

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ БІЛІМ ЖӘНЕ ҒЫЛЫМ МИНИСТРЛІГІ

Қ.И. Сәтбаев атындағы Қазақ ұлттық техникалық зерттеу университеті

Қ.Тұрысов атындағы Геология және мұнай-газ ісі институты

Химиялық және биохимиялық инженерия кафедрасы

Бейсенбек Айгерім Қанатқызы

«*Oryza sativa* L. гаплоидтық биотехнологиясы»

ДИПЛОМДЫҚ ЖҰМЫС

5B070100 – «Биотехнология» мамандығы

Алматы 2022

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ БІЛІМ ЖӘНЕ ҒЫЛЫМ МИНИСТРЛІГІ

Қ.И. Сәтбаев атындағы Қазақ ұлттық техникалық зерттеу университеті

Қ.Тұрысов атындағы Геология және мұнай-газ ісі институты

Химиялық және биохимиялық инженерия кафедрасы



ДИПЛОМДЫҚ ЖҰМЫС

Тақырыбы: «*Oryza sativa* L. гаплоидтық биотехнологиясы»

5B070100 – «Биотехнология» мамандығы бойынша

Орындаған

Бейсенбек А.Қ.

Пікір беруші
PhD доктор



Ғылыми жетекші
б.ғ.д., профессор

Анапияев Б.Б.

Алматы 2022

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ БІЛІМ ЖӘНЕ ҒЫЛЫМ МИНИСТРЛІГІ

Қ.И. Сәтбаев атындағы Қазақ ұлттық техникалық зерттеу университеті

Қ.Тұрысов атындағы Геология және мұнай-газ ісі институты

Химиялық және биохимиялық инженерия кафедрасы

5B070100 – «Биотехнология»



БЕКІТЕМІН

Химиялық және Биохимиялық
Инженерия
кафедра меңгерушісі
PhD докторы
Амитова А. А.
мамыр 2022 ж.

**Дипломдық жұмыс орындауға
ТАПСЫРМА**

Білім алушы: Бейсенбек Айгерім Қанатқызы

Тақырыбы: «*Oryza sativa* L. гаплоидтық биотехнологиясы»

Университет Ректорының 2021 жылғы "24" желтоқсан № 489-П/Ө бұйрығымен
бекітілген

Аяқталған жұмысты тапсыру мерзімі 2022 жылғы "31" мамыр

Дипломдық жұмыстың бастапқы берілістері: Диплом алды өнеркәсіптік
практикадан алынған материалдар

Дипломдық жұмыста қарастырылатын мәселелер тізімі:

- а) Күріштің (*Oryza sativa* L.) *in vitro* оқшауланған микроспора культурасында эмбриондтардың түзілу жиілігіне генотиптің әсерін зерттеу;
- б) Күріштің (*Oryza sativa* L.) *in vitro* оқшауланған микроспора культурасында эмбриондтардың түзілу жиілігіне қоректік ортаның әсерін зерттеу;
- с) Күріштің (*Oryza sativa* L.) *in vitro* оқшауланған микроспора культурасында эмбриондтардың түзілу жиілігіне көмірсулардың әсерін зерттеу.

Ұсынылатын негізгі әдебиет 25 атаудан тұрады

**Дипломдық жұмысты дайындау
КЕСТЕСІ**

Бөлімдер атауы, қарастырылатын мәселелер тізімі	Ғылыми жетекші мен кеңесшілерге көрсету мерзімдері	Ескерту
Әдебиетке аналитикалық шолу	Ақпан	Орындалды
Материалдар мен әдістер	Наурыз	Орындалды
Зерттеу қорытындылары: лабораториялық жұмыстар	Сәуір	Орындалды

Дипломдық жұмыс бөлімдерінің кеңесшілері мен норма бақылаушының аяқталған жұмысқа қойған қолтаңбалары

Бөлімдер атауы	Кеңесшілер, аты, әкесінің аты, тегі (ғылыми дәрежесі, атағы)	Қол қойылған күні	Қолы
Норма бақылау	Анапияев Б. Б.	23.05.2022	
Ғылыми жетекші	Анапияев Б. Б.	26.05.2022	

Ғылыми жетекші  б.ғ.д. профессор Анапияев Б. Б.

Тапсырманы орындауға алған білім алушы  Бейсенбек А. Қ.

АҢДАТПА

«*Oryza sativa* L. гаплоидтық биотехнологиясы» дипломдық жұмыс көлемі қағазды түрде 31 беттен тұрады. Дипломдық жұмыс кіріспеден, 3 бөлімнен, қорытындыдан, 8 сурет және 3 кестеден, 25 ғылыми оқу құралдарымен мақалалардан түзілген тізімнен тұрады.

Мақсаты: Күріштің (*Oryza sativa* L.) гаплоидтық биотехнологиясын зерттеу.

Дипломдық жұмыста күрішті (*Oryza sativa* L.) *in vitro* жағдайында гаплоидты биотехнологиялық әдіс негізінде өсіру зерттелген. Жасанды қоректік ортада қос гаплоидты күріш дақылын культивирлеу құндылығы жоғары өнім алуға мүмкіндік береді. Донор өсімдік ретінде ауруларға, қолайсыз орта жағдайына төзімді будан алынды. Зерттеулерде оқшауланған тозаңдар әдісін қолдана отырып, тозаңдарды асептикалық жағдайда оқшаулау жүргізілді. Андроклинді жиілікті арттыратын, нысан үшін жасанды қоректік орта және көмірсулардың оңтайлы құрамы таңдалды.

Түйінді сөздер: күріш *Oryza sativa* L., гаплоиды биотехнология, *in vitro*, дигаплоид, тозаң культурасы

АННОТАЦИЯ

Дипломная работа «Гаплоидная биотехнология *Oryza sativa* L.» объем в бумажном виде составляет 31 страницу. Дипломная работа состоит из введения, 3 разделов, заключения, 8 рисунков и 3 таблиц, списка из 25 статей с научными пособиями.

Цель: Исследование гаплоидной биотехнологии риса (*Oryza sativa* L.).

В дипломной работе исследовано выращивание риса (*Oryza sativa* L.) на основе гаплоидного биотехнологического метода в условиях *in vitro*. Культивирование двух гаплоидных рисовых культур в искусственной питательной среде позволяет получить продукцию высокой ценности. В качестве донорной растении было выбрано устойчивый к заболеваниям, неблагоприятным условиям среды растения. В исследованиях проводилась изоляция пыльника в асептических условиях с применением метода изолированных микроспор. Для объекта, увеличивающего андроклинную частоту, выбрана искусственная питательная среда и оптимальный состав углеводов.

Ключевые слова: рис *Oryza sativa* L., гаплоидная биотехнология, *in vitro*, дигаплоид, культура пыльников

ANNOTATION

Thesis «Haploid biotechnology of *Oryza sativa* L.» volume in paper form is 31 pages. The thesis consists of an introduction, 3 sections, conclusion, 8 figures and 3 tables, a list of 25 articles with scientific aids.

Purpose: Study of haploid biotechnology of rice (*Oriza sativa* L.).

The thesis investigated rice cultivation (*Oriza sativa* L.) based on a haploid biotechnological method in vitro. Cultivation of two haploid rice crops in an artificial nutrient medium enables to obtain high value products. As a donor plant, a plant resistant to diseases and unfavorable environmental conditions was chosen. Studies performed anther isolation under aseptic conditions using the isolated microspore method. For the object increasing the androcline frequency, an artificial nutrient medium and an optimal composition of hydrocarbons are selected.

Keywords: rice *Oriza sativa* L., haploid biotechnology, in vitro, digaploid, anthers culture

МАЗМҰНЫ

	Кіріспе	9
1	Әдебиетке шолу	10
1.1	Күріш « <i>Oryza sativa</i> L.» шығу тегі, таралуы мен маңызы	10
1.2	Селекцияда өсімдік өсіруде гаплоидтық биотехнологиялық әдістерді қолдану	11
1.3	Оқшауланған тозаң культурасы арқылы in vitro жақсартылған күріш (<i>Oryza sativa</i> L.) алудың гаплоидтық биотехнологиясы	13
1.4	Күріштің андрогенезіне әсер ететін факторлар	16
2	Тәжірибелік материалдар мен әдістер	18
2.1	Стерилизациялы жағдайларды қамтамасыз ету	18
2.2	« <i>Oryza sativa</i> L.» микроспоралы дақылында гаплоидтарды алудың сомалы жасушалық биотехнологиясы	20
2.3	Оқшауланған микроспор түйіршігін өсіруге қолайлы қоректі орталар	23
3	Зерттеу нәтижелері	25
3.1	Күріштің соматикалы жасушаларын бөліп алып, қоректік ортаға отырғызу	25
	Қорытынды	29
	Пайдаланылған әдебиеттер тізімі	30

КІРІСПЕ

Өзектілігі. Өсімдік селекциясындағы гаплоидты биотехнологиялық әдістер - перспективті. Гаплоидты технологияның селекциялық маңызы - сыртқы ортаның қолайсыз факторларына төзімді линиялар алу. Қазіргі заманғы нарықтың барлық талаптарына жауап беретін сорттарды жасаудың технологиялық процесі. Гаплоидты биотехнологиялық әдістер: эмбриогенез, қос гаплоидтар, аналық гаметофит, тозаң жасаушасы мен оқшауланған микроспора. Осы әдістер негізінде *in vitro* культурасында астық дақылдарын өсіруге болады.

Күріш (*Oryza sativa* L.) дақылының тозаңдарын *in vitro* оқшауланған микроспора культурасында (андрогенез) өсіру тиімді. Оқшауланған тозаң дақылдары көмегімен алынған өнім өсімдік селекцияның ерекшелігін арттырады. Генотиптерді іріктеу сәйкес келетін гомозиготалы желілерде жүреді.

Оны пайдалану қажетті құрылымды тезірек тауып, қос гаплоид өнім алу уақытын қысқартуға жол ашады. Күріштің тозаң деңгейіндегі *in vitro* культурасында эмбрионалды, андрогенді даму сатыларына әсер ететін тығыз байланысқан факторлар (гендік, физиологиялық, гормоналды және минералды) анықталды. Қоректік орта жағдайлары, өсу реттегіштерінің құрамы мен мөлшері микроспораның морфогенетикалық дамуына ықпал етеді.

Жұмыс мақсаты: Күріштің (*Oryza sativa* L.) оқшауланған микроспора культурасында эмбрионидтардың түзілу жиілігіне әсер ететін факторларды зерттеу.

Жұмыс міндеттері:

1 Күріштің (*Oryza sativa* L.) *in vitro* оқшауланған микроспора культурасында эмбрионидтардың түзілу жиілігіне генотиптің әсерін зерттеу;

2 Күріштің (*Oryza sativa* L.) *in vitro* оқшауланған микроспора культурасында эмбрионидтардың түзілу жиілігіне қоректік ортаның әсерін зерттеу;

3 Күріштің (*Oryza sativa* L.) *in vitro* оқшауланған микроспора культурасында эмбрионидтардың түзілу жиілігіне көмірсулардың әсерін зерттеу.

1 Әдебиетке шолу

1.1 Күріш « *Oryza sativa* L.» шығу тегі, таралуы мен маңызы

Күріш (*Oryza Sativa* L.) - Шығыс Азияның маңызды азық-түлік культурасы. Соңғы үш онжылдықта күріш өндіріс қарқыны үш есе өсті. Әлемдік халықтың өмірлік сұранысын қанағаттандыру үшін өнімділік пен сорттардың санын одан әрі арттыру қажеттілігі артуда [4]. Күріш (*Oryza sativa* L.) көмірсулардың көзі болып табылады. Астық дақылы құрамында крахмал мөлшері – 70%, белок -8%, май - 0,5%. Дәстүрлі түрде күріш азиялық культураболып саналады, бірақ Африка мен Америкада, Австралияда да өсіріледі. Әлемде халықтың шамамен 40% күрішті негізгі тағам ретінде пайдаланады. Еуропа мен Америка елді мекендеріне тағам рационына енгізу күрішті кеңінен қолдануға әкелді. Күріш өндіру орталығы бүкіл 42 әлем бойынша Қытай мен Үндістан алдыңғы қатарда. Күріш агроклиматтық жағдайлардың кең спектрінде өсіріледі. Дхамму таулы аудандардан бастап Дельтаның төменгі аудандарына дейін (Сундарбан), 53° солтүстік ендіктен 35° оңтүстік ендікке дейінгі аумақты қамтиды [1,21].

Қазақстан Республикасында күріш егісінің негізгі алаптарына Қызылорда облысы жатады. Дақылдық ерекшелігі, 1990 жылы Республикада күріш егісінің көлемі 124 мың гектар. Әр гектардан өнім 52,5 центнер болды, ал жалпы түсім 653 мың тонна болуынан байқалды. Күріш бабасы, Ы. Жақаев өз заманында 174 центнер гектарынан түсім алды. Еліміз күріш егісінің солтүстік аудандарына жатады. Табиғи ерекшеліктеріне сәйкес үш аймаққа бөле аламыз:

1. Солтүстік аудандар (Қаратал, Тасмұрын, Шарын, Қазалы)
2. Орталық алқаптар (Қызылорда, Шиелі)
3. Оңтүстік аудандары (Тоғызқұстық, Қызылқұм)

Біріккен Ұлттар Ұйымының азық - түлік және ауыл шаруашылығы ұйымы сарапшылар бағалауы бойынша 2012 жыл әлемдік күріш өндірісі 1,7% - ға өсіп, 781 млн.тоннаны құрады. Және де, соңғы жылдары әлемдік саудада күріштің белгілі бір тапшылығы байқалып сұраныс артуда, бұл бағаның өсуіне әкеледі [13].

Археологиялық және тарихи дәлелдерге сәйкес, өсірілетін күріштің пайда болуы орталығы *O.sativa* үшін Оңтүстік-Шығыс Азия, *O. glaberrima* шығу орталығы - Африка. Күріштің жалпы шығу тегі *O.perennis*, ал *O.sativa* көпжылдық *O. rufipogon* және бір жылдық *O. nivra*, ал *O. glaberrima* көпжылдық *O. barthii* [1]. Ұзақ уақыт бойы әртүрлі климаттық жағдайларға бейімделуіне байланысты *O. sativa* өсірілетін түрлері үш географиялық кіші түрге айналды, олар: *O. sativa indica*, *O. sativa japonica* және *O.sativa javanica*. Осы үш кіші түрдің арасында стерильділік кедергінің бары анық:

- *Japonica* кіші түрлері қысқа, жинақы өсімдікпен сипатталады. Сопақ немесе дөңгелек дәндер, паникулалар. Жапонияда бұл сорттар жақсы кездеседі.

- *Javanica* кіші түрлері өте жоғары, тік ұзын паникулалар мен тікенекті масақшалары бар өсімдіктер және негізінен Индонезияда өсіріледі екен.

- *Indica* кіші түрлері құрамында үлкен, кең таралған өсімдік түрлері бар. Морфологиялық белгілерінің алуан түрлілігімен бүкіл тропикалық және субтропикалық Азияда культивирленеді [1].

1.2 Селекцияда өсімдік өсіруде гаплоидтық биотехнологиялық әдістерді қолдану

Гаплоидия терминологиясы биотехнологиямен генетикада кеңінен қолданылады. Гаплоидтар (грек тілі. «haplos» - қарапайым, жалғыз) - соматикалық жасушаларында хромосомалардың жартылай (гаплоидты) саны ($2n$ орнына n) бар спорофиттер. Екі еселенген гаплоидтар - гаплоидты организмде хромосомалар санының екі еселенуі нәтижесінде пайда болған генотиптер [14]. Гаплоидтардың негізгі селекциялық артықшылығы - бейімділіктің морфофизиологиялық параметрлерін тез тіркеуге және мерзімін қысқартуға мүмкіндік беретін гомозиготаларды бір кезеңді алу. Ауылшаруашылық биотехнологтарының зерттеулері бойынша, гаплоидты технологияны қысқа уақыт аралығында гетерозиготалы гибридті тұрақты гомозиготалы будандарға тез аударуға мүмкіндік беретін ерекше биотехнологиялық әдіс ретінде қарастырады [10,11]. Алайда, оларды кеңінен қолдану тозақ мәдениетін, ұрықтандырылмаған аналық бездерді және эмбриокультураларды қолдана отырып, *in vitro* гаплоидтарын алу әдістерін жасағаннан кейін мүмкін болды [9]. Гаплоидтар ұрықсыз болады, себебі гомологиялық хромосомалар болмағандықтан мейоз процесі бұзылып, аномальдық хромосомалар жиынтығы бар гаметалар түзіледі. Хромосомалар екі еселену арқылы гаплоидты өсімдік гомозиготалы дигаплоидты ұрықты өсімдікке айналады [15].

Гаплоидты өсімдіктерді алудың әртүрлі әдістері бар, алайда оларды өсімдік тіндерін *in vitro* культивирлеу әдістерін дамыта отыра алу, мүмкіндікті арттырады. Осындай гаплоидтардың пайда болуының бірнеше жолы бар:

1) Бастапқы типтегі өсімдіктердің тозаңымен тозаңдану (индукторлар гаплоидтар), генетикалық негізде аналық және аталық индукторлар [16].

2) Байланысты емес түрлердің тозаңымен тозаңдандыру. Бидайды жүгерімен будандастыру генотиптерде гаплоидтарды алу үшін *Triticum spp.*, *in vitro* антерлер мәдениеті қолданылады [2].

3) Қос гаплоидтар өсімдіктерін алу - қашықтықтан будандастыру. Бастапқы кезеңдерде өсімдіктердің гаплоидты формалары дәстүрлі селекциялық әдістермен қашықтан будандастыру жасалды. Сонымен, *Triticum aestivum* L. және *Secale cereale* L. кесіп өтіп дигаплоид алынады. Жабайы байланысты түрлердің тозаңымен тозаңдану *Hordeum vulgare* × *H. bulbosum* арпа өсіруде гаплоидтарды алу үшін *bulbosum* әдісі қолданылады [16,19].

4) Аналық гаплоидтардың (гиногенез) *in vitro* индукциясы негізінен андрогенез бен тозаңдану индукциясы өсімдіктерде пайдалану тиімсіз. Қоректендіру ортасында өсіру кезінде ұрық қапшығының гаплоидты жасушалары эмбриондар (тікелей эмбриогенез) немесе морфогендік каллус (жанаме эмбриогенез) құрайды, одан өсімдік қалыптасады. Аналық гаметофит культурасында каллусогенез, эмбриогенез және тік регенерация процесі жүреді [3, 9].

5) Андрогенез (жасанды қоректік ортада оқшауланған антериялар мен микроспорлардан) және гиногенез (қоректік ортада оқшауланған жұмыртқалардан) арқылы гаплоидтарды алу процесі [16]. Өсімдік гаплоидиясын зерттеуді екі негізгі топқа бөлуге болады:

- Бірінші топқа андрогенездің нақты процесін және оның тиімділігіне әсер ететін факторларды, мысалы, донорлық өсімдіктерді өсіру жағдайларын, микроспоралардың даму сатысын, *in vitro* өсіру жағдайларын, өсірілетін өсімдіктің генотипін зерттеу [10,12]. Гаплоидтардың бір бөлігінде *in vitro* қоректік ортасында хромосомалар жиынтығының өздігінен екі еселенуі байқалады: дақыл түріне және өсіру жағдайларына байланысты 30%-дан 87%-ге дейін.

- Екінші топқа - қалған гаплоидты өсімдіктерді диплоидтарға ауыстыру тәсілдерін таңдау және олардың селекциядағы рөлін бағалау [10].

Жалпы андрогенез - *in vitro* жағдайында жетілмеген гаметофиттен спорофитті өсімдіктердің қалыптасу процесі, бұл гаплоидтардың пайда болуына әкеледі. Бір ұрпақ ішінде өздігінен екі еселенудің нәтижесінде қос гаплоидтардың толық гомозиготалы сызықтары пайда болуымен аяқталуы [7,8]. Андрогенез кезінде аталық гаметофиті *in vitro* индукциялаушы факторлардың әсерінен гаметофиттен ауысады. Эмбрионд түзе отырып спорофиттік даму жолдары немесе андрогендік каллус, гаплоидтардың немесе екі еселенген гаплоидтардың регенерациясы мүмкін [16]. Мұндай өсімдіктер көбінесе қашықтан будандастыру кезінде екі жолмен қалыптасады: а) тозаңданғаннан кейін, қандай да бір себептермен сперма мен жұмыртқа біріктірілмейді; б) тозаңданғаннан кейін жұмыртқа мен спермияның қосылуы жүреді, бірақ аналық хромосомалар жойылады. Нәтижесінде аналық ядролық геномы бар өсімдік пайда болады және аналық цитоплазмалық геномы аналық болады. Биотехнологтардың келтірген факторлары бойынша, аталық гаметофит мәдениетінде *in vitro* гаплоидты өсімдіктердің түзілу сатысын андрогенез деп түсіндіреді. Бұл жағдайда қалпына келтірілетін өсімдіктердің ядросы мен цитоплазмасында тек аталық ген болады. Дамудың бұл түрі үшін аналық цитоплазмалық геномы мен аталық ядролық геномы біріктірілген кезде "овулярлық андрогенез"термині ұсынылады. Керісінше, даму түрі үшін цитоплазма мен ядро да аталық шыққан кезде "микроспор андрогенез" термині қолданылады.

С.С Хохловтың зерттеулері басқа ұғымды ұсынады. Өсімдіктің аналық гаплоидтары - қысқартылған жұмыртқадан немесе ұрық қапшығының жасушаларынан дамыған цитоплазмасы мен аналық ядросы бар өсімдіктер.

Ұрықтандырылмаған аналық бездердің мәдениетінде алынған гаплоидты өсімдіктер екенін тұжырымдалды. Жұмыртқа жасушасынан немесе ұрық қапшығының басқа жасушаларынан дамыған өсімдіктер андрогенді гаплоидия. Оларда бастапқы хромосомалары спермиймен енгізілген хромосомалармен аламастырылады. Түрлердің әрқайсысының ішіндегі гаплоидтар геномдардың саны мен сапасы бойынша ерекшеленеді. Соған сәйкес олар екі негізгі топқа, ал топтар ішінде екі кіші топқа бөлінеді:

1 диплоидты және моногаплоидтары, бір геномы бар диплоидты негіз.

2 полиплоидтар, бір немесе бірден көп бірдей (автополигаплоидтар) және әртүрлі (аллополигаплоиды) геномдар [9].

Дәнді дақылдарда гаплоидтарды жасанды түрде алу үшін басты әдістер қолданылады: тозаңдардың культурасы және оның бір түрі - оқшауланған микроспоралардың мәдениеті және кейіннен тозаңдандырғыш хромосомалардың селективті элиминациясымен алыс будандастыру [14].

Тозаңқап культурасы кезінде каллус өсуі жиі кездеседі. Әрі қарай морфогенез нәтижесінде каллус жасушаларынан өсімдіктер регенерацияланады. Тікелей эмбриогенез жағдайлары сирек кездеседі, ол кезде пісіп жетілмеген тозаңды дәндерден эмбриондық құрылымдар қалыптасады, олар гаплоидты өсімдіктерге бастау береді.

Оқшауланған микроспор культурасы қос гаплоид алудың тиімді жолы. Потенциалды эмбриогенді жалғыз гаплоидты жасушаларды көп мөлшерде бөліп алуға болады. Бұл технология экономикалық тұрақты, өте орындалуы қарапайым. Белгілі бір түр мен нақты генотип бойынша қос гаплоид өсімдіктерін алуға негізделген [9].

Тозаңдандырғыш хромосомалардың селективті элиминациясымен алыс будандастыру әдісінің негізгі артықшылықтарының бірі дәндердегі тозаңдар мәдениетімен салыстырғанда альбинос өсімдіктерінің болмауы және дигаплоид желілердің генетикалық тұрақтылығы [25].

1.3 Оқшауланған тозаң культурасы арқылы *in vitro* жақсартылған күріш (*Oryza sativa* L.) алудың гаплоидтық биотехнологиясы

Күріш (*Oryza sativa* L.) гаплоидтарын алғаш рет Niizeki және Oono тозаң культурасы жолымен 1986 жылы алды. Күріш - бұл ерекше материал, онда шамамен кездейсоқ екі еселенген гаплоидтар оқшауланған микроспор культура негізінде 30-40% регенерант дигаплоид алынады. Күріш тозаң культурасы - бұл екі сатылы процесс каллустың бастапқы дамуы және кейінгі регенерация эмбриогенді каллустардан жасыл өсімдіктер алу. Күріш паникулалары жүктеу микроспоралар орташа және кеш ядросыз кезеңдерде болған кезде жиналады [22]. Селекционерлер үшін гаплоидты өсімдіктер ерекше қызығушылық тудырады, өйткені гаплоидты өсімдіктерден хромосомаларды екі есе көбейту арқылы толық гомозиготалы диплоидты өсімдіктер алынады. Гаплоидтарды тиімді пайдалану үшін олар мынадай талаптарды қанағаттандыруы тиіс: (1) кез

келген генотиптер үшін дигаплоид - желілерді алу тиімділігін; (2) қос гаплоид - желілер буданның генетикалық өзгергіштігінің спектрін көрсетуі тиіс және (3) дигаплоид-желілер генетикалық тұрғыдан тұрақты болуы қажет [14]. Селекциялық процесті жеделдету мақсатында жаңа материал жасау үшін *in vitro* тозаң культурасы сәтті қолданылады. Күріштің бірқатар сорттары осы әдіспен өсіріледі. Күріш селекциясындағы биотехнологиялық әдістері негізінде *in vitro* тозаңдар мәдениетін қолданып, күріш сорттарын жасау үшін зерттеулер жүргізілуде. Атап айтқанда, түрлі бағалаулар бойынша, *in vitro* антерлер мәдениетінен алынған күріш регенеранттарының 29-72% - ы өнімді дигаплоидтар болып табылады [17].

Оқшауланған микроспора культурасы мен тозаң түйіршігі (андрогенез) қолдана отырып, қысқа уақыт аралығында күріштің жоғары өнімді сорттарын өсіріп, көбею циклін тездете аламыз. Бұл әдіс *in vitro* мәдениетінде микроспорадан каллус қалыптастыру арқылы жүреді. Альбино өсімдіктерін антер мәдениетінен қалпына келтіру - бұл екі еселенген гаплоидтардың көп мөлшерінің пайда болуына ықпал ететін маңызды мәселе. Тозаң мәдениетінен алынған сорттардың көпшілігі *japonica* түріне жатады. Тозаңқап ультурасында андрогенез арқылы гаплоид алудың сәттілігі генотип пен донорлы өсімдіктерді өсіру жағдайы, микроспоралардың даму жолы және тозаңқапты қоректік ортада өсіру шарттары қатаң сақталады. Тозаңқап және микроспор түйіршігі культурасы әдісін қолдана отырып, Кореяда, Жапонияда, АҚШ-та, Ресейде, Италияда және басқа да көптеген елді мекендерде күріштің бірнеше сорттары жасалды [13,3]. Тозаң культурасы асқын суға төзімді, тұзға және суыққа төзімді күріш дәндерін алу үшін қолданылды. Осылайша, *in vitro* - да оқшауланған тозаң культурасы әдісін қолдану гомозиготалы, генетикалық тұрақтылығы жоғары сызықтарды алу уақытын едәуір қысқартады. Өнімділігі жоғары сорттардан, мүшелердің мөлшері мен сапасымен ерекшеленетін будандар құруға, жоғарғы қоректік құндылығы бар астық өнімдері алуға мүмкіндік артады. Осындай процестер өсімдік селекциясында күріштің оқшауланған микроспор культурасын дамытып, гаплоидты өнім алудың биотехнологиялық әдістері жаңаруда [4,18,20,3].

Аналық және аталық гаметофиттердің түрлі комбинациясына қарай гаплоидты генетикалы жыйынтығы ерекшеленеді. Мәселен, берілген бір организм хромосомасының гаплоидтық құрылымы бойынша ұрық клеткаларын дамытады. Гаметалардың тұқым қуалаушылық белгілеріне әсер етеді. Профазадағы бірінші реттік мейозды бөліну кезінде гомологиялы хромосома синапсисімен конъюгациядан басқа, ұрпақта тұқым қуалау вариациясы мүмкіндігін арттырады. Рекомбинацияға әкелетін ерекше кроссинговер сатысы орын алады. Бұл бір өсімдік гүлінен жақсы гендер тіркесі бар 30-40 мыңға жуық жақсы гендер тіркесі бар тозаң түйіршіктерін алуға жол ашады. Зерттеу нәтижелері бойынша, аталық гаметофит - жақсартылған генетикалық жүйе арқылы ерекше рекомбинантты іріктеп алу процесі. Селекцияда бұл әдіс түрлі жағдайда спорофиттік қасиеті бойынша тозаңдық негізінде жүргізуге мүмкіндіктер шексіз.

Ядроның микроспора ішінде митозды бөлінуі арқылы көп ядролы микроспора пайда болады. Одан әрі каллус, эмбрионид түзілісі арқылы толық өсімдік қалыпқа келеді. Өсімдік гаплоидтарын алуға жүргізілген сан түрлі зерттеулер, *in vitro* оқшауланған микроспора дамуы *in vivo* микроспорасының дамуынан әлде қайда ерекше екені анықталды. *In vitro* культурасындағы микроспоралар: дамудың гаметофиттік жолынан спорофиттік жолға ауысу арқылы эмбрионид түзілісі айқын; дедифференциалданады және каллус түзілісімен аяқталады; гаметогенез есебінен дамуын жалғастырады; микроспораның қалған шамамен жарты бөлігі нашарлап, қурап өледі [9].

Бір ядролы микроспор күріш (*Oryza sativa* L.) қос гаплоидты технологиясы төрт негізгі жүйеге бөлінеді:

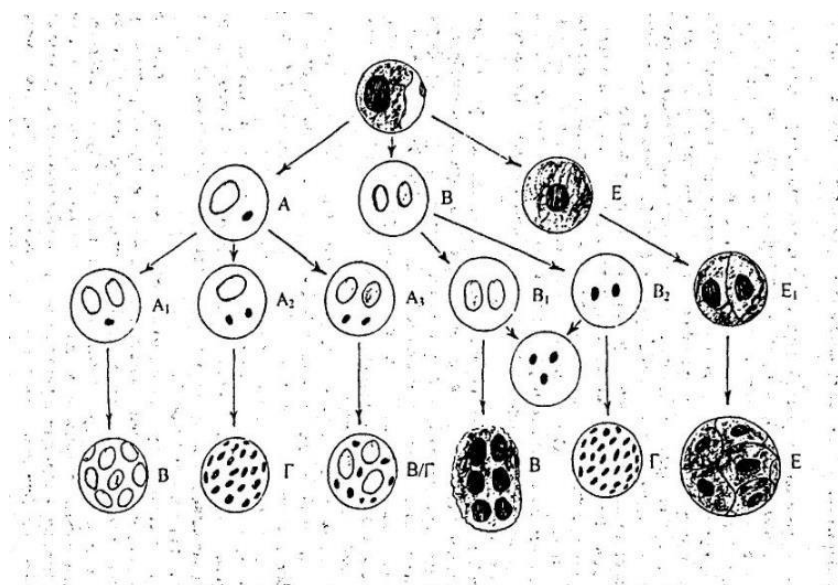
Біріншіден, микроспораларды олардың табиғи гаметофиттік жолынан физикалық, физиологиялық стресстің (жоғары немесе төмен температура) спорофиттік даму жолына химиялық компоненттер әсерімен біріктіру.

Екіншіден, эмбриогендік және эмбриогендік емес микроспоралардың бөлінуі.

Үшіншіден, оңтайлы өсіру шарттары тиісті қоректік орта, жұмыртқалармен ұрықтандыру және жайлы физикалық ортаны жағдайын қолдану арқылы алынады.

Төртіншіден, қос гаплоидты өсімдіктерді қалыптастыру негізінде эмбрионидтарды қатты, гормоналды емес ортада өсіру қажет.

Эмбриогенез сәтті басталғаннан кейін келесі кезеңдер барлық үш әдіс үшін бірдей және техникалық немесе технологиялық қиындықтар тудырмайды. Бұл зерттеулер мәдениетті арттыру, жасыл өсімдіктер өндірісінің жоғары көрсеткіштеріне қол жеткізу және алдыңғы қатарлы өсімдіктерді шоғырландыру мақсатында жүргізіледі [6,9].



1 Сурет - Күріш (*Oryza sativa* L.) эмбриогенді құрылым дигаплоид түзілу жиілігі

1.4 Күріштің андрогенезіне әсер ететін факторлар

Оқшауланған тозаң культурасында (*Oryza sativa* L.) өсімдігін өсіруде құнды құрал ретінде анықталғанымен, оның нақты қолданылуын түрлі факторлар шектейді. Оның ішінде жоғары генотиптік тәуелділік, каллус индукциясының төменгі жиілігі және өсімдік регенерациясы, сонымен қатар гаплоидты өсімдіктердің жоғары жиілігі [23]. Indika күріш сорттары тозаңқаптың ерте некрозына, каллустың нашар көбеюіне және ақ өскіндердің қалпына келуіне байланысты басқа мәдениетке шектеулі реакцияға ие болады. Күріштің тозаң дақылдарында айтарлықтай сорттық айырмашылықтар бар, ал *japonica* сорттарында антериялық өсу қабілеті *indica* сорттарына қарағанда жоғары. Күріште антерияны өсірудің сәттілігіне әсер ететін көптеген эндогендік және экзогендік факторлар келесідей:

- генотип;
- бастапқы донор өсімдіктерді өсіру шарттары;
- микроспоралардың даму сатысы;
- алдын ала өңдеу;
- микроспоралар мен антерлерді өсіру шарттары;
- кейінгі өңдеу және осмотиктерді қолдану.

Генотип. Осы уақытқа дейін хабарланған эндогендік факторлардың ішінде генотип *in vitro* андрогендік реакцияға әсер ететін негізгі фактор болып табылады. Индиканың 35 сортының тек 1-інде N6 ортасында тозаң қабығы бар екені анықталды. *Indica* күрішіндегі андрогенездің екі кезеңінде де азот, фосфор және калийдің жоғары дозалардың қажеттілігі артты [22]. Сонымен қатар, генотиптердің, қоректік ортаның және өсіру температурасының өзара әрекеттесуі каллусты индукциялау және қалпына келтіру үшін бүлікшіл гендерді белсендіруде маңызды рөл атқарады [24]. Бұл зерттеулер күріштің неғұрлым сезімтал генотиптерін таңдау және генетикалық емес факторларды, мысалы, өсіру ортасының компоненттері мен өсіруге дейінгі және кейінгі жағдайларды басқару күріштің антериялық өсіру қабілетін арттыруы мүмкін деп болжайды.

Бастапқы донор өсімдіктерді өсіру шарттары. Донор өсімдіктердің өсуі мен даму шарттары паникуладағы антерлердің физиологиялық сипаттамаларын анықтайды. Донорлық өсімдіктерді жүктеу кезеңіндегі температураның өзгеруі *in vivo* микроспораларының қалыпты дамуына, сондай-ақ *in vitro* микроспора андрогенезіне әсер етеді. Донор өсімдіктеріндегі азоттың оңтайлы деңгейі антерлердің эмбриогендік қабілеті жоғары микроспоралардан едәуір жоғары болуына әкеледі.

Микроспоралардың даму сатысы. Күріште ерте немесе орта және кеш даму сатылары бар ядросыз тозаң микроспоралары ең сезімтал және өсіруге жарамды. Осы кезеңдегі тозаң, бұрын суықпен өңделген, қалыпты дамудан ауытқып, спорофиттік өсуге көшуі мүмкін.

Алдын ала өңдеу. Тозаң дақылының даму кезеңінде температураны алдын-ала өңдеу, осмотикалық шок сияқты стресстің алдын алу андрогенезді индукциялау үшін өте маңызды. Дегенмен, бұл алдын-ала емдеудің түрі, түрлерге немесе сортқа байланысты ұзақтығы өзгеруі мүмкін. Суықпен алдын-ала емдеу суық соққылардан туындаған стресс кезінде микроспордың гаметофиттік дамуын тоқтатады және микроспордың үздіксіз бөлінуін каллус, эмбрионның өсіру кезінде спорофиттің пайда болуына негізделген [22].

Микроспоралар мен антерлерді өсіру шарттары. Тәжірибелік нұсқаулар көрсеткендей, микроспора түйіршігі дамуы тозаңқаптың өсу қарқындылығына байланысты. Алайда күріш сорттарының түрімен тозаңдардың орналасу ретіне тәуелді емес. Осындай шарттарға қарай тозаңдарды тандап алу, болашақта қоректік ортада өсімдікті культивирлеуді жеңілдетеді. Бір ядролы микроспораны іріктеу кезінде тозаң көлеміне назар аудару қажет, гүлді бүршікті 3,6-6 мм және 3,0- 4,0 мм тозаңқап. Индукциялық каллусогенезге қажетті гүлді бүршік пен тозаң арасындағы өлшемдік байланысы бір және бірнеше реттік ұзақ уақыт аралығында культивирлеуде экспланттарды іріктеп алу үшін маңызды [5].

Осмотикалық стресс. Осмотикалық стресс немесе судың жасушалық құрамының жоғалуы көбінесе эмбрионалды жасушалар арасындағы плазмодесматикалы байланыстарды бұзады. Микроспора түйіршігі осмотикалық стресс *indica* және *japonica* сорттарындағы жасыл өсімдіктердің қалпына келу жиілігін арттыратыны көрсетілген [22].

2 Тәжірибелік материалдар мен әдістер

Тәжірибелік зерттеу жұмыстары Алматы қаласында орналасқан Сәтбаев университетіндегі Технопарк корпусының зертхана қабырғасында «Биотехнологиялық зерттеу орталық» 103 бөлімінде жүргізілді. Зертханада күріш дақылын арнайы пробиркаға отырғызып, бақылады.

Зерттеу жұмысының басты мақсаты – асептикалық жағдайларды сақтай отыра өсірілетін өсімдіктердің тозаңдарымен стерильді ортада тұқым алу және де болашақта дақылдың жетілуін зерттеу. Қолданылатын өсімдік материалын залалсыздандыруды үйрену, практика жүзінде пайдалану.



2 Сурет - Технопарк корпусының «Биотехнологиялық зерттеу орталығында » асептикалық жағдайда күріш (*Oryza sativa* L.) сорттарының жасушасын бөліп, жасанды *in vitro* қоректік ортаға отырғызу сатысы

2.1 Стерилизациялы жағдайларды қамтамасыз ету

Зерттеу жұмысында алдымен күріштің оқшауланған жасушалық тіндері мен мүшелерін дәл өсіру үшін бізге қатаң асептикалық стерильді орта жағдайларын қамтамасыз ету өте маңызды. Неге десеміз, стерилизация қатаң сақталмаған жағдайда микроағзалар өсуіне жағдай жасалып, алынатын өнімге нұқсан келеді. Ал микроорганизмдер өз кезегінде теріс әсер етіп, қоректік орта құрамы мен қасиетіне өзгеріс әкеледі. Осындай жағдай оқшауланған клеткалармен тіндерін микроағзалармен жылдам зақымдалып, зерттеу жұмыстарын тежейді. Тәжірибелік жұмыс *in vitro* жағдайында болғандықтан, әрбір ламинар бокста жүргізілетін жұмыс қатаң стерильдікті талап етеді.

Қауіпсіздік боксқа стерильдікті қамтамасыз ету жұмыстың бастамасы ретінде. Залалсыздандыру қауіпсіздік бокс үшін орналастырылған бактериялы сүзгі көмегімен жүргізіледі. Ол ауа айналымын қамтамасыз ету үшін маңызды. Зерттеуді жүргізу алдында ламинардың ішкі ортасын қауіпсіздік боксі 70% спирт көмегімен стерильденуі тиіс. Әрі қарай боксқа спиртті шам 96%-ды фарфорлы шыны ыдысқа алдын ала спиртпен тазартылған су мен колбаларды орналастырамыз. Жұмыс бастар алдында 1-2 сағ бұрын ламинарлы боксты ультракүлгінді шамдар көмегімен сәулелеп алу керек. Зерттеу жұмыстары үшін ақ халат, арнайы 70% спирт арқылы залалсыздандырылған қолғап кию маңызды.

Зерттеу материалдарын стерилдеу жолдары. Зерттеу материалдары дәнді-дақыл, тамыр фрагменті, жапырақ бөліктерін стерилдеу өте маңызды. Залалсыздандыру үшін өсімдік фрагменттерін 70% - ды спиртті ерітіндіге 5-6 минут аралығында орналастырамыз. Бұл дегеніміз, өсірілетін өсімдік бөліктерінде қатаң асептикалы шарттардың болуына негізделеді. Стерилизация көрсетілген (5-6 минуттық 70% - ды спирт ерітінді) мерзімнен артық жүргізілер болса, тәжірибе өсімдік өлімімен аяқталады.



3 Сурет - Қауіпсіздік боксінде құралдарды стерильдеу

Тәжірибелік құралдарды залалсыздандыру. Құрал-саймандарды залалсыздандыру шаралары. Ыдыстарды мұқият детергент және қос тотықты калий ерітінді көмегімен жуамыз. Таза жуылған ыдысты дистилденген сумен әрі қарай жақсылап шайып, кептіргіш шкафта толықтай кептіріледі. Залалсыздандырылған аспаптарға бөгде заттар ауадан түсіп кетпес үшін колбалар мен әйнек ыдыстардың мойынды бөлігін альминий фольга орағыш көмегімен орау қажет. Қызған автоклав көмегімен ыдыстар құрғатылады. Осылайша, мүмкін болатын микроағзалар тіршілігін жояды. Жоғарғы қысымда жақсы стерилизацияға қол жеткізуге болады. Алайда спора мен микроорганизм үшін кептіргіш шкафта қызған ауаның теріс әсері бар. Сол себепті, кептіру 2 атм қысымда 30-40 мин аралығын қамтиды.

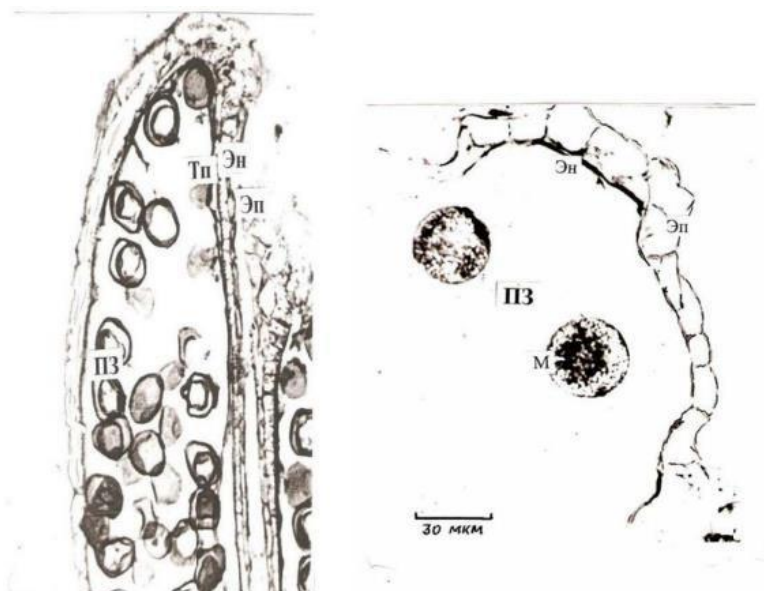
Жұмысқа қажетті ыдыстарды скальпельді, пробирканы, пинцетті, инені, микробиологиялық ілмекті қыздыру арнайы кептіргіш шкаф арқылы жүзеге асады. Яғни стерилдеудің бұл түрі 130°C - 140°C температура негізінде құрғақ қызған жылуда 2 сағат бойында жасалады. Есте сақтау қажет, металл құралдарды автоклавта кептіруге болмайды. Әрі қарай жоғарыда келтірілген құралдарды 96% - ды этил спирт бар спиртовка арқылы стерилдеу шарт. Ламинар бокста аспаптар суытылып қолданылады. Әр пайдаланған соң спиртті жалынмен қыздыру арқылы бұл процесс қайталанады. Тәжірибе бойында стерилизация ережелерін сақтай отырып, ламинарлы бокстан қолымызды шығармай жұмыс жүргізуіміз керек.

2.2 « *Oryza sativa* L.» микроспоралы дақылында гаплоидтарды алудың сомалы жасушалық биотехнологиясы

Бастапқы тозаңдағы микрокаллус дамуына орта линиялар мен кесінділердің қалыңдығы 10мкм болатын, тозаңның барлық ұзындығы бойынша кесінді саны 200-ге дейін жетеді. Тәжірибелік түрде 44 күріш тозаңы алынды.

Тозаң культурасының дамуы гүлдермен андрогендік тозаң түйіршіктерінің пайда болуы мен пісіп жетілу сатысы. Зерттеулер ірі археспоралді тозаңқап жасушалары даму сатысында тозаң қабырғасы мен спорогенді тіні арқылы тозаңды астықтың қалыптасуы байқалады. Экзотеция мен эндотеция, орталық қабатпен орбикулалы тапетума арқылы динамикалық тозаңның дамуы жүреді. Сондай-ақ, спорогенді тін – микроциттер, микроспора және тозаңды дақылдың пайда болуы процесі орын алады. Күріш (*Oryza sativa* L.) тозаң культурасының дамуының үш негізгі кезеңі: премейотикалы, мейотикалы және постмейотикалық.

Премейотикалы кезең салыстырмалы күшейтілген митотикалық белсенділікпен сипатталады. Нәтижесінде тозаң қабырғасы мен спорогенді тін негізінде болашақ тозаң ұяшығы қалыптасады. Ол споралық жасушаның микроспоралық жолға ауысуымен аяқталады. Бұл сатыда тозаң эпидермиспен қоршалған бірыңғай меристемалық жасушадан тұрады. Переклинді бөліну нәтижесінде (қабырғаның пайда болуымен байланысты) археспоралық сыртқы жасуша - біріншілік париенталды және ішкі - спорогенді бір-бірінен функционалдық ерекшеленетін жасушалар түзіледі. Премейотикалық сатыда париенталды жасушадан тозаң қабырғасы қалыптасады. Ал спорогенді жасушадан аналық микроспора дамиды.



4 Сурет - Күріш (*Oryza Sativa*.L) тозаң дақылының дамуы және тозаң қабының дегенерациясы. Тозаң дақылындағы митоз сатысы

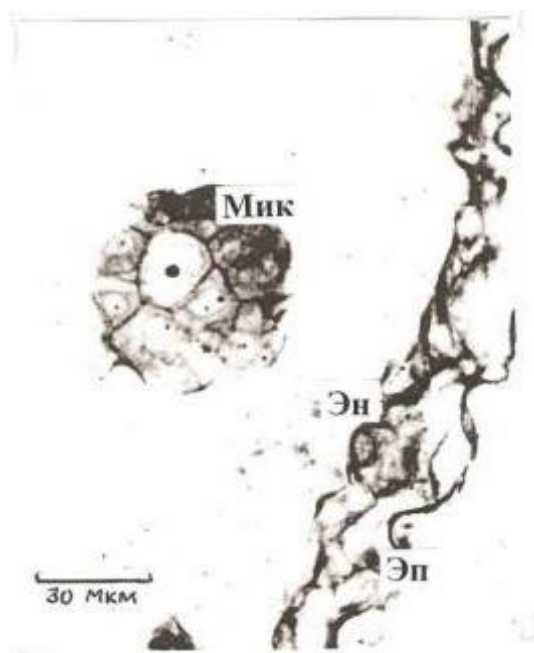
Митоз сатысы аяқталғаннан кейін спорогенді жасушаның ядролық көлемдік ұлғаюы арқылы микроспораға айналып мейозға ұласады. Екі мейотикалық бөлініс нәтижесінде гаплоидты микроспора тетрады пайда болады. Барлық тетрады ядролық бөліну синхронды түрде жүреді. Микроспора тетрады каллозды қабықпен қоршалған тетрадтың энзиматикалық еруіне байланысты жекелеген микроспораларға ыдырауы байқалады. Тозаң қабырғалары қабаттарының саралануы мейотикалық және постмейотикалық тозаңның даму кезеңдеріне ықпал етеді. Эндотеция - эпидермистің астындағы тозаң қабырғасының сыртқы қабатты. Ол бастапқы париеталдық қабаттың туындысы болып табылады. Орташа қабат эндотеция мен тапетум арасында орналасады. Орташа қабаттардың саны қосымша периклинальдық бөліністердің есебінен өзгеруі мүмкін. Ортаңғы қабаттар эфемерлі, мейоздың басталуымен олар біртіндеп дегенерацияланады, ал тозаң пісіп жетілген кезде мүлдем жойылады. Дегенерация белгілері микроспоралардың ядросын бөлу кезінде байқалады. Микроспорангийлердің даму процесінде микроспороциттер тапетумға іргелес бір қабатқа орналасады.

Тапетум – ішкі, спорогенді жасуша қабатына жанасатын алғашқы париеталдық қабаттың туындысы болып табылады және жасушалық құрылымды микроспор сатысына дейін сақтайды. Тапетум дамушы микроспоралы дақылға, микроспораға, тозаңға заттардың түсуіне жауапты. Тозаң дәндерінің пісіп жетілуіне қарай тапетум біртіндеп лизацияланады. Тозаңның эпидермисінің бастапқы сатыларында дұрыс пішінді жасушалары болады, олардағы бөліністер тек антиклинальды бағытта (клетканың пайда болуы). Кейінгі сатыларда эпидермистің сыртқы қабырғасы кутикуламен жабылады, жасушалар үлкейеді, тұтасады немесе тісті болады.

Постмейотикалық кезеңде тозаң қабырғасындағы тиісті өзгерістер аясында тозаң дамиды және жетіледі (сурет-9). Тетрадты бөліністен кейін микроспора мөлшері аз, жасушаның ортасында ядросы және қалың цитоплазмасы бар.

Әрі қарай тозаң дақылы мег ядро көлемде ұлғаяды, вакуоль, ядро пайда болады. Цитоплазманың үстіңгі қабатына жылжып, митотикалық бөлінеді (сурет-11). Тозаң дәнінің қалған көлемін алатын шағын линза тәрізді генеративті және вегетативті жасушалар түзіледі. Генеративті жасуша кейін вегетативті ішке ауыстырылады. Ядро жанында жетілген тозаң дақылы орналасады. Вакуоль жоғалады, цитоплазма қосалқы заттармен толтырылады (белоктар, крахмал және майлар). Жетілген тозаң дәндері екі жасушалы.

Күріш тозаңының қабырғасы мен байланыстырушы тіндер андрогенезге әсер етпейді, өйткені меристематикалық белгілері бар бастапқы құрылымдары жоқ. Күріштің бастапқы құрылымдары тек фитогормондардың әсерінен андрогенді гаплоидты эмбриогенез беретін тозаңды дәндер ғана болып табылады. Дамудың ерте сатыларындағы тозаңдар да тетрад сатысына қарағанда өзгеріссіз теріс нәтиже көрсетеді, өйткені олардың морфогенетикалық дамуы төмен. Жекелеген тозаңдардың кесінділерінде тозаңқап дәндердің митоздары және ның ішінде микрокаллустың пайда болуы (сурет-11). Тозаң қабырғасын зерттеулерде өсу реттегіштері қолданылды: аукциондар - 2,4-Д, α - нафтилуксус қышқылы, индолилуксус қышқылы және кинетин. Сорттың генотипіне байланысты каллустың түзілуі 5-тен 30% -ға дейін болады.



5 Сурет - Микроспорадан 16 жасушалық каллустың түзілуі. Тозаң қабырғасының дегенерациясы

2.3 Оқшауланған күріш микроспор түйіршігін өсіруге қолайлы қоректі орталар

Көмірсулар минералдық элементтер, гормондар және органикалық қоспалардың жақсартылған концентрациясы мен арақатынасын жасау үшін өсімдіктердің тозаң культурасында микроспор түйіршігінің морфогенді құрылымдардың пайда болуына: Мурасиге - Скуга модификациясы, N6, Блейдз, Гамбург B5, Ничь пен Potato II сияқты түрлі қоректі орталар зерттеуде жоғарғы нәтижелерге қол жеткізу үшін негіз. Күріштің (*Oryza sativa* L.) микроспоралық дақылы үшін құрамы бойынша Мурасиге - Скуга және N6 (қытай ортасы) орталары оптималды. Мурасиге-Скуга (МС) және N6 модификациясы андрогенезді индукция мен дақылдарда морфогенезді жиілікті арттыру мақсатында қолданылады.

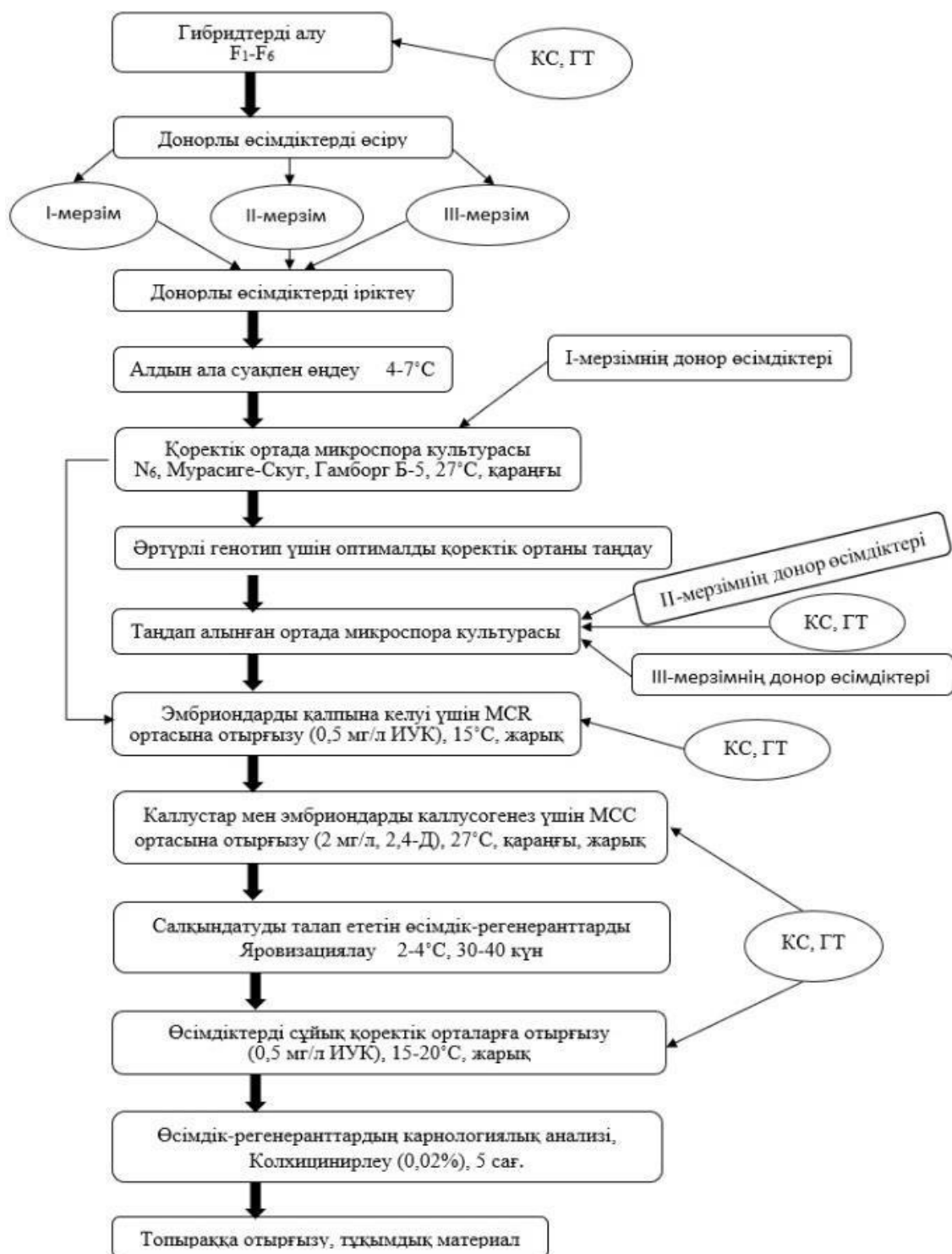
Минералды тұздар. Өсімдік тіндерінің мәдениеті бойынша эксперименттерде қолданылатын барлық қоректік орталардың негізі. бұл макро және микроэлементтермен ұсынылған минералды тұздардың қоспасы.

Көмірсулар. Көміртек көзі ортаға сахароза, глюкоза немесе мальтоза түрінде енгізіледі. Сахароза көміртектің көзі ғана емес, сонымен қатар осмотик болып табылады. Басқа дақылдармен салыстырғанда, тозаң өсіру үшін манит сахарозасының жоғары концентрациясын мальтоза каллус пен жасыл өнім алу үшін пайдалы.

Гормондар. Өсімдік тіндерінің мәдениетіндегі қоректік ортаны оңтайландыру кезінде ауксин, цитокинин қатынасын өзгерту арқылы жүзеге асырылатын морфогенезді гормоналды бақылауға ерекше көңіл бөлінеді. Ауксиндердің ішінде өсімдік тіндерінің мәдениетінде көбінесе 2,4-Д (дихлорфеноксиуксосты қышқыл) қолданылады. Фитогормондар немесе олардың синтетикалық аналогтары морфогенез кезеңінде әсер етеді. 2,4-Д концентрациясы 0,1 мг/л-ден жоғары тікелей эмбриогенезге оңтайлы. Күріш дақылдардың каллусогенезіне және субкультивация кезінде өсімдіктердің пайда болуына ықпал етеді. 0,1 мг/л-ден төмен концентрация күріш тозаңын өсірудің бастапқы кезеңінде тікелей эмбриогенезге және өсімдіктердің қалпына келуіне ықпал етеді. 2,4-Д-ны қоректік ортада эмбриондар мен каллустардың қалпына келу потенциалын да, қалыпты жасыл өсімдіктердің пайда болу пайызын да арттырады. 2,4-Д және кинетині бар N6 ортада күріш микроспорларды сәйкесінше 2,0 мг/л концентрациясында өсіруді ұсынады.

Органикалық қоспалар. Морфогенетикалық потенциалды жоғарылату үшін микроспораға әртүрлі қоспаларды қолданады: фикола, белсендірілген көмір, амин қышқылдары, гаметоцидтер, кейде агардың орнына вискоза қолданылады.

Агар. Кейбір авторлар агар каллусогенезге және жасыл қалыпты өсімдіктердің кейінгі қалпына келуіне теріс әсер етеді деп санайды. Агарда ингибиторлар болуы мүмкін деп болжанады, олардың әрекеті өсіру кезеңінде жетілмеген эмбриондардың түсік түсуіне әкеледі. Сондықтан кейде агарсыз сұйық ортаны қолдану ұсынылады.



6 Сурет - Күріштің микроспоралы культурасы негізінде гаплоидты жасушалық жүйесі мен дигаплоидты линияларды алу

Демек, өсімдіктердің әр түрлі түрлері мен типті сорттары үшін гаплоидты биотехнологияны дамыту кезінде көптеген факторларды ескеру қажет: генотип, қоректік орта құрамы, донор өсіру шарттары, сонымен қатар экспланттарды зарарсыздандыру, алдын-ала өңдеу және өсіру шарттары, тіпті олардың бағытына қарай.

3 Зерттеу нәтижелері

Лабораториялық күріш сорттары мен үлгілері: «Рапан», «Хазар», «Регул», «Аметист», «Лидер», «Аналог-2» тәжірибелік зерттеу материалы ретінде күріш сорттары таңдалынып алынды. Күріш астық дақылын тозаң культурасы андрогенез әдісі арқылы модифицирленген N6 және Мурасиге - Скуга арнайы қоректі ортаға енгізілді. Осындай қоректік орталардың құрамында фито-гормондар, концентрациясы 90 г/л мезоинозит болады. Мальтоза мен сахароза көмірсулары қажетті мөлшерлі қатынаста пайдаланылады.

Тәжірибелік зерттеу жұмыстарын қатаң асептикалық жағдайларды қамтамасыз ете отыра жасаймыз. Қажетті құралдары қолданып, бөлінген өсімдік жасушасын арнайы өсу реттегіштерімен байтылған қоректік ортаға орналастырамыз. Оқшауланып алынған күріш тозаңын уақыт жоғалтпай бірден қоректі ортаға отырғызу қажет. Себебі, оқшауланған жасуша белгілі бір уақыт аралығында өліп қалуы мүмкін. Қоректі ортадағы сомалық тіндерді арнайы парафинді қағазбен жақсылап бекітіп, температуралық жағдайы 26-27 °C термостатқа бір аптаға орналастырамыз. Тозаң культурсы үшін төменгі температурада өңдеу орынды. Ол дамудың андрогенездік жиілігін арттырады.

Күріштің арнайы қоректік ортасын әзірлеу шарттары:

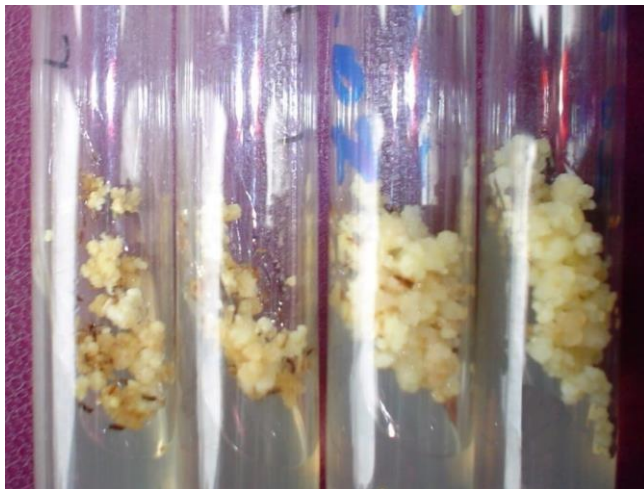
- 1 л қоректі ортаны әзірлеу үшін арнайы ыдысқа 400 мл дистильденген суды құйып алып, 90 г/л сахароза N6 ортасы үшін салынады, 110 г/л сахароза МС ортасына. Мальтоза 60 гр/л Мурасига- Скуга мен N6 ортасы үшін .
- Сахарозаны дұрыстап ерітіп, зерттеуге керекті концентрацияда (макро және микро элементтер, фитогормондар негізінде) қосылады.
- Дистильденілген суды 950-955 мл көлемде құямыз.
- Қоректік ортаның қышқылдық дәрежесі РН- 5,7- 6,0.
- Қоректі ортаны керекті 1л колбаға және өлшемді көрсеткіші бар цилиндр ыдысқа ауыстырылып алынады.
- Дайын болған қоректік орта ауызын фольгамен дұрыстап жауып, суығанын күтіп, автоклавқа орналастырамыз.

3.1 Күріштің соматикалы жасушаларын бөліп алып, қоректік ортаға отырғызу

Жұмыстың алғашқы аптасында тозаң аталық ұлпаларынан шыққан құрылым проценті бойынша есептеу жұмыстары жүргізілді. In vitro жағдайында гаплоидты технологиялық әдістер негізінде жүзеге асады. Күріштің оқшауланған тозаң мен микроспоралық жасушаларын культивирлеу түрлі орта жағдайларының әсеріне қарамастан, түрлі генотиптен жақсы эмбрионидты морфогенді түзілістің жарыққа шығуы көрінді.

Микроспорлық жоғары даму жолында in vitro жасанды қоректік ортасында оқшауланған күріш тозаңы гаметофитті даму сатысынан сапрофитті

даму сатысына ауысуы байқалады. Қоректік ортада өсірілген оқшауланған микроспорлы тозаң андрогенез процесінің әр даму сатысында ішкі метоболизмге сәйкес құрылымы өзгеріске ұшырайды. Нәтижелерден микроспор түйіршігінің бастапқы тозаңқап қабатынан ажырағанын тәжірибелік түрде көрінісін байқадық.



7 Сурет - Күріш дақылының (*Oryza sativa* L.) тозаңдарынан *in vitro* жасанды ортада алынған андроклинді құрылымдар (морфогенді каллустар мен эмбриондар)

1 Кесте - Күріш астық дақылының (*Oryza sativa* L.) тозаңдарына Мурасиге-Скуга және N6 қоректік ортасының андроклинді түзіліс жиілігіне әсері

№	Генотип	Мурасиге-Скуга %	N6 %
1	Рапан	7,76	7,76
2	Хазар	8,42	5,27
3	Регул	5,27	10,09
4	Аметист	3,33	9,71
5	Лидер	4,83	8,87
6	Аналог-2	4,2	5,9

2 Кесте - Күріш дақылының (*Oryza sativa* L.) тозаңдарының андроклинді құрылым түзу жиілігіне Мурасиге-Скуга қоректік ортасы мен көмірсулардың әсері

№	Генотип	Мурасиге-Скуга	
		Мальтоза %	Сахароза %
1	Рапан	4,16	3,61
2	Хазар	5,55	2,87
3	Регул	3,05	2,22
4	Аметист	1,11	2,22
5	Лидер	2,22	2,61
6	Аналог-2	3,70	2,5

3 Кесте - Күріш дақылының (*Oryza sativa* L.) тозаңдарының андроклинді құрылым түзу жиілігіне N6 қоректік ортасы мен көмірсулардың әсері

№	Генотип	N6	
		Сахароза%	Мальтоза%
1	Рапан	4,44	3,33
2	Хазар	3,05	2,22
3	Регул	4,54	5,55
4	Аметист	4,16	5,55
5	Лидер	5,55	3,33
6	Аналог-2	4,24	1,66



8 Сурет - Күріштің (*Oryza sativa* L.) оқшауланған микроспора культурасында эмбриогенез процессі (N6 қоректік ортасы, сахароза мен мальтоза)

Тәжірибелік жұмыс нәтижелерінен андрогенез процесінде күріштің оқшауланған микроспора культурасында Мурасиге-Скуга және N6 қоректік орта жағдайларында 6 түрлі генотиптен эмбрионалдық түзілістің өсуін көреміз. Күріш оқшауланған тозаңы жасанды қоректік ортада культивирленіп, споралық жасушаның өзгерісінен морфологиялық даму сатысына зерттеу жасалды. Микроспораның эмбрионалды бөліністен кейін төменгі 4-6°C температуралық орта жағдайына қарай (*Oryza sativa* L.) оқшауланған спора культурасында эмбрионидты құрылым жиілігі жоғары екені анықталды. Сол себепті, культивирленуі, андрогенез сатысының эмбриониды көрсеткіші оң нәтиже берді. Эмбриоқұрылымның жиілігі тікелей генотиптер орналасатын жасанды қоректік ортаның құрамы мен қалпына байланысты.

«*Oryza sativa* L.» - 6 түрлі : «Рапан», «Хазар», «Регул», «Аметист», «Лидер», «Аналог-2» зерттеу объектісі генотиптеріндегі микроспораның андроклиндік даму жолында қолданысқа ие болған сахароза мен мальтозаның мөлшерлі қатынасын пайдалануға қарай айырмашылықтары байқалды. Қант пен мальтоза консистенциясын алмастыру арқылы линиялар мен генотиптердің индукциялық жиілікке жақсы әсерін көреміз.

Мәселен, Рапан генотипі үшін Мурасиге-Скуг және N6 ортасы 7,76 %. Ортаның түріне тәуелсіз генотип бірдей нәтиже көрсетті. Хазар генотипінен МС ортасында 8,42%, ал N6 ортасы үшін 5,27% нәтиже алынды. МС ортасының N6-нан (3,15% дәрежеге) артық болуы, осы генотип үшін МС ортасының қолайлы екені анықталды. MS-5,27 % N6-10,09% Регул генотипі құрады. Басты айырмашылық N6 ортаны МС қоректік ортасымен салыстырғанда екі еселік (4,82%) дәрежеге қол жеткіздік. Осылайша, өнім алу қарқындылығын жоғарлаттық. Келесі Аметист генотипінде N6-9,71% болып, қолайлы орта екені көрінді. МС ортасы - 3,33% , сәйкес N6 ортасынан (6,38%) төмен. Бұл көрсеткіш МС қоректік ортасында өнім алу мүмкіндігін азайтады. Лидер генотипінде 4,83%- МС төмен, 8,87%- N6 қоректік ортасы оң нәтиже көрсетті. Ал, Аналог-2 генотипі үшін MS ортасы қолайлы. Өйткені, Мурасиге-Скуг N6 ортасынан 1,7% -ға артық көрініс болды.

Таңдалып алынған 6 генотип бойынша N6 ортасында сахароза 4 генотип МС ортасымен салыстырмалы жоғары нәтиже көрсетті. Себебі, N6 ортасында микроспоралық дақылда дигаплоид алу мүмкіндігі басым. Сахароза энергетикалық бай көмірсутегі болғандықтан 4 генотипте төзімділігі жоғары тозаңқап алынды. Салыстырмалы мальтоза төмен көрсеткіште. Өйткені, бастапқы микроспоралық көбеюде ықпалы аз. Бірақ, мальтоза каллусогенезді даму сатысына жасыл регенерант өсімдік алда маңызды.

Зерттеу жұмысын жалпы қорыта келе, тозаңдардың эмбриогенді, морфогенді, андроклинді эмбро құрылымдардың даму сатысы генотиптен басқа донер-өсімдіктердің өсуіне жауапты орта жағдайына тікелей байланысты екен.

ҚОРЫТЫНДЫ

Ауылшаруашылық өсімдік селекциясының басты мақсаты - қысқа мерзімде жақсы жетілген, түсімі жоғары, түрлі орта жағдайына төзімді сорттар мен линияларды алу. Дәстүрлі селекцияда әртүрлі факторларға төзімділігі жоғары күріш өнімін алу уақыты ұзақ 8-10 жыл аралығын талап етеді. Гаплоидты технологияның мүмкіндіктерін қолдана отырып, андроклинді гаплоид алу уақытын 1-2 жылға қысқарта аламыз. Андрогенездік гаплоидтың шығуына донорлық өсімдіктің генотипі, микроспораның даму кезеңі, қоректік ортаның құрамы және де әртүрлі стресстік әсер ететін факторлар ықпалын тигізеді.

1. Күріштің оқшауланған тозаң мен микроспора культурасынан жақсартылған дигаплоидтарды алудың биотехнологиялық процесін жасау, селекциялық даму сатысын жылдамдатады. Дигаплоид ерекшелігі, бірінші реттік генерациялаудан гомозиготалы линиялар алынады. *In vitro* жағдайында күріштің (*Oryza sativa* L.) андрогенез процесі негізінде оқшауланған тозаң культурасынан андроклинді түзіліс жиілігі артып, генотипке оң әсер етті.

2. Күріш (*Oryza sativa* L.) генотиптерінің қоректік ортаның түрі мен әсер етуші факторларға байланысты андроклинді жақсы өнім алынды. Генотиптер Рапан(7,76%), Регул(10,09%), Аметист(9,71%), Лидер(8,87%), Аналог-2(5,09%) үшін N6 қоректік ортасы қолайлы. Мурасиге-Скуг ортасы тек Хазар(8,42%) мен Рапан(7,76%) генотиптеріне жоғарғы дәрежені көрсетті. N6 ортасы андрогенезді модификация бойынша күріш генотипі үшін оптималды.

3. Күріштің (*Oryza sativa* L.) *in vitro* оқшауланған микроспора культурасында *in vitro* эмбриондардың түзілу жиілігіне мальтоза мен сахароза әсер етті. Көмірсулардың консистенциялық құрамына қарай мальтоза Мурасиге-Скуг пен N6 қоректік ортасында бірдей қатынастағы(4,16% 5,55%) эмбриогенезді жиілік көрінді. Сахароза көмірсутегі N6 қоректік ортасында (5,55% 4,54% 4,16%) Мурасиге-Скуг (2,22% 2,5%) қоректік ортасымен салыстырғанда жоғары нәтиже алынды. N6 қоректік ортасындағы сахароза көмірсутегі перспективті әсерінен жоғары индукциялық жиілікте андроклинді өнім алынды.

ПАЙДАЛАНЫЛҒАН ӘДЕБИЕТТЕР ТІЗІМІ

- 1 Vijay D., Bidhan Roy. Rice (*Oryza sativa* L.) // Breeding, Biotechnology and Seed Production of Field Crops., -2018, – P. 71-75.
- 2 Джачук Т.И., Акинина В.Н., Хомякова О.В., Калашникова Е.В. Отдаленная гибридизация как метод получения гаплоидных растений у злаков // Биотехнология и селекция растений, -2019. – С. 44-52.
- 3 Жүргенов А., Жаңбырбаев Е., Сапахова З.Б., Анапияев Б.Б. Күршітін тозандар культурасындағы эмбриоидогенез процесінің жиілігіне әсер етуші факторлар // IV (IX) ғылыми-студенттік конференция. ҚазҰАУ. Алматы - 2005.- 195 б.
- 4 Mohiuddin A. K., Nilufer Hye Karim and Shahanaz Sultana. Development of improved doubled-haploids through anther culture of indica rice (*Oryza sativa* L.) // Annals of Biological Research., -2014, – P. 6-7.
- 5 Жамбакин К.Ж. Биотехнологические основы получения гаплоидных растений // Автореф. дисс. на соискание ученой степени докт. биол. наук., – Астана, -2004, – С. 6-7.
- 6 Urazaliyev K.R. Doubled Haploids Technology in Plants Theory and practice., -2015, – P. 33-34.
- 7 Ahmadi B., Ebrahimzadeh H. In vitro androgenesis: spontaneous vs. artificial genome doubling and characterization of regenerants // Plant Cell Reports., -2020, – P. 299–316.
- 8 Dwivedi S.L., Britt A.B., Tripathi L., et al. Haploids: constraints and opportunities in plant breeding // Biotechnology Advances., -2015, – P. 812–829.
- 9 Жамбакин К.Ж. Гаплоидная биотехнология растений // Учебно-методическая книга., – Алматы, -2004, – С. 9-108.
- 10 Mishra R., Rao G.J.N. In-vitro androgenesis in rice: advantages, constraints and future prospects // Rice Scienc., -2016, – P. 57-68.
- 11 Germana M.A. Gametic embryogenesis and haploid technology as valuable support to plant breeding // Plant Cell Rep., -2011, – P. 839-857.
- 12 Dunwell J.M. Haploids in flowering plants: origins and exploitation // Plant Biotechnol., -2010. – P. 377- 424.
- 13 Жанбырбаев Е. А., Сарсенбаев Б. А., Рысбекова А. Б., Казкеев Д. Т., Мухамежан А., Усенбеков Б.Н., Сартбаева И.А., Анапияев Б.Б. Использование гаплоидной биотехнологии в селекции риса на холодостойкость // Известия Национальной Академии наук Республики Казахстан., -2017, – С. 41-42.
- 14 Дьячук Т.И., Акинина В.Н., Хомякова О.В., Калашникова Э. В. Отдаленная гибридизация как метод получения гаплоидных растений у злаков // Обзор (обзор проблемы)., -2019, – С. 45.
- 15 Anapiyayev B.B., Kazkeev D.T., Satybaldiyev D.D., Iskakova K.M., Baenziger P.S. Use of haploids in selecting wheat for rust resistance // Increasing Wheat Production in Central Asia Through Science and International Cooperation. CIMMYT, - 2005, - P. 138-140.

- 16 Колесникова Е.О., Донских Е.И., Бердников Р.В. Биотехнологии гаплоидов как инструмент создания селекционного материала сахарной свеклы // Вавиловский журнал генетики и селекции., -2021, – С. 812-814.
- 17 Илюшко М.В., Скапцов М.В., Ромашова М.В. Содержание ядерной ДНК у регенерантов риса (*Oryza sativa* L.), полученных в культуре пыльников *in vitro* // “Сельскохозяйственная биология”, -2018, том 53, – С. 531-532.
- 18 Савенко Е.Г., Королева С.В., Мухина Ж.М. д-р биол. наук, Глазырина В.А., Шундрин Л.А. Использование метода культуры пыльников для создания исходного материала сельскохозяйственных культур // Статья в журнале “Рисоводство”, -2016, – С. 76-77.
- 19 Hussain B., Muhammad A.K., Qurban A., Shadab S. Double Haploid Production in Wheat Through Microspore Culture And Wheat X Maize Crossing System: An Overview // International Journal for Agro Veterinary and Medical Sciences., - 2012, – P. 332-344.
- 20 Yoshitaka Kanaoka , Daichi Kuniyoshi , Eri Inada , Yohei Koide, Yoshihiro Okamoto, Hideshi Yasui and Yuji Kishima // Anther culture in rice proportionally rescues microspores according to gametophytic gene effect and enhances genetic study of hybrid sterility // Kanaoka et al. Plant Methods., -2018, – P. 2-3.
- 21 Mohiuddin A K M, Karim N H, Sultana S. Development of improved doubled-haploids through anther culture of indica rice (*Oryza sativa* L.) //Ann Biol Res., - 2014, – P. 6–13.
- 22 Rukmini Mishra, Gundimeda J.N. RAO In-vitro Androgenesis in Rice: Advantages, Constraints and Future Prospects // Rice Science., -2016, – P. 58-62.
- 23 Medhabati K, Das K.R., Henary C., Singh T.D., Sunitibala H. Androgenic callus induction of the indica rice hybrid of Chakhao Amubi and Basmati 370. Int Res J Biol Sci., -2014, – P. 73–79.
- 24 Javed M.A., Samad A.A., Hidayat T., Wagiran A., Baqr A.R.W. Studies to investigate the interactions of genotypes, culture media and culture temperatures on androgenesis in recalcitrant indica rice (*Oryza sativa* L.) // J Teknoly., -2012, – P. 75–79.
- 25 Chaudhary H.K., Kaila V., Rather S.A. Pratap A., Kumar J. Distant hybridization and doubled haploid breeding // In: Alien Gene Transfer in Crop Plant: Innovations, Methods and Risk Assesment. -2014, – P. 85-86.

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ БІЛІМ ЖӘНЕ ҒЫЛЫМ МИНИСТРЛІГІ
Қ.И.СӘТБАЕВ АТЫНДАҒЫ ҚАЗАҚ ҰЛТТЫҚ ТЕХНИКАЛЫҚ ЗЕРТТЕУ УНИВЕРСИТЕТІ
СЫН-ПІКІР

Дипломдық жұмыс

(жұмыс түрін ату)

Бейсенбек Айгерім Қанатқызы

(аты, жөні тегі)

5B070100 – «Биотехнология»

(мамандық шифры, атауы)

Тақырыбы: «*Oryza sativa* L. гаплоидтық биотехнологиясы»

Аяқталды:

А) графикалық бөлімі 3 кесте, 8 суреттен ;

В) түсініктеме қағаз _31 парақтан тұрады.

ДИПЛОМДЫҚ ЖҰМЫС БОЙЫНША ЕСКЕРТУЛЕР

Дипломдық жұмыста таңдалған тақырыптың өзектілігі, мақсаты мен міндеттері айқындалған. Ақпаратты жинау және талдау әдістері, объектілері мен мәні, дипломдық жұмыстың құрылымына негізделе отырып жазылған. Күріштің «*Oryza sativa* L.» шығу тегі, таралу аймағы, өсімдіктің құндылық маңызы ашық жазылған. Оқшауланған тозаң культурасы негізінде in vitro жағдайында күріш өсімдігін алудың гаплоидтық биотехнологиясы мен процеске әсер етуші факторлар келтірілген.

Зертханалық бөлмеде тәжірибелік әдістер арқылы, стерилизациялық жағдайда күріштің «*Oryza sativa* L.» сомалы жасушалық биотехнологиясы зерттелген. Тәжірибелік жұмысының нәтижелері алынған. Мәліметтері кесте түрінде келтірілген. Зерттеу жұмысының сәттілігі, күріштің оқшауланған микроспоралық жасушаларын культивирлеу, алты түрлі генотиптен жақсы эмбрионды жиіліктің артуынан көрінеді. Алынған нәтижелер бойынша түйінді қорытынды сөз жазылған.

ЖҰМЫСТЫ БАҒАЛАУ

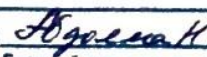
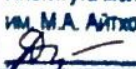
Дипломдық жұмысты қорғауға ұсынылады, Бейсенбек Айгерімнің «*Oryza sativa* L. гаплоидтық биотехнологиясы» тақырыбына орындалған дипломдық жұмысын 90% бағалап, жұмысты жақсы қорғау нәтижесінде техникалық ғылымдар бакалавры академиялық дәрежесін беруге лайықты деп есептеймін.

Пікір беруші: PhD докторы М. А. Айтхожин атындағы молекулалық биология және биохимия институтының, молекулярлық иммунология және иммунобиотехнология кафедрасының аға ғылыми қызметкері

 Абдолла

«26» мамыр 2022 ж.



Подпись 
Заверяю Главный специалист по кадрам
Института молекулярной биологии и биохимии
им. М.А. Айтхожина КН МОН РК
 

КазННТУ 704-24. Рецензия

Ғылыми жетекшінің пікірі

Дипломдық жұмыс
Бейсенбек Айгерім Қанатқызы

Мамандығы 5B070100-Биотехнология

Тақырыбы: «*Oryza sativa* L. гаплоидтық биотехнологиясы» Күріштің окшауланған микроспора культурасында эмбриондардың түзілу жиілігіне әсер ететін факторларды зерттеу.

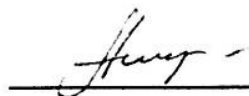
Дипломдық жұмыста күріштің «*Oryza sativa* L.» таралу ареасы мен маңызды дақылдық қасиеті талқыланды. Гаплоидты биотехнологияның селекциялық маңызы мен күріш гаплоидтарын алудың тиімді әдістері қарастырылған.

Лабораториялық жағдайда, күріштің окшауланған микроспора негізінде сомалық жасушаларын *in vitro* коректік орта отырғызу. Қажетті орта жағдайларын дұрыс таңдай отырып, күріш андрогенезіне әсер ететін факторлары анықталды. Алынған мәліметтер бойынша көмірсулардың қажетті консистенциялық құрамын тандалды. Зерттеу жұмыстары қатаң асептикалық жағдайда жүргізілді.

Тәжірибелік зерттеу жұмыс нәтижелерінен оң көрсеткіш алынды. Күріштің микроспоралық тозаң культурасынан жоғары индукциялық жиілікте андроклинді өнім алынды. Дипломдық жұмысты жасау кезінде келесі құралдар қолданылды: Ламинарлы бокс, бинокулярлы микроскоп.

Бейсенбек Айгерім Қанатқызы орындаған дипломдық жұмысты 95% - «Өте жоғары» деп бағалаймын және ол 5B070100-Биотехнология мамандығы бойынша бакалавр атағына лайық деп санаймын.

Ғылыми жетекші
б.ғ.д. профессор



Анапияев Б. Б.

«26» мамыр 2022 ж.



Метаданные

Название

2022_БАК_Бейсенбек Айгерім.docx

Автор

Бейсенбек Айгерім

Научный руководитель

Бакытжан Анапияев

Подразделение

ИГИНГД

Список возможных попыток манипуляций с текстом

В этом разделе вы найдете информацию, касающуюся текстовых искажений. Эти искажения в тексте могут говорить о ВОЗМОЖНЫХ манипуляциях в тексте. Искажения в тексте могут носить преднамеренный характер, но чаще всего характер технических ошибок при конвертации документа и его сохранении, поэтому мы рекомендуем вам подходить к анализу этого модуля со всей долей ответственности. В случае возникновения вопросов, просим обращаться в нашу службу поддержки.

Замена букв		14
Интервалы		0
Микропробелы		3
Белые знаки		1
Парафразы (SmartMarks)		4

Объем найденных подоби

Обратите внимание! Высокие значения коэффициентов не означают плагиат. Отчет должен быть проанализирован экспертом.



КП1

25

Длина фразы для коэффициента подобия 2



КП2

5450

Количество слов



КЦ

45870

Количество символов

Подобия по списку источников

Просмотрите список и проанализируйте, в особенности, те фрагменты, которые превышают КП №2 (выделенные жирным шрифтом). Используйте ссылку «Обозначить фрагмент» и обратите внимание на то, являются ли выделенные фрагменты повторяющимися короткими фразами, разбросанными в документе (совпадающие сходства), многочисленными короткими фразами расположенные рядом друг с другом (парафразирование) или обширными фрагментами без указания источника ("криптоцитаты").

10 самых длинных фраз

Цвет текста

ПОРЯДКОВЫЙ НОМЕР	НАЗВАНИЕ И АДРЕС ИСТОЧНИКА URL (НАЗВАНИЕ БАЗЫ)	КОЛИЧЕСТВО ИДЕНТИЧНЫХ СЛОВ (ФРАГМЕНТОВ)	
1	«Hordeum vulgare L. дақылының гаплоидты биотехнологиясы» 22.06.2020 Kazakh National Agrarian University (КазНАУ)	22	0.40 %
2	«Hordeum vulgare L. дақылының гаплоидты биотехнологиясы» 22.06.2020 Kazakh National Agrarian University (КазНАУ)	21	0.39 %
3	«Hordeum vulgare L. дақылының гаплоидты биотехнологиясы» 22.06.2020 Kazakh National Agrarian University (КазНАУ)	12	0.22 %

4	«Hordeum vulgare L. дақылының гаплоидты биотехнологиясы» 22.06.2020 Kazakh National Agrarian University (КазНАУ)	12	0.22 %
5	Бидайдың гаплоидты биотехнологиясы 03.05.2018 Satbayev University (ИХИБТ)	11	0.20 %
6	Бидайдың гаплоидты биотехнологиясы 03.05.2018 Satbayev University (ИХИБТ)	5	0.09 %
7	Бидайдың гаплоидты биотехнологиясы 03.05.2018 Satbayev University (ИХИБТ)	5	0.09 %
8	«Hordeum vulgare L. дақылының гаплоидты биотехнологиясы» 22.06.2020 Kazakh National Agrarian University (КазНАУ)	5	0.09 %

из базы данных RefBooks (0.00 %)

ПОРЯДКОВЫЙ НОМЕР	НАЗВАНИЕ	КОЛИЧЕСТВО ИДЕНТИЧНЫХ СЛОВ (ФРАГМЕНТОВ)
------------------	----------	---

из домашней базы данных (0.39 %)

ПОРЯДКОВЫЙ НОМЕР	НАЗВАНИЕ	КОЛИЧЕСТВО ИДЕНТИЧНЫХ СЛОВ (ФРАГМЕНТОВ)
1	Бидайдың гаплоидты биотехнологиясы 03.05.2018 Satbayev University (ИХИБТ)	21 (3) 0.39 %

из программы обмена базами данных (1.32 %)

ПОРЯДКОВЫЙ НОМЕР	НАЗВАНИЕ	КОЛИЧЕСТВО ИДЕНТИЧНЫХ СЛОВ (ФРАГМЕНТОВ)
1	«Hordeum vulgare L. дақылының гаплоидты биотехнологиясы» 22.06.2020 Kazakh National Agrarian University (КазНАУ)	72 (5) 1.32 %

из интернета (0.00 %)

ПОРЯДКОВЫЙ НОМЕР	ИСТОЧНИК URL	КОЛИЧЕСТВО ИДЕНТИЧНЫХ СЛОВ (ФРАГМЕНТОВ)
------------------	--------------	---

Список принятых фрагментов (нет принятых фрагментов)

ПОРЯДКОВЫЙ НОМЕР	СОДЕРЖАНИЕ	КОЛИЧЕСТВО ИДЕНТИЧНЫХ СЛОВ (ФРАГМЕНТОВ)
------------------	------------	---

АҢДАТПА

«Oryza sativa L. гаплоидтық биотехнологиясы» дипломдық жұмыс көлемі қағазды түрде 31 беттен тұрады. Дипломдық жұмыс кіріспеден, 3 бөлімнен, қорытындыдан, 8 сурет және 3 кестеден, 25 ғылыми оқу құралдарымен мақалалардан түзілген тізімнен тұрады.

Мақсаты: Күріштің (Oryza sativa L.) гаплоидтық биотехнологиясын зерттеу.

Дипломдық жұмыста күрішті (Oryza sativa L.) in vitro жағдайында гаплоидты биотехнологиялық әдіс негізінде өсіру зерттелген. Жасанды қоректік ортада қос гаплоидты күріш дақылын культивирлеу құндылығы жоғары өнім алуға мүмкіндік береді. Донор өсімдік ретінде ауруларға, қолайсыз орта жағдайына төзімді будан алынды. Зерттеулерде оқшауланған тозаңдар әдісін қолдана отырып, тозаңдарды асептикалық жағдайда оқшаулау жүргізілді. Андроклинді жиілікті арттыратын, нысан үшін жасанды қоректік орта және