бейім каллустар саны 43,5%-73,4% құрады.

Асбұршақ генотиптерінің реакциясын талдай келе 838-3 гибриді дедифференциация және морфогенез кезеңдерінде селективті агенттің ықпалына төмен деңгейде төзімді болғаны белгілі болды.



1 сурет – 838 -3 асбұршақ гибридінің морфогенез индукциясы

Бұл аталған гибридтің ерекшелігіне байланысты болуы мүмкін, сондай-ақ морфогенез индукциясы қоректік ортасы үшін фитогормон типі мен концентрациясын таңдау қажет екенін көрсетеді (2 кесте).

2 кесте - Асбұршақтың морфогенез үрдісіне селективті агенттердің әсері.

Генотиптер	Өсіру ортасы	Өсуге бейім каллустар саны, %	Морфогенді каллустар саны, %	Каллус салмағы, мг	Биомасса өсімі, %
831-1	МГ-3 (бақылау)	98,0	81,3	79,2±3,3	+30,1
	МГ-3+2% NaCl	73,4	55,1	61,0±3,1	+16,9
	МГ-3+2% ПЭГ-6000	54,0	27,4	58,8±4,4	+23,5
771-1	МГ-3 (бақылау)	97,2	80,7	101,3±8,4	+99,4
	МГ-3+2% NaCl	65,9	52,7	37,9±3,0	+23,5
	МГ-3+2% ПЭГ-6000	41,3	19,8	42,8±2,6	+15,1
838-3	МГ-3 (бақылау)	76,3	58,0	88,9±2,7	+37,2
	МГ-3+2% NaCl	43,5	28,3	58,4±2,6	+7,2
	МГ-3+2% ПЭГ-6000	21,1	12,2	56,7±4,5	+37,6

Сондай-ақ аталған көрсеткіштерге селективті агенттердің әртүрлі әсері: егер дифференциация кезеңінде натрий хлорид каллустың түзілуіне қарқынды әсер етсе, ал морфогенетикалық дифференциация кезеңінде оның әсері биомасса өсімінің төмендеуіне әкеліп соқты. PEG-6000 натрий хлоридтен айырмашылығы морфогенез үрдісін едәуір бәсеңдетті. Алынған морфогенді каллустар құрамында 4 мг/л БАП және 0,1 мг/л НСҚ бар органогенез индукциясына арналған қоректік ортасына көшірілді. *In vitro* жағдайында өсірілетін ұлпадан өсімдікті регенерациялау сатылы органогенез әдіс арқылы іске асырылды, яғни, каллус ұлпаларында меристемалық аймақ түзіліп одан сабақ бүршіктері немесе тамыр апекстері қалыптасады (3 кесте).

Асбұршақтың өсімдік регенерантын алу өте күрделі кезең болып саналады және де регенерацияға тек біршама ұлпа типтері ғана қол жеткізе алады. Асбұршақтың каллус ұлпаларынан сабақ регенерациясын алу мүмкіндігі асбұршақпен алғашқы зерттеулер жүргізе бастағаннан кейін 10 жылдан соң ғана алына бастады. Атап айтсақ, ұзағынан өсіру регенерация қабілетін едәуір төмендетеді. Сонымен қатар, асбұршақ регенеранттарында ризогенез индукциясы да өте күрделі үрдіс. Бірқатар зерттеулерде асбұршақтың морфогенез индукциясы 2 кезеңде белсенді жүретіні айтылған, ол алдымен сабақ органогенезі түзіледі, кейін қоректік ортаның гормондық құрамын өзгертіп

асбұршақ регенеранттарында тамыртүзілу индукциясын жүргізеді [19, 20, 21].

3 кесте - Абиотикалық стресстер қосылған селективті ортада *in vitro* жағдайында асбұршақтың регенерациялық потенциалы

Генотиптер	Өсіру ортасы	Каллустар саны, дана	Морфогенді каллустар саны, дана	Регенерант саны, дана	Тамырланған регенерант саны, дана
771-1	МС	72	70	21	10
	МС+2%ПЭГ	53	22	16	-
	МС+2% NaCI	44	29	24	1
838-3	МС	80	46	15	4
	МС+2%ПЭГ	58	7	15	1
	МС+2% NaCI	60	17	4	-
838-1	МС	48	40	15	5
	МС+2%ПЭГ	53	12	14	-
	МС+2% NaCI	44	20	12	2

Органогенез кезеңінде регенеранттардың өсуі бәсеңдеді, бірен-саранында некроз байқалды, яғни, органогенез индукциясы асбұршақ биотехнологиясында күрделі кезеңдердің бірі болып саналады.

Кейбір каллустарда сабақ регенеранттары түзіле басталды, ол негізінен селективті қоректік орталарда орын алды. Цитокининдік белсенденділігі бар эндогенді фитогормондардың өзгертілген синтезі салдарынан стресс жағдайында өсімдікте бірнеше сабақ пайда болуы мүмкін. Жақсы тамыр жүйесі қалыптасқан өсімдік-регенерантын ары қарай дамуы үшін топыраққа отырғызылды.

Тамыр жүйесі қалыптасқан өсімдік-регенеранттарын топыраққа отырғызар алдында шыны түтіктен шығарып, қоректік ортадан тазартып, 24 сағатқа ішінде құбырдан алынған суы бар үлкен шыны түтікке салып, бетін ашық қалдырдық. Артынша өсімдіктер топыраққа отырғызылды. Регенеранттардың тамыр ұзындығы 5 тен 10 см дейін, саны – 3 тен 7 данаға дейін ауытқыды; регенеранттардың сабақ ұзындығы 6-14 см болса, 4-18 жапырақтары болды. 2 апта өткен соң сабақтың ұзындығы 3 тен 13 см дейін, ал жапырақ саны 2 ден 5 данаға дейін өсті. Регенеранттарды күтіп баптау регенеранттардың дамуы мен өсуіне қолайлы жағдай туғызу үшін – бірінші кезеңде регенеранттарды автортофты қорекқтендіруге бейімдеу үшін

гормондармен өңдеп, транспирация мен фотосинтезді ынталандыру үшін ауалы-сулы жүйе қалыптастырып, ары қарай топырақты қопсытып, уақытында регенеранттарды суару жұмыстарын жүргізу қажет.

Регенерантты топыраққа отырғызғаннан бастап тұқым алуға дейінгі кезең 120-135 күнді құрады. Өсімдіктер ұзын сабағымен және тұқымның бір мезетте піспеуімен ерекшеленді. Регенеранттарға құрылымдық талдау жүргізген кезде регенерант ұзындығы 48 ден 120 см дейін, өскін аралық саны 18 ден 45 данаға дейін, жапырақ саны 48 ден 68 данаға дейін ауытқыды.

2 сурет – топырақта өсіп тұрған асбұршақтың өсімдік регенеранты

Клеткалық селекция үрдісінде асбұршақтың 59 тамырланған регенеранты алынды, оның 13 ПЭГ-6000, 5 натрий хлориді қосылған селективті қоректік ортада алынды.

Тұқымдық ұрпақ 7 регенеранттан алынды. Тұқымдар А.И. Бараев атындағы «Тұқым шаруашылығы ғылыми-өндірістік орталығына» бағалануға және көбейтілуге берілді.

Қорыта келе, тамырланған регенеранттар селективті агент қосылмаған қоректік ортада көбірек алынды. Егер асбұршақтың каллус ұлпаларының регенарациялық потенциалына селективті агенттің әсерін бағалайтын болсақ, онда натрий хлорид аса улы және ол регенарация мен морфогенез үрдісін едәуір төмендететіні анық байқалып тұр.

ӘДЕБИЕТТЕР ТІЗІМІ

1 Сащенко М.Н., Жужжалова Т.П. Особенности размножения гороха в культуре in vitro. // Вестник Воронежского государственного аграрного университета. – 2012. № 2. - С. 41-45.

2 McPhee K. Dry pea production and breeding, a mini-review // Food Agric. Environ. – 2003. Vol.1. P. 64-69.

3 Sharma B. The Pisum genus has only one recessive gene for powdery mildew resistance // Pisum Genetics. – 2003. Vol. 35. P. 30-31.

4 Choundhury P.R., Tanveer H., Dixit G.P. Identification and detection of genetic relatedness among important varieties of pea (Pisum sativum L.) grown in India // Genetica. – 2006. Vol. 13, №2. P. 183-191.

5 Upadhyaya H. D., Dwivedi S. L., Ambrose M., Ellis N., Berger J., Smykal P., Debouck D., Duc G., Dumet D., Flavell A., Sharma S. K., Mallikarjuna N., Gowda C. L. L. Legume genetic resources: management, diversity assessment, and utilization in crop improvement //Euphytica. – 2011. Vol. 180. P. 27-47.

6 CGIAR An integrated approach to genetic resources in support of the CGIAR0s mission. A position paper developed by the Inter-Centre Working Group on Genetic Resources.assessed on 27 Jan 2011; http://singer.cgiar.org.

7 Data accessed on Feb 4, 2011; http://www.faostat.fao.org.

8 Каскарбаев Ж.А., Чуркина Г.Н., Похоруков Ю.А., Ибраева А.Т., Заболотских В.В. Девяткина Г.В. Методические рекомендации по выращиванию гороха в Акмолинской области. Астана, 2010. =45 с.

9 Никонов А.А. Научные основы устойчивого развития сельскохозяйственного производства засушливых районов страны // Вестник сельскохозяйственной науки. – 1987. № 10. – С. 10-25.

10 Соболев Д. В. Разнообразие гороха (Pisum sativum L.) восточно-европейской селекции в эколого-географическом изучении: автореф. дис.канд. биол. наук: 06.01.05. С.-П., – 2009. – 23 с.

11 Шаяхметов И.Ф., Асфандиярова Р.Р. Влияние фитотоксичных метаболитов Bipolaris sorokiniana (Sacc.) Sh. на рост каллусной ткани и регенерацию растений пшеницы // Физиология растений. – 1991. Т.3, № 2. – С. 399-405.

12 Карпухина А.М., Долгова Е.М., Юшкина Л.Л., Кузьмина Н.Н. Разработка селективных сред для повышения устойчивости к грибным заболеваниям у ярового ячменя // Физиология и биохимия культурных растений. – 1999. Т. 31, № 5. – С. 382-386.

13 Chawla H.S., Wenzel G. In vitro selection of barley and wheat for resistance against Helminthosporium sativum // Theor. Appl. Genet. – 1987. Vol. 74, № 6. P. 841-845.

14 Аль-Холани Х.А., Долгих Ю.И. Сравнение эффективности селективных систем с маннитом и полиэтиленгликолем для отбора засухоустойчивых растений кукурузы // Биология клеток растений in vitro и биотехнология. М.: ИД ФБК-Пресс, 2008. – С. 18-19

15 Долгих Ю.И. Результаты и перспективы использования клеточной селекции для создания перспективных форм растений //Биотехнология в растениеводстве, животноводстве и ветеринарии. М.; 2004. – С. 114-115.

16 Соболева Г.В., Лаханов А.П. Разработка методов отбора сомаклональных вариантов гороха (Pisum sativum L.), устойчивых к действию осмотического стресса. Матер. Всеросс. науч.-практ. конф. «Регуляция продукционного процесса сельскохозяйственных растений». С.- П., 2006. Т. 2. – С. 177-184.

17 Muehlbauer F.J., Cho S., Sarker A., McPhee K.E., Coyne C.J., Rajesh P.N., Ford R. Application of biotechnology in breeding lentil for resistance to biotic and abiotic stress // Euphytica. – 2006. Vol. 147. P. 149-165.

18 Malmberg R.L. The inheritance of the ability to regenerate plants from cell cultures of Pisum sativum L. Preliminary aanallysis //The Pisum Newsletter. – 1982. Vol. 14. P. 39-40.

19 Задорожна О.А., Юшкіна Л.Л., Сокол Т.В. Калюсогенез зернового та овочевого гороху в умовах біотичного стресу // Вісник Харківського національного університету ім. В.Н. Каразіна. Серія Біологія. – 2007. – С. 177-181.

20 Kosturkova G., Mehandjiev A., Mihov M., Noveva S., Rodeva R. Some results from the investigations in genetic improvement of pea (Pisum sativum L.). –2006. Vol.3, № 3. P. 397-403.

РЕЗЮМЕ

Объектом исследования являются различные гибриды гороха (*Pisum sativum L.*). Целью данного исследования было получение растений регенерантов гороха с использованием методов селекции *in vitro* на устойчивость к абиотическим стрессам (NaCl, ПЭГ-6000). Изучено влияние этих селективных агентов на процессы каллусообразования гороха, дифференциации и органогенеза. Выявлено различное влияние используемых селективных агентов на прирост биомассы каллусов, частоту морфогенеза и регенерационный потенциал, а также реакция генотипов гороха на воздействие селективных факторов. Селективные агенты (NaCl, ПЭГ-6000) наиболее сильно влияли на рост биомассы, чем на каллусообразующую. Сравнительная оценка хлорида натрия и ПЭГ-6000 показала, что NaCl является наиболее токсичным стрессором, который значительно ингибирует морфогенез и процессы регенерации. В результате исследований получены фертильные растения, семена которых переданы для размножения в ТОО «Научно-производственный центр зернового хозяйства им. А.И. Бараева».

SUMMARY

The objective of this research is study of various hybrids of pea (*Pisum sativum* L.). The aim of this research is obtaining plants regenerants using methods *in vitro* selection for resistance to abiotic stress (NaCl, PEG 6000). The effect of these selection agents on

processes of pea callus genesis, differentiation and organogenesis has been investigated. Different effects of applied selective agents on biomass growth of callus, frequency of morphogenetic and regeneration potential, as well as the reaction of pea genotypes on the impact of selective factors have been revealed. The selective agents (NaCl, PEG 6000) influenced the growth of biomass more strongly compared to callus formation. Comparative evaluation of NaCl and PEG-6000 agents showed that NaCl is the most toxic stressor, which significantly inhibits morphogenesis and regeneration processes. Following the result of the research fertile plants have been obtained for reproduction to A.I. Barayev Grain Farming Research and Production Center.