

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ БІЛІМ ЖӘНЕ ҒЫЛЫМ МИНИСТРЛІГІ
Қ.И. Сәтбаев атындағы Қазақ ұлттық технологиялық зерттеу университеті
Қ. Тұрысов атындағы Геология және мұнай-газ ісі институты
Химиялық және биохимиялық инженерия кафедрасы

Есен Орынбек Қайратұлы

Triticum aestivum L. дақылының каллус клеткаларының суспензиялық
культурасы

ДИПЛОМДЫҚ ЖҰМЫС

5В070100—«Биотехнология» мамандығы

Алматы 2022

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ БІЛІМ ЖӘНЕ ҒЫЛЫМ МИНИСТРЛІГІ
Қ.И. Сәтбаев атындағы Қазақ ұлттық технологиялық зерттеу университеті
Қ. Тұрысов атындағы Геология және мұнай-газ ісі институты
Химиялық және биохимиялық инженерия кафедрасы

ҚОРҒАУҒА ЖІБЕРІЛДІ
Химиялық және Биохимиялық
Инженерия
Кафедра меңгерушісі
PhD докторы
Амитова А.А
"26" мамыр 2022 ж.



ДИПЛОМДЫҚ ЖҰМЫС

«*Triticum aestivum* L. дақылының каллус клеткаларының суспензиялық
культурасы»

5B070100 – «Биотехнология» мамандығы

Орындаған

Есен О.Қ.

Пікір беруші;

Ғылыми жетекші:

Резенцент

б.ғ.д. профессор

Доктор PhD

Абдолла Н.

Анапияев Б.Б

«26» 05 2022ж.

«26» 05 2022ж.



ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ БІЛІМ ЖӘНЕ ҒЫЛЫМ МИНИСТРЛІГІ
Қ.И. Сәтбаев атындағы Қазақ ұлттық технологиялық 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
Амитоа А.А.
2022 ж.



Дипломдық жұмыс орындауға

ТАПСЫРМА

Білім алушы: Есен Орынбек Қайратұлы

Тақырыбы «*Triticum aestivum* L. дақылының каллус клеткаларының суспензиялық культурасы»

Университет Ректорының 2021 жылғы “24” 12 №489-п/ө бұйрығымен бекітілген

Аяқталған жұмысты тапсыру мерзімі “25” 05 2022 жыл

Дипломдық жұмыстың бастапқы берілістері Диплом алды өнеркәсіптік практикадан алынған материалдар

Дипломдық жобада қарастырылатын мәселелер тізімі:

- 1) Бидай дақылы (*Triticum aestivum* L.) сомалық клеткаларын *in vitro* жағдайында өсіру динамикасын зерттеу;
- 2) Бидай дақылы (*Triticum aestivum* L.) генотиптерін зертханалық жағдайда зерттеп, *in vitro* сомалық жасуша культурасында морфогенді каллустарды қалыптастыру;
- 3) Алынған зерттеу нәтижелерінің практикалық бағалау.

Ұсынылатын негізгі әдебиет: 14 атау

Дипломдық жұмысты дайындау

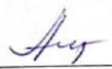
КЕСТЕСІ

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

Дипломдық жұмыс бөлімдерінің кеңесшілері мен норма бақылаушыларының
аяқталған жұмысқа қойылған

колтаңбалары

Бөлімдер атауы	Кеңесшілер аты, әкесінің аты, тегі (ғылыми дәрежесі, атағы)	Қол қойылған күн	Қолы
Норма бақылау	Анапияев Б.Б. б.ғ.д. профессор	25.05.2022	

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

Тапсырманы орындауға алған білім алушы  Есен О.К.

Күні « 25 » 05 2022 жыл



Metadata

Title

2022 БАК Есен Орынбек.docx

Author(s)

Есен Орынбек

Promoter

Бакытжан Анапияев

Organizational unit

ИГИНГД

List of possible text manipulation attempts

In this section, you can find information regarding text modifications that may aim at temper with the analysis results. Invisible to the person evaluating the content of the document on a printout or in a file, they influence the phrases compared during text analysis (by causing intended misspellings) to conceal borrowings as well as to falsify values in the Similarity Report. It should be assessed whether the modifications are intentional or not.

Characters from another alphabet	0	2
Spreads	A→	0
Micro spaces		0
White characters	0	0
Paraphrases (SmartMarks)	a	0

Record of similarities

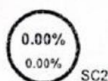
Please note that high coefficient values do not automatically mean plagiarism. The report must be analyzed by an authorized person.



SC1

25

The phrase length for the SC 2



SC2

10052

Length in words



QC

47783

Length in characters

Active lists of similarities

Scroll the list and analyze especially the fragments that exceed the SC 2 (marked in bold). Use the link "Mark fragment" and see if they are short phrases scattered in the document (coincidental similarities), numerous short phrases near each other (mosaic plagiarism) or extensive fragments without indicating the source (direct plagiarism).

The 10 longest fragments

Color of the text

NO	TITLE OR SOURCE URL (DATABASE)	NUMBER OF IDENTICAL WORDS (FRAGMENTS)	
from RefBooks database (0.00 %)			
NO	TITLE	NUMBER OF IDENTICAL WORDS (FRAGMENTS)	
from the home database (0.00 %)			
NO	TITLE	NUMBER OF IDENTICAL WORDS (FRAGMENTS)	
from the Database Exchange Program (0.00 %)			
NO	TITLE	NUMBER OF IDENTICAL WORDS (FRAGMENTS)	

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ БІЛІМ ЖӘНЕ ҒЫЛЫМ МИНИСТРЛІГІ
Қ.И.СӨТБАЕВ АТЫНДАҒЫ ҚАЗАҚ ҰЛТТЫҚ ТЕХНИКАЛЫҚ ЗЕРТТЕУ УНИВЕРСИТЕТІ

Қ. Тұрысов атындағы Геология және мұнай-газ ісі институты
Химиялық және биохимиялық инженерия кафедрасының 4 курс студенті
Есен Орынбек Қайратұлының
«*Triticum aestivum* L. дақылының каллус клеткаларының суспензиялық
культурасы» атты дипломдық жұмысына

ҒЫЛЫМИ ЖЕТЕКШІНІҢ ПІКІРІ

Дипломдық жұмыстың іске асыру мақсаты зерттелетін дақылдың окшауланған клеткаларымен жұмыс жүргізу кезінде асептикалық жағдайларды қамтамасыз ете отырып, дақылға қолданатын материалдарды меңгеру, сонымен қатар залалсыздандыру әдістерін қолданып тұқым алу және каллусты жетілдіру болып саналады. Осы бағытта орындалған Есен Орынбектің дипломдық жұмысы кіріспеден, 3 тараудан, қорытындыдан, суреттер мен кестелерден және пайдаланылған әдебиеттер тізімінен тұрады.

Дипломның бірінші тарауында *Triticum aestivum* L. дақылына жалпы шолу туралы мәліметтер берілген. Екінші тарауда стерилизациялық жағдайды қамтамасыз ету және окшауланған сомалық жасушаларды өсіруге арналған қоректік орталар туралы толық сипаттама берілген.

Дипломдық жұмыстың үшінші тарауында *Triticum aestivum* L. бидай дақылының соматикалық клеткаларын бөліп алу және қоректік ортаға отырғызу туралы жазылған.

Есен Орынбек дипломдық жұмысты дайындау барысында ғылыми қордағы бар әдебиеттерді пайдаланып, биотехнологиялық жұмыстардың әдістері мен заманауи аспаптардығы жаңа технологияларды қолданып, оларды игеріп, іс жүзінде пайдалана алатынын көрсете білді. 2019-2020 оқу жылында ҚазҰТЗУ-ға оқуға тіскен О.Есен төрт жыл оқу барысында «өте жақсы» деген білім көрсетті. Келешекте де алған теориялық білімін өндірісте қызмет атқарып өзін көрсете білетініне сенімдімін. Сондықтан Есен Орынбек Қайратұлы дипломдық жұмысын барлық стандарттық талаптарға сай, жоғары деңгейде орындалған, «**Өте жоғары**»(95 %) деген бағаға ие және «Биотехнология» мамандығы бойынша бакалавр дәрежесін беруге әбден лайықты деп есептеймін.

Дипломдық жетекшісі, б.ғ.д. профессор



Б.Б.Анапияев

«26» сәуір 2022 ж.

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ БІЛІМ ЖӘНЕ ҒЫЛЫМ МИНИСТРЛІГІ
Қ.И. Сәтбаев атындағы Қазақ ұлттық технологиялық зерттеу университеті

СЫН-ПІКІР

Дипломдық жұмыс

Есен Орынбек Қайратұлы

5B070100 – «Биотехнология»

Тақырыбы: «*Triticum aestivum* L. дақылының каллус клеткаларының
суспензиялық культурасы»

Аяқталды:

А) Презентация 10 слайддан тұрады;

В) Дипломдық жұмыстың түсініктеме беті 35 бет.

ДИПЛОМДЫҚ ЖҰМЫС БОЙЫНША ЕСКЕРТУЛЕР

Дипломдық жұмыста Бидай дақылы (*Triticum aestivum* L.) сомалық клеткаларын *in vitro* жағдайында өсіру динамикасын зерттеу нәтижелері көрсетілген. Жұмыста аздаған грамматикалық қателітер бар.

ЖҰМЫСТЫ БАҒАЛАУ

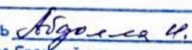
Есен Орынбектің дипломдық жұмысы мен презентациясының жан-жақты талдай келе, диплом жұмыстың тақырыбына сәйкес, барлық стандарттық талаптарға сай орындалған. Жалпы жұмысты **90%** - «**Өте жақсы**» деп бағалаймын.

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

 Абдолла Нұршат
(аты, жөні, тегі)

«26» 05 2022 ж.



Подпись 
Заверяю Главный специалист по кадрам
Института молекулярной биологии и биохимии
им. М.А. Айтхожина КН МОН РК
 1. 

КазНИТУ 704-24. Рецензия

АНДАТПА

«Triticum aestivum L. дақылының каллус клеткаларының суспензиялық культураны» дипломдық жұмыстың қағаз түріндегі көлемі 35 беттен, кіріспеден, 3 бөлімнен, 7 суреттен, 1 диаграммадан, 2 кестеден және қорытынды бөлімнен, 15 пайдаланылған әдебиеттер тізімінен тұрады.

Түйін сөздер: Triticum aestivum L, суспензиялық культура, тозаңдар, жаздық бидай, каллус.

Зерттеу жұмысының өзектілігі: Зерттелетін дақылдың оқшауланған клеткаларымен жұмыс жүргізу кезінде асептикалық жағдайларды қамтамасыз ете отырып, дақылға қолданатын материалдарды меңгеру, сонымен қатар залалсыздандыру әдістерін қолданып тұқым алу және каллусты жетілдіру болып саналады.

Жұмыстың алға қойған міндеттері:

1) Бидай дақылы (Triticum aestivum L.) сомалық клеткаларын *in vitro* жағдайында өсіру динамикасын зерттеу.

2) Бидай дақылы (Triticum aestivum L.) генотиптерін зертханалық жағдайда зерттеп, *in vitro* сомалық жасуша культуранында морфогенді каллустарды қалыптастыру.

3) Алынған зерттеу нәтижелерінің практикалық бағалау.

АННОТАЦИЯ

Суспензионная культура каллусных клеток «*Triticum aestivum* L» объем дипломной работы в состоит из 35 страниц, введения, 3 разделов, 7 рисунков, 2 таблиц и 1 диаграмм, заключительной части и 15 списка использованной литературы.

Ключевые слова: *Triticum aestivum* L, суспензионная культура, яровая пшеница, пыльник, каллус.

Актуальность исследовательской работы: при работе с изолированными клетками исследуемой культуры предусматривается усвоение материала, применяемого к культуре, с обеспечением асептических условий, а также получение семян с применением методов обеззараживания и усовершенствование каллуса.

Задачи работы:

1) Пшеничная культура (*Triticum aestivum* L.) изучение динамики культивирования соматических клеток в условиях *in vitro*.

2) Пшеничная культура (*Triticum aestivum* L.) изучение генотипов в лабораторных условиях и формирование морфогенных мозолей в культуре соматических клеток *in vitro*.

3) Практическая оценка полученных результатов исследования.

ANNOTATION

The suspended culture of callus cells of *Triticum aestivum* L. the volume of the thesis consists of 35 pages, an introduction, 3 sections, 7 pictures, 2 tables and 1 diagram, the final part and 15 references.

Keywords: *Triticum aestivum* L, suspension culture, spring wheat, anther, callus.

Relevance of the research work: when working with isolated cells of the culture under study, it is envisaged to assimilate the material applied to the culture with aseptic conditions, as well as obtaining seeds using disinfection methods and improving the callus.

Tasks of the work:

- 1) Pschenichnaya culture (*Triticum aestivum* L.) study of the dynamics of somatic cell cultivation in vitro.
- 2) Pschenichnaya culture (*Triticum aestivum* L.) study of genotypes in laboratory conditions and the formation of morphogenic corns in the culture of somatic cells in vitro.
- 3) Practical evaluation of the results of the study.

МАЗМҰНЫ

КІРІСПЕ	12
1 Әдебиетке шолу	13
1.1 <i>Triticum aestivum</i> L. дақылының маңызы мен пайдасы	13
1.2 <i>In vitro</i> арқылы өсімдік клеткаларын өсіру	16
1.3 Бидайдың өсуіне әсер еткізетін орта	18
1.4 <i>Triticum aestivum</i> L. дақылының каллус клеткаларының суспензиялық культурасы	19
1.5 Донорлы өсімдіктің өсу жағдайы	21
2 Материалдар мен әдістер	22
2.1 Стерилизациялық жағдайларды қамтамасыз ету	22
2.2 Оқшауланған тозаңдарды өсіруге арналған қоректік орталар	25
3 Зерттеу нәтижелері	28
3.1 <i>Triticum aestivum</i> L. бидай дақылының соматикалық клеткаларын бөліп алу және қоректік ортаға отырғызу.	28
ҚОРЫТЫНДЫ	34
ПАЙДАЛАНЫЛҒАН ӘДЕБИЕТТЕР ТІЗІМ	35

КІРІСПЕ

Зерттеу мақсаты: *Triticum aestivum* L. дақылының каллус клеткаларының суспензиялық культурасы.

Зерттеу мақсатына сәйкес келесі міндеттер қойылады:

1) Бидай дақылы (*Triticum aestivum* L.) сомалық клеткаларын *in vitro* жағдайында өсіру динамикасын зерттеу;

2) Бидай дақылы (*Triticum aestivum* L.) генотиптерін зертханалық жағдайда зерттеп, *in vitro* сомалық жасуша культурасында морфогенді каллустарды қалыптастыру;

3) Алынған зерттеу нәтижелерінің практикалық бағалау.

Қазақстан бидайды өндіруші елдердің бастапқы ондығына кіреді, осыған байланысты жоғары өнімді және қоршаған ортаның абиотикалық факторларына төзімді сорттар шығару бойынша зерттеулер қарқынды жүргізілуі керек. Селекционерлерге калассикалық әдістерді қолдана отырып жаңа сорттарды шығару үшін кемінде 12-15 жыл қажет. Бұл ұзақ уақытты қысқарту үшін биотехнологияның әдістері қолданылады.

Осы жағдайға байланысты жаздық жұмсақ бидайдың (*Triticum aestivum* L.) оқшауланған микроспоралық культурасында эмбриоидогенез процессінің жиілігіне әсерін тигізетін факторларды зерттеуге арналған біздің зерттеуіміздің тақырыбы өте өзекті.

1 ӘДЕБИЕТКЕТКЕ ШОЛУ

1.1 *Triticum aestivum* L. дақылының маңызы мен пайдасы

Жұмсақ жаздық бидай (*Triticum aestivum* L.) қарапайым бидай, жұмсақ. Өсімдіктің биіктігі 50-100 см жетеді, кейде 180-см дейін жететін түрлері бар. Хромосома саны: $2n=42$. Бидай дәнінің формасы жұмыртқа тәріздес, ұрыққа карама-қарсы жағында анық айдары болады. Колеоптиль, ұрық және түйін тамырлары бар. Ылғалдану жағдайында қанығуы қарқынды, сондай-ақ әлсіз аяз бен құрғақшылыққа төзімділіктің әсері жақсы. Гүл шоғы-күрделі масақ. Ол колоскадан және өзекшеден тұрады. Әрбір масақта 2 масақ және оның 3-4 гүлі бар. Колоскадағы дамыған гүлдердің саны 5-6-ға жетуі мүмкін. Жақсы дамыған масақтар масақтың ортасынан төмен орналасады. Салмағы: 1000 дәннің салмағы 20-50-ден 70 г-ға дейін. Масақтың гүлденуі 3-4 күнге созылады және орташа ауа темпетарутса қажет. Жұмсақ жаздық бидай біздің заманымызға дейінгі 7-6 мыңжылдықтан бастап Түркия, Ирак, Иран, Сирия, Түрікменстан, Закавказьеде, біздің заманымызға дейінгі 6-2 мыңжылдықтан бастап Еуропаның батыс елдерінде, біздің заманымызға дейінгі 1 мыңжылдықтан бастап Солтүстік Кавказда, біздің заманымыздың 4 – 5 ғасырынан бастап таралған Балтық жағалауы аумағында және Белоруссия жерлерінде кеңінен таралаған. Ал Оңтүстік Америкаға болса 1528 жылдан бастап, АҚШ аумағында 1602 жылы, Австралияда 1788 жылы, Канадада оны 1802 жылдан бастап өсіре бастады.[1]

Жұмсақ бидай өте полиморфты. Суыққа төзімді сорттардың көшеттері көктемде ауа температурасының қысқа мерзімді төмендеуіне -10°C - қа дейін шыдай алады. Вегетациялық кезеңде жаздық бидай үшін орташа тәуліктік ауа температурасының мөлшері кемінде 1300°C қажет. Дақыл ылғалмен қамтамасыз етуді қажет етеді, әсіресе түтікке кіру кезінде-астық құю, бірақ жаздық бидаймен салыстырғанда құрғақшылыққа оңай төзеді. Вегетациялық кезең 70-110 күнді құрайды. Өсімдіктер топырақтың жоғары қышқылдығына төзбейді және тұздануға аз сезімтал. Ең жақсы топырақ - қаражерлер, копсытылған топырақтарда тыңайтқыштар қолданылған кезде жақсы өнім алынады. Барлық бидай әдетте өсімдіктердің алғашқы 20-30 күнінде баяу және әлсіз өсумен сипатталады. Жоғары ауа температурасы құрғақ және ыстық желмен бірге өсімдіктердің тез кебуіне әкеледі. Ыстық құрғақ жел әсіресе астық құю кезінде қауіпті. Құрғақ ыстық желдің жылдамдығы секундына 5 м-ден асатын жаздық бидай өсірілетін жерлерде, әдетте, өсімдіктер жұмсақ дәнді құрайды. Көптеген сорттар қысқа күнге вегетациялық кезеңнің ұлғаюымен жауап береді (масақ фазасының басталуы баяулайды), дегенмен күннің ұзындығына бейтарап

формалар бар. Тозаңдану мүмкін, өйткені өсімдік ашық гүлдейді. Антерлер жабық гүлде ашылады, бірақ олардағы тозаңның бір бөлігі қалады. Гүл ашылып, антериялар шыққаннан кейін, оларда қалған тозаң желмен тасымалданады. Гүлдену құлақтың ортаңғы бөлігінде басталып, оның негізі мен жоғарғы жағына таралады. Спикелеттің төменгі гүлдері бірінші болып гүлдейді. Содан кейін екінші және т.б. Орташа жылы ауа-райында құлақтың гүлденуі 3-4 күнге созылады. Ол белгілі бір ырғаққа бағынады және таңғы 5-6 - да басталады. Ортаңғы аймақтағы ең ұзақ 8-10 сағатта болады, содан кейін құлдырау байқалады, содан кейін екінші ұзақтық және гүлденудің біртіндеп төмендеуі байқалады. Климат неғұрлым ыстық болса, соғұрлым бірінші ұзақтық және кейінірек - екінші (жылу төмендеген кезде) байқалады. Жалғыз гүлдер түнде ашылады. Бұлтты, салқын ауа-райында гүлдену біркелкі тегістеледі. [2]

Бидай әлемдегі ауыл шаруашылығының барлық салаларын қамтиды. Ресейде жаздық бидай барлық жерде және қара топырақты жерде Солтүстік Кавказда кең ауқымда өсіріледі. Көбінесе нан пісіру үшін, ұн тарту үшін қолданылады және оны 14% ылғалдықта сақтайды. Жаздық бидай *Triticum aestivum* (қызыл дәнді, қатты дәнді) *Астана 2, Алтай, Казахстанская 15, Ақмола 2, Карагандинская 22, 70, Әлем, Кабалыкская 90, Жеңіс, Омская 18, 19, 24, 29, Шортандинская 95, Саратовская 29* сорттары наубайханалық бағытта пайдаланылады.



1 Сурет – Бидай дақылы (*Triticum aestivum* L.)

Қарапайым бидай (*Triticum aestivum* L.) дүние жүзіндегі ең маңызды үш дәнді дақылдың бірі болып табылады, дүние жүзіндегі негізгі тағамның 35% жуығын құрайды. Сонымен қатар, бидай адам тағамындағы ақуыздың маңызды көзі ретінде де қызмет етеді. Өсімдік жасушаларының өсуі жасуша қабырғасымен тығыз байланысты, ол ішкі тургор қысымына төтеп беріп қана

қоймай, өсімдіктің өсуі кезінде жасушаның ұзаруын қамтамасыз етуі керек. Экпансиндер - өсімдіктердің жасушалық қабырғасын әлсірететін ауыздар, олар жасушаның өсуіне және басқа да даму процестеріне, сондай-ақ әртүрлі абиотикалық стресстерге қатысады. Осылайша экпансиндер өсу мен дамуда маңызды рөл атқарады. [3]

Бидай әлемдегі ең маңызды ауыл шаруашылығы дақылдарының бірі болып табылады. Дүние жүзіндегі халық саны артқан сайын бидайға сұраныс арта береді. Табиғи ресурстар шектеулі болғандықтан, сұранысты қанағаттандыру үшін өнімділік пен сапаны үнемі жақсарту маңызды. Бидайдың генетикалық жақсаруына үлкен үлес қосқан кәдімгі селекция пайдалы генетикалық ресурс ретінде шектеулерге ие. Гендік инженерия бидай ұрықтарына туыссыз организмдерден бөгде гендерді енгізуге мүмкіндік береді және шексіз генофондты қамтамасыз етеді. Гендік инженерия арқылы генетикалық жетілдірудің сәттілігі өсімдік геномына белгілі бір бөтен гендердің бір немесе аздаған көшірмелерін енгізудің тиімді процедурасына байланысты. [4]

Қазақстандағы генетика (селекция) саласындағы ғалымдар еліміздің күрделі экологиялық жағдайларына бейімделген жаздық және жаздық бидайдың қатты және жұмсақ сорттарын, арпаны және т.б. дақылдардың сұрыптау бағытында тиімді жұмыстар жасап келеді.

Елімізге белгілі селекционерлер Н.Л. Удольская, Л.В. Пименова, еңбектері О. Шегебаев, Р.А. Уразалиев, К.К. Шулембаева, Б.С. Сариев, А.А. Грязнов және т.б. генетико-селекциялық ізденістерінде жалғасын тапты.

Еліміздегі дәнді дақылдардың өнімін арттыруда физиология ғылымдарының үлесі өте көп. Бұл салада астық тұқымдас дақылдардың экологиялық төзімділігі мен тұрақтылығының физиологиялық ерекшеліктерін зерттеген және нәтижелері практикаға енгізілген Л.К. Мамонов, Ф.А. Полимбетованың еңбектерін атап айту керек.

Селекциялық материалдардың сапасын бақылаудың биохимиялық әдістерін, және дән сапасының маңызды қасиеттерін биохимиялық жағынан болжау әдістерін жасауда Б.Т. Надиров, Ю.В. Перуанский, А.И. Абугалиева, Г.М. Морунова көптеген үлестерін қосты десек те болады. Елімізде, көптен бері селекциялық ізденістерді жылдамдату еліміздегі өсімдіктер генофонын қорғау, сақтау мақсаттарында астық дақылдарының биотехнологиясы бойынша зерттеулер И.Р.Рахимбаевтың жетекшілігімен жүргізіледі. [5]

1.2 In vitro арқылы өсімдік клеткаларын өсіру

Клетканы *in vitro* өсіру деген тұжырымға өсімдіктен бөлініп алынған ұлпаларды, клеткаларды, мүшелерді қоректік ортада заласыздандырылған жағдайларда өсіру болып табылады. XX ғасырдың 30-шы жылдары Фей Уайт пен Роджер Готре *in vitro* клеткаларында нәтижелі өсімдік өсіру жұмыстарын бастаған еді. Өсімдіктердің тірі клеткалары қоректік ортада тотипатенттік қасиетін көрсетеді, және өсімдіктің бөлігін эксплант деп атайды. Регенерант деп *In vitro* жағдайында пайда болған өсімдіктің тамыры мен өркені жетілген өсімдікті айтады.

Клетканың генетикалық потенциялын жүзеге асыру қасиеті тотипатенттілік деп аталады. Тотипатенттілік қасиеті туралы гипотезаны белгілі ғалым Готлиб Габерландтың есімімен байланыстырады, және бұл тәжірибені ең алғашқы рет 1902 жылы Габерланд жүргізді, ал Уайт оқшауланған тамырларды жасанды ортада өсіріп, олардың дамуын 1930 жылы байқайды. Бұл әдіспен сәбіздің тамырынан бөлінген бөліктерді стирильді жасанды ортада жетілдіру арқылы каллус ұлпасы өсірілген. Бірегей паренхима клеткаларынан каллус тұрады. Осы факторлардың әсерінен түрлі тканьдер пайда болады және каллус дифференциацияланады. Каллустың өсірілуі арқылы клеткалардың өсірілуіне, дамуына керекті витаминдер, гармондар және қоректік заттардың әсерлері зерттеледі [6].

Каллус – дегеніміз клеткалардың ретсіз бөліну нәтижесінде пайда болған ұлпаның ерекше бір түрі. Барлық өсімдіктердің жасушалары белгілі бір жағдайда өсіп, дами алады. Бұл әдіс тотипотенттік қасиет деп аталады. Тотипетенттік қасиет өсімдіктерге ғана тән, бірақ жануарларға мүлдем тән қасиет емес.

Жасушалардан ферменттердің әсерімен протопластарды өсіру және оларды бөліп алу әдісі маңызды бір тарихи кезең болды. Протопластарды өсіру гендік инженериясы деген және өсімдіктер биотехнологиясының клеткасы деген маңызды бағыттарының негізін қалады. Биотехнология объектілер мен биологиялық процестерді пайдалануға негізделген, экологиялық және экономикалық жағынан тиімді, Жаксы өнімділігі бар және маңызды заттар өндіру организмдерді шығаратын ғылымдармен өндірістердің жаңа бағыттарының бірі болып саналады. Биотехнологияның күрделі салаларының бірі өсімдіктер биотехнологиясы болып табылады. Оның ішінде өсімдік клеткаларын жасанды қоректік орталарда өсіру әдістері жатады. [4].

XIX ғасырда өсімдіктің жеке дара мүшелері мен бөлшектері алғаш өсіре бастаған немістің ғалымдары Х.Фехтинг мен К.Рехингер болатын. Сол уақытта өсімдіктің 11 клеткасын өсіру идеясы жануарлар физиологиясын зерттеп жүрген

ғалымдардың назарын өзіне аударды. 1922 жылы Германияда В.Котте және АҚШ – та В.Роббинс клетка өсіруде айтарлықтай табысқа бір уақытта ие болды. Олар меристема ұлпаларын пайдаланған. Ф.Скуг әріптестерімен бірге ашытқы – дан физиологиялық активті зат бөліп алды. Ол клетка бөлінуін үдететін заттар, яғни кинетин болды. Кинетин өзінің кинетикалық жағынан аденинге жақын пуриндік негіз болып есептеледі. Осы сияқты физиологиялық әрекетшіл заттар тобына цитокининдер жатады. Т.Мураси мен Ф.Скуг 1962 жылы өздерінің ғылыми жаңалықты ашу арқасында барлығына таныс қоректік ортасын дайындады.

In vitro жағдайында клеткаларды өсірудің негіздері мен әдістері

Клеткалардың өсірілуі үшін құрал жабдықтарды, қоректік ортаны, эксплантты, ыдыстарды алдын-ала автоклавта залалсыздандыру керек. Өсімдіктен эксплантты бөліп алуды және оны қоректік ортаға отырғызу жұмыстарын ламинар боксте жүргіземіз. Бұл бокстің ішіне филтрден өткізіліп, микроор – ганизмдерден тазартылған ауа бөріліп тұрады және әртүрлі микробтардан және т.б. қорғайтын ультракүлгін шамы бар. Өсімдік клеткалары, мүшелері мен ұлпаларының өсуіне қоректік орта және де басқа да жағдайлар әсер етеді. Клетканың өсуіне әсер ететін бірден-бір фактор ол жарық болып табылады. *In vitro* өсірілетін өсімдік клеткасында жасыл пигмент хлорофил түзілмейді. Сондықтан да олар фототрофты емес гетеротрофты түрде қоректенеді. Клетканың өсуіне аэрацияның да әсері зор. Аэрация болмаса суспензияның өсуі мүмкін емес. Клеткаларды өсірген кезде қоректік ортаның осмос қысымын ескеруіміз керек. Жоғары осмос қысымы клетканың қоректік заттарды сіңіруін қиындатады. Ортадағы осмос қысымын бір қалыпты күйінде сақтау маңызды, әсіресе протопластарды өсіргенде және оларды бөліп алғанда маңызды. Осмос қысымын бірқалыпты реттейтін заттың концентрациясы физиологиялық күйіне және өсімдіктің түріне байланысты жеке іріктеліп алынады.

In vitro жағдайында клеткаларды өсіру қазіргі уақытта барлығына таныған әдістердің бірі және барлық дүние жүзінде өсімдік биологиясында түпкілікті және іс жүзінде қолданбалы мәселелерін шешуде кеңінен пайдаланылады. Биологияның соңғы 20 жылдағы жетістіктері дами бастауына себеп болды.

Биологиялық объектілер процестер мен процестеді пайдалануға негізделген экономика жағынан тиімді де маңызды заттарды өндіру және жоғары өнімділігі бар микроорганизм штамдарын алу, өсімдік сорттарымен формаларын, жануарлардың асыл тұқымдарын шығаратын өндірістің жаңа бағытын биотехнология әдістерінің негізгі әдісі және мақсаты болып табылады. Биотехнологияның әдістеріне микроорганизмдер, жануар және өсімдік

клеткалары, клеткалық және гендік инжерияның әдістермен істелген жасанды тіршілік формалары қолданылады.[7]

Микроспоралар *in vitro* жағдайларында әр түрлі болады. Алғашқы дамудың гаметофитті жолдан спорофит жолға өтеді және эмбрионид түзіледі. Содан соң каллус қалыптастырады және ол дедифференциацияланады. Үшінші гаметогенез жолымен дамуын жалғастырады. Төртінші микроспоралардың бірнешеуі деградацияланады және өледі. Оқшауланған тозандарды культураланған кезде бір ядролы микроспоралардың 4 даму жолы бар дейді:

1. Микроспоралардың бөліну нәтижесіне спорофит дамуға қабілетті 2 клеткалар құрылады. Осы жағдайда генеративті және вегетативті клеткалардың қалыптасуы жүзеге асырылмайды.

2. Микроспора бірдей тең емес бөлінуі нәтижесінде генеративті және вегетативті клеткаларды қалыптастырады. Спорофитті вегетативті клетканың келесі дамуы қалыптасады және генеративті жасуша дегенерацияланады.

3. Микроспора бөліну кезінде генеративті және вегетативті жасушаларды қалыптастырады. Спорофит тек қана генеративті клеткаларды қалыптырады.

4. Микроспора бөліну кезінде генеративті және вегетативті жасушаларды қалыптастырады. Спорофитті генеративті де, вегетативті де клеткалардан қалыптырылады. [8]

1.3 Бидайдың өсуіне әсер еткізетін орта

Бидайдың дамуы мен өсуі көптеген қоршаған орталар факторларын және соның ішінде ыңғайсыз температураны, вегетациялық кезеңдегі температураның жеткіліксіз мөлшерін, жарық пен ылғалдың жетіспеушілігін, күннің қысқа ұзақтығын және топырақтың химиялық және физикалық қасиеттерін баяулату мүмкін. Сонымен қатар, бидай дақылы ауа райының құбылыстарымен тоқтауы мүмкін, мысалы айта кетсек аяз, өсімдік дамуы кезеңдерінде қатты жоғары температураның кесірінен стресс және т.б. фермерлер бұл жағдайды басқара алмайды. Алайда агротехникалық шараларды дұрыс қолдану және жоспарлау және өсімдіктен көп пайда алу үшін біз осы жағдайды бір жылдағы немесе егін егетін аймақтағы егінге қандай шектеулер қоятынын білуіміз керек. [10]

Топырақ бетіне жақын тегістеу түйіннің пайда болуы, бұл өсімдіктің қыс мезгіліне төзімділігін азайтады. Күн сәулесі және температураның төмендеуі алғашқы интеродтардың өсуін баяулатады. Дақылдарды жарықпен жарықтандыру тығыздыққа байланысты Іга-да өсімдіктің тұруы қалыңдатылған дақылдар жарықтандыруды төмендейді. Өсімдіктер жарықтың әсерінен ерекше орын алады күннің ырғақты түсуіне байланысты актиноритмиялық фактор

болып табылады. Бидай және де баска да дәнді дақылдардың әр түрлі қысқы төзімділік уақыты кезеңнің ұзақтығымен байланысты. Бидайлардың актиноритмиялық реакциясын ең алғашқы идеясы 1930-шы жылы қалыптасты. Жылдық дақылдардың өнімділігі жазда оң әсер етеді, және оларды себу кезінде ұзақ күн жарық факторына тиісті болады. Жазғы күзгі мезгілде қоңыржай аймақтардың оңтүстік және солтүстік ендіктерінде бұрыш күннің ең жоғарғы нүктеде орналасуы көкжиек жаздың бірінші жартысынан аз. Түн мен күннің ұзақтығы, күн сәулесінің спектрлік құрамы жарық қарқындылығы және сәулелену, барлығы осындай өзгерістерге өсімдіктер сезімтал әсер етеді. Егер де жылдық өсімдіктер ұзақ күн болса онда олар көктемде егіледі, содан кейін ол өсімдіктер табиғи ортада өседі. Егер осы жылдық дақылдар шілде айында егілсе, онда кейін жарық негізгі ретінде ол дақылдардың экологиялық факторы төмен болады. Сондықтан, жаз кезіндегі егісте жылдық өсімдіктер қамтамасыз етіледі, бірақ көктем уақытымен салыстырғанда ылғал жоғары болады.

Жаздық бидай өсімдіктері азотты тұтынуы өмірдің бастапқы күндерінен басталады да, астық жинау аяқталғанға дейін созылады. Яғни, фазада азот қабылдауы түтікке шығу кезеңінің 20%-ын құрайды яғни, масақтар 50-55%-ын құрасы, гүлденіп пісіп-жетілуі 5-10%-ды тұтынылатын азоттың максималды жоғарғы пайызы болады. [11]

1.4 *Triticum aestivum* L. дақылының каллус клеткаларының суспензиялық культурасы

Каллус культурасы депифференцияланған жасушалардан пайда болатын ұйымдаспаған пролиферацияланатын тін. Зақымдалған кезде өсімдікте «каллус» пайда болуы мүмкін. Бұл табиғатта байқалатын табиғи процесс. Зақымдану орнында тіннің бір бөлігі денемен бұрынғы байланыстарын жоғалтады және оларды қалпына келтіру үшін жасуша массасының ұлғаюы қажет. *In vitro* культурасының оқшауланған бөліктерінде (экспланттарда) да солай болады.

Жасушаның дедифференциациясының бірінші кезеңі оның фитогормондардың – ауксиндердің және цитокининдердің әсерінен болатын жасушалық циклге кіруімен байланысты. Жасуша өсуінің үш фазасы: 1 – бөліну, 2 – созылу, 3 – дифференциация (екінші реттік жасуша қабықшасының - қалыңдауы және бөліну қабілетінің жоғалуы). Дифференциалданған жасушалардың бөліну қабілетін қалпына келтіру үшін олардың дедифференциациядан өтуі қажет, яғни. жасушалар меристемалық күйге оралуы керек.



2 Сурет – Бидайдың жетілмеген микробтарының культураның түзілген каллус.

Дедифференцирленген жасушалардың көбеюі анархиялық, ұйымдаспаған өсуге әкеледі, нәтижесінде каллус тіндері пайда болады. Сонымен, маманданған жасушаның каллус жасушасына айналуы жасушаның бөліну индукциясымен, дифференциация кезінде ол қабілетін жоғалтуымен байланысты. Мамандандырылған жасушаның дифференциациясы цитокининдердің әсерінен бөліну индукциясымен туындаса, онда бөлінетін меристемалық жасушаның дедифференциациясы бөлінулердің тоқтап қалуымен, жасушаның мамандануымен, содан кейін ғана – индукциямен байланысты. каллустың пайда болуына әкелетін бөлінулер. Ортадағы кейбір цитокининдер (темекі өзегі паренхимасы) жасушалық циклді блоктайды, жасушалар тек қартайды, сонымен қатар гормондарсыз, бірақ өспейді; ал күнбағыс тұқымдастарында бірдей жағдайда каллус түзіледі. Әдетте, каллус тінінің индукциясы үшін екі гормонның болуы қажет: ауксиндер (дифференциация және бөлінуге дайындық) және цитокининдер (пролиферация - бөліну).

Бұл, мүмкін, эндогендік цитокининдердің жеткілікті мөлшерінің болуымен байланысты, бұл олардың гормондарсыз МС ортасында өнуімен дәлелденеді, яғни сабақтар мен тамырдың массасы артады - цитокининдер белсендіретін процесс. Эндогендік фитогормондардың әсері, яғни донорлық өсімдіктің гормоналды мәртебесі, оқшауланған өсімдік тіндерінің культураның каллус индукциясы процесі туралы тәжірибелік мәліметтер жеткілікті.

Бар деректері ғана емес, ауксин және цитокинин тудырады жасуша бөлінуі әкеліп соғатын білімі каллус, бірақ деп аталатын элиситоры (ағылш. Elect - таңдау) - өсімдіктердің қорғаныс жүйесін қоздыратын метаболиталық заттар. Элиситорлар-бұл гендерді күшейтетін және нәтижесінде ақуыз синтезін белсендірумен бірге мамандандырылған жасушалардың салыстырмалы түрде жылдам дифференциациясын белсендіретін Bava.

Өсімдік тіндері зақымданған кезде жасуша қабырғаларының деградация өнімдері өсімдікке таралатын гормондар ретінде әрекет етеді, жасуша мембраналарындағы белгілі бір рецепторлармен байланысады және қорғаныс механизмдерінің каскадын бастайды - мұндай молекулалар эндогендік элиситорлар деп аталады.

In vitro клеткасының сараланған күйден дифференциацияға және белсенді жасушалық бөліністерге ауысуы ген белсенділігінің өзгеруіне (эпигендік өзгергіштікке) байланысты. Кейбір гендердің активтенуі және басқалардың репрессиясы жасушалардың ақуыз құрамының өзгеруіне әкеледі. Каллус жасушаларында белгілі бір ақуыздар пайда болады және бір уақытта жапырақтың фотосинтетикалық жасушаларына тән ақуыздар мөлшерінде жоғалады немесе азаяды.

Қартаюдың, каллус жасушаларының бөліну және өлу қабілетінің жоғалуының алдын алу үшін бастапқы каллус 4-6 аптадан кейін жаңа қоректік ортаға (пассивацияға) ауыстырылады. Тұрақты өту кезінде бөлу қабілеті ондаған жылдар бойы сақталуы мүмкін. Готра 50 жыл бұрын алған сәбіз каллус матасының культураның коллекцияда әлі де өсіп келеді.[11]

1.5 Донорлы өсімдіктің өсу жағдайы

Өсімдік материалдарының өсу жағдайларына тәуелді ол андрогенездің индукциясы. Жылдың климаттық және маусымдық, сонымен қатар фотопериоды циклы байқалған. Дәлелденген тәуелділік өсімдіктердің физиологиялық жағдайында көрінеді, қоршаған ортаның мына факторларына байланысты болады: жарық температура, ылғалдылық, фотопериод және т.б. байланысты. Сондықтан да физиологиялық фактор өсу регуляторларының синтез, өсу қолайлылығы мен транспорт пен қамтамасыз етсе, өсіру жағдайы *in vitro* культураның микроспора түзілуіне бірталай әсер етеді. Өсімдікті қысқа күннің жағдайында өсіретін болса абортивті тозаңдық дәннің концентрацияларына артуына әкелуі мүмкін. Тозаңдық культураның каллустар шығуының төмендеуінің бірден бір себебі осы болып табылады. [13]

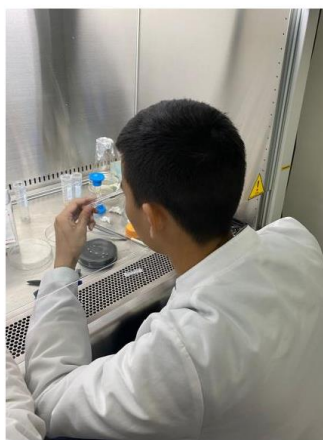
Н.В. Шерердің айтуы бойынша детерминделген микроспоралардың спорофитті дамуы үшін табиғи жағдайға тән белгілі бір әсер қажет. Жыл мезгілінің қолайсыздығы өсімдік регенеранттарының альбинизмдігі күшейеді.

Біздің тұжырым бойынша бұндай байланыстылық донорлы өсімдіктердің түрлі биологиялық қасиеттерімен түсіндіріледі. Осы жағдайды ескере отырып әр генотип үшін ыңғайлы жағдай жасауға болады.

2. МАТЕРИАЛДАР МЕН ӘДІСТЕР

Зертханалық жұмыста қолданылған *Triticum aestivum* L. бидай дақылы Алматы қаласы, Байтұрсынов көшесі 122/22, Технопарк корпусында, 103-зертханалық бөлмесінде, «Биотехнологиялық зертханада» жасалынды.

Бұл жақта жасалынған зерттеу жұмыстың мақсаты - өсімдіктердің оқшауланған ұлпалары жасушалары мен жасушаларын және де тозандарымен жұмыс жасаған кезде асептикалық жағдайларды қамтамас ету жағдайлары мен ережелерін игеру, өсімдік материалдарын залалсыздандыру әдістерін игеру, стерильді жағдайды игере отырып каллусты жетілдіру және тұқым алу болып табылады.



3 Сурет – Технопарк корпусында, «Биотехнологиялық зертханада» асептикалық жағдайды сақтай отырып өсімдік жасушаларын бөліп алу және қоректік орталарға отырғызу, *in vitro* өсіру жұмысы.

2.1 Стерилизациялық жағдайды қамтамасыз ету

Оқшауланған бидайдың мүшелерін, тіндерін және протопластикасы мен жасушасын өсіруінің басты маңызды шарттарының бірі стерильділік асептиканы сақтау болып табылады. Өйткені микроорганизмдер қатаң стерильдік ортада нашар өседі, жалпы айтқанда өсу процесі төмендейді. Алайда жасанды қоректік ортада микроорганизмдер жақсы өседі, дамиды. Дұрыс сақталмаған стерилдік ортада өнім алу қауіпті екі есе төмен. Себебі, микроорганизмдердің тіршілік әрекеті арқылы қоректік ортаның құрамы мен құрамының өзгеру мүмкіндігі жоғары, және өсімдіктің тінін, протопластар мен

жасушалар микроорганизмдермен оңай зақымдайды және ауруға тез ұшыратады. Сондықтан да ламинар-бокста үнемі барлық тәжірибелер стерильді жағдайда өтуі қажет. Стерильдеуге қоректік орта, құрал саймандар, ыдыс-аяқ, өсімдік материалы, ламинар-бокс жатады.

Ламинар-бокс стерилизациясы. Тозаңдарды және оқшауланған микроспораладың жақсы өсуі үшін басты шарттардың бірі стерилизацияны сақтау. Зиянды микроорганизмдер жасанды қоректік ортада жақсы дамиды. Микроорганизмдердің тіршілік етуі кезінде қоректік ортаның құрамы өзгеруі мүмкін және оқшауланған жасушалар мен тіндер, тозаңдар микроорганизмдерге қарағанда тез зақымданады, демек барлық тәжірибелік жұмыстар стерилизацияны жақстай отырып жүргізіледі. Ламинарлы боксты, құрал жабдықтарды, ыдыстарды, өсімдіктің материалдарын және тағы басқа да қажетті заттарды стерилизациядан өткізу қажет. Ламинарлы боксты стерилдеу өзінде орналасқан ауа айдағыш сүзгі арқылы жүзеге асырылады. Жұмысты бастар алдында 20-25 минут бұрын ламинарлы бокстың ультракүлгін шамын жағу керек. Спирт шамын және ламинарлы бокстың ішін, барлық құрал-саймандарды 70% спиртпен жақсылап сүрту қажет. Ламинарлы бокста жұмысты бастамас бұрын спиртпен қолды сүрту қажет. Ламинарлы-бокста жұмыс істеу үшін стерильді қолғап және халат керек және 70% спиртпен өңделеді.

Ыдыстарды залалсыздандыру. Ең алдымен ыдыс күкірт қышқылының қос тотықты калий ерітіндісімен жуып тазаланылады. Жуылған таза таза ыдыстар дистилденген сумен шайылады, содан кейін кептіру шкафына қойып кептіріледі. Стерильденген ыдыстарды ауадан шаң, лас жұқтырмас үшін стерильдеу алдында оларға оралған қағаз кигіземіз (колбалар мен стакандар және пробиркалардың мойнына арнайы алюминий фольга орасақ болады.) Содан соң ыдыстар кептіргішке орналастырылады, құрғақ кептіру шкафында 160°C температурада 2 сағат бойы қыздырылады. Осы уақыт ішінде бактериялар да өледі. Қысымның көмегімен бұдан да қатаң стерилизацияға жасауымызға болады, автоклавта ылғалды жылу споралар мен микроорганизмдерге зиянды болғандықтан автоклавтау 30 минут ішінде 2 атм қысыммен залалсыздандырылады.

Аспаптарды залалсыздандыру. Құралдарды саймандарды алдын ала залалсыздандыру. Керек құрал жабдықтар пинцет скальпель, микробиологиялық ілмек және т. б. қыздырудан тұрады, кептіру шкафындағы құрғақ ыстық жылуда 2 сағат ішінде 140 °C температурада залалсыздандыру. Металл заттарды автоклавтауға болмайды, себебі будың әсерінен металдар өткір заттар өтікірлгін жоғалтады және тот басады. Тікелей жұмыс орындау барысында және оның орындау процесінде құралдар (пинцет, скальпель, микробиологиялық ілмек) ламинар-бокста стерильдейді де, бұларды Фарфор стаканға салады да 70%- этил

спиртімен және спиртті жалынмен жағады. Негізгі құралдар стерильді құрал тек бір реттік манипуляциялар үшін пайдаланылады. Өте жұқа құралдар күйдіру кезінде өз қасиетін жоғалтпайды, сондықтан оларды спиртке салып күйдіруге болады Аспаптарды қайта қолдану үшін оларды қайтадан зарарсыздандыру қажет.



4 Сурет – Ламинарлы бокстағы құрал жабдықтарды стерилизациялау процесі

Қоректік орталарды стерилизациялау. Арнайы тазартылып жуылған және термостатта 130°C кептірілген пробиркаларға қоректік ортаны қйып мақта немесе фольга тығындармен жауып, арнайы темір штативтерге немесе арнайы контейнерлерге салады. Қоректік ортаны зарарсыздандыру үшін автоклав қолданылады (120 С температурада және 1 атм қысымда 30 минут бойы зарарсыздандырады. Сосын қоректік ортаны суытып қолдануға болады. Дайын қоректік орта 4-6 С жағдайында тоңазытқышта сақталады.

Өсімдік материалын стерилизациялау. Стерильді өсімдік материалын алу процесі әр түрлі кезеңнен тұрады. Алғашқы кезең ол алдын ала залалсыздандыру кезеңі. Шарттары материал объектіге байланысты өзгеріп тұрады. Сабақтардың, тамырдың фрагменттері ағынды су құбырымен жуылады. Содан соң спиртке орналастырылады (1 минутқа 70%-дық ерітіндісінде). Тұқымды алдын ала залалсыздандыру олардың ластану деңгейіне байланысты ұзақ процесс. Тұқымның үш тобын бөледі: Бірінші беткі қабатының микроорганизмдермен өте аз залалдануы, екінші тек қана залалдануы, үшінші тұқымдардың сыртындағы микроорганизмдер бар ұрықтың іші мен беті.

Бірінші топты кез келген залалсыздандыру арқылы стерилдеген жеңіл. Көбінесе бұл қырыққабат, бидай, құмай, тұқымдары. Екінші топ ұқыпты тазартуды талап етеді. Тұқымды сабынды суда, KMnO_4 ерітіндісінде, 70% спирт ерітіндісінде жуады; кейбір тұқымдарды кальций немесе натрий гипохлоритімен

өңдейді, кейін стерильді сумен жуады. Бұл топ, сәбіз, шалғам, жүгері, қызанақ және т.б. қамтиды. Микроорганизммен ішкі залалданған тұқымның пайызы өсімдіктің түріне, тұқымдардың сақталу ұзақтығына және шарттарына байланысты өзгеріп отырады.

Екінші кезең ол стерилизация. Алдын ала стерилденген мүшелерді немесе тіндерді стерильдеу ерітіндісіне салынады. Барлық жұмыстарды, стерильдейтін заттарды пайдалануға байланысты асептикалық жағдайды қатаң сақтай отырып (ламинарбокста) жүргізіледі. Осы жерде өсімдік материалын жеткілікті тазалық деңгейін қамтамасыз ету маңызды.

Үшінші кезең ол объектіні стерильдеу ерітіндісінен жуу (постстерилизация). Бұл кезеңде өсімдік материалы стерильденген дистилденген сумен, оны әрбір 15 мин ішінде 3-4 рет жуылады. Өсімдіктің оқшауланған жасушалары мен ұлпаларының өсінділерімен жұмыс жүргізу кезінде асептиканы қатаң сақтау ережелерін меңгеру, тұқым алу және одан асептикалық өскіндерді өсіру.[14]

2.2 Оқшауланған сомалық жасушаларды өсіруге арналған қоректік орталар

Бидайдың (*Triticum aestivum* L.) органдарында және клетканың ұлпасын өсіруге гормоналды құрамы бар әр түрлі қоректік орталар қолданады. Жасуша мен ұлпаны өсіруге әдейі жасалынған қоректік орта өсімдіктерге барлық керекті көмірсуларды, фитогормондарды, макроэлементтерді, және витаминдер қамтуы қажет. Қоректік ортаның қажетті компоненті бірі болып ұлпаларды өсіруі мен көмірсулар оқшауланған жасушалар болып табылады, себебі олар автотрофты қоректендіруге қабілеттілігі жоқ. Көмірсулардың көзі ретінде қанттың әр түрлі концентрациясын немесе глюкозаны қолдануға болады.

Тозаң микроспорасы және *in vitro* үшін MC, N6, Blaydes т.б қоректік орталар пайдаланылады.

Бидай тозандарын көп жағдайды мына қоректік орталарда өсіреді: Blaydes, MC, N6, Гамбург B5 MCC, MCR. Қоректік орта құрамында: микро, микро тұздар, витаминдер, агар, гармондар, көмірсулар, органикалық қосылыстар және т.б. болады. Қоректік ортаны дайындау үшін бірінші макро және микро тұздардан ерітінді дайындалынады. Бұл ерітінділерді екі жолмен дайындайды. Бірінші: барлық макротұздардың концентрациясын 10 арттырады және 500 мл. дистилденген суда ерітеді (D.H₂O), макротұздардың концентрациясын 100 ге көбейтеді және 500 мл. (D.H₂O) ерітеді. Екінші: жеке дайындалатын фосфаттарды, сульфаттарды, хлоридтерді, нитраттарды, йодидтерді,

микро­тұздарды және 200мл. (D.H2O) ерітеді. Жұмыс біткеннен соң міндетті түрде тұнба жоқтығына көз жеткіземіз.

Қоректік ортаны алу жолы:

1. 1000 мл қоректік ортаны дайындау үшін 1000 мл ыдысқа 30г сахарозаны салып, 400 мл дистилденген су құямыз..
2. Сахарозыны қаттылап ерітіп өзімізге керекті мөлшерде алдын ала дайындап қойған ерітінділерге (фитогориондар, витаминдер, макро­тұздар, микро­тұздар) қосылады.
3. Дистилденген суды 1000 мл-ге дейін құямыз.
4. Ерітіндідегі *pH* көрсеткішті 5,8-6,0-ға жоғарылатамыз.
5. Қоректік ортаны 1000 мл цилиндрге өлшеу көрсеткіші бар немесе колбаға ауыстырамыз. Содан соң дистилденген су белгіленген мөлшерлерген орынға жеткізу қажет.
6. Дайын болған қоректік ортаны таза конусты колбаға құямыз, ауызын фальгамен бекітеміз, суығаннан кейін автоклавқа саламыз.

2.1 Кесте - Қоректік орталар құрамы

Компоненттер	Құрамы	Қоректік орталар (мг/л)		
		MC	Blaydes	N6
Макро­тұздар	Ca(NO3)2	-	347	-
	KNO3	1900	1000	2830
	NH4NO3	165	100	-
	(NH4)2SO4	-	-	463
	MgSO4 7H2O	370	350	185
	CaCl2 2H2O	440	-	166
	KCl	-	65	-
	KH2PO4	170	300	400
Микро­тұздар	MnSO4 H2O	22,3	-	-
	MnSO4 4H2O	-	4,4	-
	KJ	0,83	0,80	0,80
	H3BO3	6,20	1,60	-
	ZnSO4 7H2O	8,60	1,60	-
	CuSO4 5H2O	0,025	-	-
	CuSO4 5H2O	0,25	-	-

Fe-хелат	FeSO ₄ 7H ₂ O	27,8	27,8	27,8
	Na ₂ EDTA 2H ₂ O	37,3	37,3	37,3
Витаминдер	Тиамин HCl	0,4	0,5	1,0
	Пиридоксин	-	0,5	0,5
	Никотин қ-лы	-	1,0	0,5
	Аскорбин қ-лы	-	1,0	1,0
Амин қышқылдары	Глицин	-	-	2,0
	Гистидин	-	-	-
	Глутамин	-	-	-
Гормондар	2,4-Д	1,0	0,5	1,0
	ИСҚ	-	-	-
	Сахароза	10%	11%	9%
	Мезоинозит	100	100	100
	Фиколл	-	-	-
	Агар	6000	6000	6000
	Кондиционир	-	-	-
	pH	5,8-6,0		

Бөлініп алынған тозаңдықтарды сұйық және қатты коректік орталарда Blaydes, MS, N6, негізіндегі 0,5-2,0 мг/л 2,4 – Д 27° температурада қараңғылықта өсіру;

Негізгі зерттеу объектісі ретінде бидайдың сорттары алынды. Бидай тозаңдарының культурасы үшін алдын ала өңдеудің жиі қолданылатын тиімді әдісі төменгі температурамен өңдеуді қолдану. Жинақталған бидайды өсіру алдында салқын шокқа ұшырату жұмысы жасалынады. Бидайдың тозаңдарын суықпен алдын ала өңдеу андрогенез процесін күшейтетіні білеміз. Стерильдік жағдайларды қатаң сақтана отырып, ламинарлы боксте бидай дақылының толығымен әлі пісіп жетілмеген дәндерінен 20 тозаңдарды бөліп алу жұмыстарын жүргізіп, оларды коректік ортаға отырғызу жұмыстары жүргізілді. Себебі бидай тозаңдарын ұзақ ұстауға болмайды, өйткені кеуіп кету қатері бар. Сонымен қатар бидайдың тозаңдарын әр түрлі коректік ортаға отырғызу жұмыстары жүргізілді.

Негізгі бөліп алынған масақтарды суға және 4 – 7°С температурадағы 10 күнге дейін салып, масақтарды салқындатамыз. Бөліп алынған масақ тозаңдарын, диацидоменен 5-10 минут немесе 75% этилді спирт ерітіндісімен 5 минут стерилденіп, 3 рет дистильденген сумен 1 минуттан шаямыз. Бидай тозаңдары мен модификацияланған микроспораларды сұйық және қатты ортаға отырғызуға MC, Blaydes, N6, MCC, MCR, коректік орталары пайдаланылады.

Сыйымдылығы 5 мм, мөлшері 16x150 мм пробиркаға оқшауланған тозаңдар мен микроспорларды, дайындалған сұйық және қатты қоректік ортаға орташа есеппен 15 – 20 тозаңнан отырғызамыз. Петри табақшасының диаметрі 35 мм, дайындалған қоректік орта көлемі 1мл, осыған жуық шамамен 60-70 тозаң отырғызылды. Оқшауланған тозаңқап өсіндісінде микроспорадан эмбрионид түзіледі немесе каллус ұлпасы түзіледі. *In vitro* жағдайында андрогенезді индукциялау үшін микроспорогенездің кешіктірілген кезеңі ыңғайлы деген деректер кей әдебиеттерде кездеседі.

3. ЗЕРТТЕУ НӘТИЖЕЛЕРІ

3.1 *Triticum aestivum* L. бидай дақылының соматикалық клеткаларын бөліп алу және қоректік ортаға отырғызу.

Соңғы кездері қоршаған ортаның абиотикалық және биотикалық факторларын имитациялайтын әртүрлі стресстерге төзімділікке *in vitro* клеткалық селекциясы бойынша зерттеулер үнемі жүргізілуде. Дәнді дақылдардың суспензиялық клеткалары және және соматикалық каллус құрғақшылық төзімділігіне клеткалық селекция туралы көптеген мақалалар бар, оның ішінде бидай да бар. Суды сіңіру қасиетіне ие полиэтиленгликоль (ПЭГ) пайдалану арқылы су тапшылығы имитацияланады. Осмотикалық стресске жасушалық бейімделу ағзаны дегидратацияның өлуі әсерлерінен қорғайтын түбегейлі биологиялық процесс болып есептеледі. Бұл жұмыста біз полиэтиленгликоль ПЭГ 6000 құрамында қоректік МС *in vitro* жұмсақ бидайдың микроспорасы культураныңда эмбрионидтың шығуына әсерін байқадық.

Оқшауланған тозаңнан өсімдіктерді алу екі жолмен жүреді: каллусогенез және соматикалық ұрықтардың тікелей регенерациясы (эмбрионидогенез) арқылы. Эмбрионидтардың қалыптасу тиімділігі генотипті тәуелділік процесс болып есептеледі және 0 пайыздан 98%-ға дейін түрленеді.

2-4 аптадан кейін тозаңдар культураныңда сұйық ортада көрінетін микроспордан алынған алғашқы эмбрион тәріздес құрылымдар байқалды. Әр апта сайын цитологиялық бақылаулардан, микроспоралардың бөлінуін және каллустар мен эмбриоқұрылымдардың дамуын жазып отырылды.

Зерттелгелі отырған дақылды *in vitro* жағдайында өсіру үшін соматикалық клеткаларын бөліп алып, оны қоректік ортаға орналастыру жұмыстары жүргізілді. Зерттеуді бастамас бұрын барлық асептикалық талаптарды қатаң

ұстана отырып, соматикалық клеткаларды бөліп алу жұмысын жасаймыз. Стерилизацияланған құрал жабдықтардың көмегімен Петри табақшасына соматикалық клеткаларымызды орналастырамыз және содан соң бөліп алу жұмыстарын жасаймыз. Аса қатаң асептикалық талаптарды қолдана отырып, әр бөлік үшін жеке пинцет және басқа да жеке құрал жабдықтар қолданылады. Себебі өсімдіктен алынған оқшауланған тін айтарлықтай тез зақымданады, сондықтан зақымдану орын алған жағдайда қоректік ортаға орналасқан тіршілік белгілерін көрсетпей стресске ұшырайды. Сол себепті аса ұқыптылықпен жұмысты жүргіздік. Стерильді жағдайда өсімдіктен бөлініп алынған тін жасушаларын витаминдермен, гормондармен, тұздармен, байытылған өлшеуіш көрсеткіші бар цилиндрдің ішіндегі сұйық қоректік ортаға ортаға арнайы стерилденген құрал жабдықпен орналастырдық. Қоректік ортаға орналасқан соматикалық жасушаларды желімдеп, сыртына аттары жазылған соң, термостатқа салынып, температурасы 24,5 °C болатын температурада 5-6 күнге сақталады. (6 сурет)



5 Сурет – Бидай (*Triticum aestivum* L.) пробиркалары термостатта

Төменгі кестеде жаздық бидайдың оқшауланған тозаңқаптарын мен микроспораларының *in vitro* жолымен өсіру көрсетілген. Жаздық бидайдың түрлі сорттарындағы тозаңқаптардың саны көрсетілген. Әр сорт үшін пайдалы тұздармен мен қышқылдармен, витаминдермен байытылған қоректік орталар таңдап алынды. Әр түрлі қоректік орталардың түрлері Гамбург, Мурасига скуга т.б жасанды қоректік орталарда *in vitro* өсіру жолдарымен сипатталған.

3.1 Кесте - Бидайдың оқшауланған тозаңқаптары мен микроспораларын алғашқы *in vitro* өсіруі (5 Наурыз 2022 жыл)

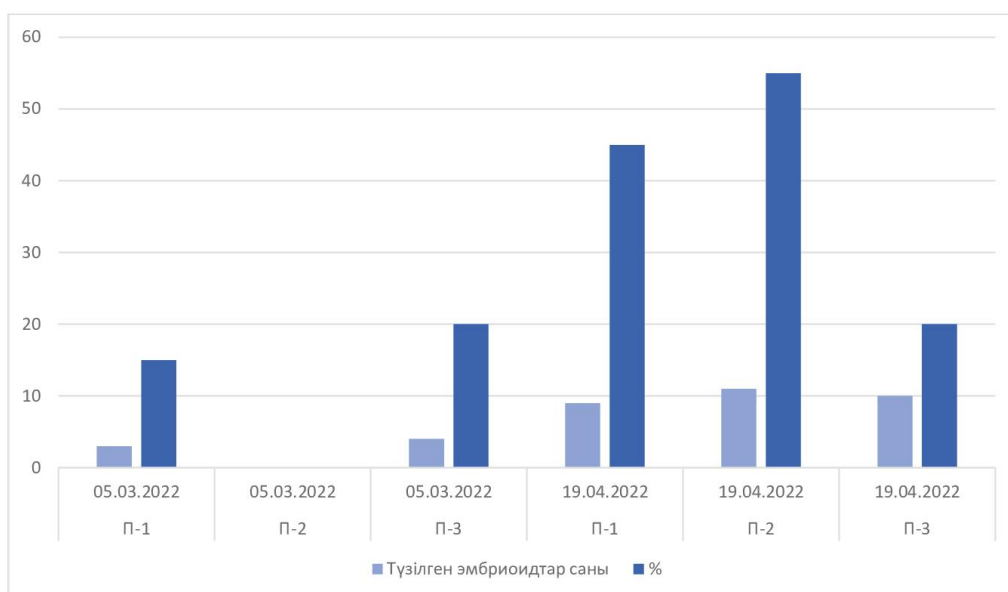
№	Генотип	Тозаңқаптар саны	Түзілген «Э» саны	%
1	П-1	20	3	15
2	П-2	20	0	0
3	П-3	20	4	20

3.2 Кесте - Бидайдың оқшауланған тозаңқаптары мен микроспораларын екінші *in vitro* өсіруі.(19 Сәуір 2022 жыл)

№	Генотип	Тозаңқаптар саны	Түзілген «Э» саны	%
1	П-1	20	9	45
2	П-2	20	11	55
3	П-3	20	10	50

Біздің эксперименттерімізде сыналған құрғақшылыққа төзімді генотиптерде эмбриондтердің ең жоғары шығуы П-2 (55%) яғни культивирленген тозаңқаптар саны 20 болды. Содан соң 2-ші орынды П-3 генотипі, эмбриондтар саны 10 (50%), ал тозаңқаптар саны бойынша 20 деген көрсеткішке ие. Кезекті 3 – ші орынды П-1 гибриді: түзілген эмбриондтар саны 9, пайыздық көрсеткішпен (45%) болса, тозаңқаптар саны 20. (1 кесте).

Зерттеу нәтижелері көрсеткендей жаздық бидайдың микроспорасы культурасында, қоректік ортаның түрлілігіне қарамастан әр генотиптен эмбриондтық құрылым пайда болғандығын байқаймыз.



1 Диаграмма - Түзілген эмбриондардың пайыздық көрсеткіші

Жалпы, кестелік мәліметтер бойынша, МС ортасындағы эмбриондардың шығуы бидай тозаңдарының культурасымен жұмыс істеу кезінде неғұрлым тиімді болып табылады деген қорытынды жасауға болады. [10]

Зерттеу жұмыстары жүргізілген орын:

Зертханалық жұмыстар Алматы қаласында орналасқан «Технопарк корпусының 103 - лабораториясында» жүргізілді.



6 Сурет – Бидайдың оқшауланған тозаңқап және микроспора культурасында түзілген андроклиндік құрылымдардан алынған өсімдік-ренеранттары.

Негізгі зерттеу объектісі ретінде бидайдың сорттары 3 алынды П-1, П-2, П-3. Бидайдың тозаңдарының культурасы үшін алдын ала өңдеудің ең жиі қолданылатын тиімді әдісінің бірі төменгі температурамен өңдеуді қолдану. Жинақталған бидайды өсіру алдында салқын шокқа ұшырату жұмысы жасалынады. Бидайдың тозаңдарын суықпен алдын ала өңдеу андрогенез процесін күшейтетіні білеміз. Стерильдік жағдайларды қатаң сақтана отырып, ламинарлы боксте бидай дақылының толығымен әлі пісіп жетілмеген дәндерінен 20 тозаңдарды бөліп алу жұмыстарын жүргізіп, оларды қоректік ортаға отырғызу жұмыстары жүргізілді. Себебі бидай тозаңдарын ұзақ ұстауға болмайды, өйткені кеуіп кету қатері бар. Сонымен қатар бидайдың тозаңдарын әр түрлі қоректік ортаға отырғызу жұмыстары жүргізілді. Оны жоғарыда берілген кестеден көруге болады.



7 Сурет – Бидайдың сомалық клеткаларынан алынған каллустардың суспензиялық дақылы

Бидайдың түрлі генотиптерін зерттеу нәтижелері бойынша *in vitro* өсірудің шарттарына сәйкес андрогендік әлеуеті жоғары нысандар бөлінген. Пролиферация процестерінің индукциясы, жасушалық популяциялардың регенерациясы, донорлы өсімдіктің бастапқы эксплантының даму сатысына, олардың өту қарқындылығы және түріне байланысты екені анықталды.

ҚОРЫТЫНДЫ

Бидай дақылы (*Triticum aestivum* L.) сомалық клеткаларын *in vitro* жағдайында өсіру динамикасын зерттелінді.

Бидай дақылы (*Triticum aestivum* L.) генотиптерін зертханалық жағдайда зерттеп, *in vitro* сомалық жасуша культурасында морфогенді каллустар қалыптастырылды.

Алынған зерттеу нәтижелерінің практикалық бағаланды.

Эмбрионидтар МС қоректік ортасында эмбрионидтар түзу жиілігі бойынша жаздық бидайдың шығуы П-1 45%. Ал П-3 генотипі, эмбрионидтар түзілу жиілігі 50%. Сонымен қатар П-2 эмбрионидтар түзілу жиілігі 55% болып жоғарғы көрсеткішті көрсетті. Бидайдың сомалық жасушаларының суспензиялық дақылы алынды.

ПАЙДАЛАНЫЛҒАН ӘДЕБИЕТТЕР ТІЗІМ

- 1 Shirdelmoghanloo, H., A. Moieni and M. Mousavi. Effects of embryo induction media and pretreatments in isolated microspore culture of hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L. cv. Falat). *African Journal of Biotechnology*, - 2009, - 8, - 6134–6140.
- 2 http://www.agroatlas.ru/ru/content/cultural/Triticum_aestivum_spring_K/
- 3 Han Z, Liu Y, Deng X, Liu D, Liu Y, Hu Y, Yan Y. Полногеномная идентификация и анализ экспрессии семейства генов экспансинов в мягкой пшенице (*Triticum aestivum* L.). *Геномика BMC*. – 2019, -20 (1). <https://doi.org/10.1186/s12864-019-5455-1>
- 4 Wan Y, Layton J. Wheat (*Triticum aestivum* L.). *Methods Mol Biol*. -2006, -P. 245-253. <https://doi.org/10.1385/1-59745-130-4:245>
- 5 Қодаров Б.Р., Ә.Е. Ережепов / Дәнді, жарма және техникалық дақылдар биохимиясы: (Техникалық биохимия). -Алматы, -2015. -298 Б.
- 6 Г.Ж. Валиханова / Биотехнология растений: учебное пособие. -Павлодар, -2009. –С. 272.
- 7 <https://emirb.org/oldanbali-ekologiya.html?page=6>
- 8 Дитченко, Т. И. Д 49 Культура клеток, тканей и органов растений: Метод. рекомендации к лабораторным занятиям, задания для самостоятельной работы и контроля знаний студентов Т. И. Дитченко. -Минск, БГУ, -2007. -С. 25.
- 9 Анапияев Б.Б., Сатыбалдиев Д.Д., Богданова Е.Д., Полимбетова Ф.А. Использование гаплоидной технологии в селекции пшеницы на засухоустойчивость // Известия МН-АН РК. Серия биол. и мед. – 1999. - № 5- 6. - С. 116-120.
- 10 Анапияев Б.Б., Богуспаев К.К., Шегебаев О.Ш., Культура изолированных пыльников в селекции пшеницы // Биотехнология, прилож. к экспресс информ. Новости науки Казахстана.-Алма-Ата,-1991,-С. 33-34
- 11 <https://medbe.ru/materials/problemu-i-metody-biotekhnologii/kultura-kallusnykh-tkaney/?ysclid=l25z377vpm>
- 12 Долгих Ю.И., Принципы скрининга клеток in vitro с целью получения устойчивых к абиотическим стрессам форм растений// тез.докл. – Пущино, – 1993. –С. 103 – 337.
- 13 Хозлов С.С., Тырнов В.С., Гришина Е.В. и др. Гаплоидия и селекция. М.Наука, -1976. –С. 221.
- 14 Б.Б. Анапияев, К.М. Исакова, Е.Б. Бейсенбек, Д.Т. Казкеев. Гаплоидная биотехнология экологической селекции (*Triticum aestivum* L.) на засухоустойчивость //Известия МОИ РК, НАН РК. Серия биологическая и медицинская. -2002. №4 –С. 116–120