

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ БІЛІМ ЖӘНЕ ҒЫЛЫМ МИНИСТРЛІГІ

Қ.И. Сәтбаев атындағы Қазақ ұлттық технологиялық зерттеу университеті

Химиялық және биологиялық технологиялар институты

«Биотехнология» кафедрасы

Анарбек Нағима Жүрсінқызы

Оқшауланған арпа микроспора культурасы (*Hordeum Vulgare L*)

**ДИПЛОМДЫҚ ЖҰМЫС**

5B070100 – «Биотехнология» мамандығы

Алматы 2019

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ БІЛІМ ЖӘНЕ ҒЫЛЫМ МИНИСТРЛІГІ

Қ.И. Сәтбаев атындағы Қазақ ұлттық технологиялық зерттеу университеті

Химиялық және биологиялық технологиялар институты

«Биотехнология» кафедрасы



**ҚОРҒАУҒА ЖІБЕРІЛДІ**

Биотехнология кафедрасы

меңгерушісі PhD, профессор

З.К. Түйебахова

«06» май 2019 ж.

### ДИПЛОМДЫҚ ЖҰМЫС

Тақырыбы: «Оқшауланған арпа микроспора культурасы (*Hordeum Vulgare L*)»

5B070100 – «Биотехнология» мамандығы бойынша

Орындаған

Анарбек Н.Ж

Ғылыми жетекші

б.ғ.д. профессор

Анапияев Б.Б. Анапияев

«06» 05 2019 ж.

Алматы 2019

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ БІЛІМ ЖӘНЕ ҒЫЛЫМ МИНИСТРЛІГІ

Қ.И. Сәтбаев атындағы Қазақ ұлттық технологиялық зерттеу университеті

Химиялық және биологиялық технологиялар институты

«Биотехнология» кафедрасы

5B070100 – «Биотехнология»



БЕКІТЕМІН

Биотехнология кафедрасы

менгерушісі, PhD, профессор

3.К. Түйебахова

«06» \_\_\_\_\_ 2019 ж.

**Дипломдық жұмыс орындауға  
ТАПСЫРМА**

Білім алушы Анарбек Нағима Жүрсінқызы

Тақырыбы Оқшауланған арпа микроспора культурасы (*Hordeum Vulgare L.*)

Университет ректорының 2018 жылғы «16» қазан №1163-б бұйрығымен бекітілген

Аяқталған жұмысты тапсыру мерзімі 22.04.2019 жылы

Дипломдық жұмыстың бастапқы берілістері Диплом алды өнеркәсіптік практикадан алынған материалдар

Дипломдық жобанда қарастырылатын мәселелер тізімі:

а) Арпаның (*Hordeum vulgare L.*) оқшауланған микроспора культурасын алу әдістерін зерттеу;

ә) Арпаның оқшауланған микроспора культурасында андроклиндік құрылымдар алу;

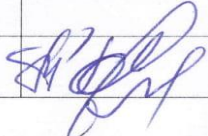
б) Арпаның оқшауланған микроспора культурасында эмбриондардың түзілу жиілігіне генотиптің әсерін зерттеу;

Ұсынылатын негізгі әдебиет: 23 атау


Дипломдық жұмысты дайындау  
КЕСТЕСІ

Бөлімдер атауы, қарастырылатын мәселелер тізімі	Ғылыми жетекші мен кеңесшілерге көрсету мерзімдері	Ескерту
Әдебиетке аналитикалық шолу	қаңтар	
Материалдар мен әдістер	ақпан	
Зерттеу қорытындылары: лабораториялық жұмыстар	наурыз	

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	Ғылыми магистрі Тұрғымбаева Қ.Қ.	22.04.2019	

Ғылыми жетекші  Б.Б. Анапияев

Тапсырманы орындауға алған білім алушы  Н.Ж.Анарбек

Күні «06» 05 2019 ж.

## АНДАТПА

«Оқшауланған арпа микроспора культурасы (*Hordeum Vulgare L*)» атты дипломдық жұмыстың көлемі қағаз түрінде 30 беттен тұрады. Дипломдық жұмыс кіріспеден, 3 бөлімнен, қорытындыдан, 23 атаудан тұратын ғылыми және оқу әдебиеттерінің библиографиялық тізімі, 2 кестеден және 10 суреттен тұрады.

Мақсаты: Арпаның (*Hordeum vulgare L.*) оқшауланған культурасында эмбриоидогенез процессінің жиілігіне әсер ететін факторларды зерттеу.

Диплодық жұмыс гаплоидты технологияны қолдана отырып, арпа культурасынан микроспораларды бөліп алу әдістеріне қысқаша шолу. Арпамаңызыды астық дақылының бірі. Арпа ежелгі мәдени өсімдіктердің қатарына жатады. Сондай-ақ *in vitro* жағдайындағы тозаңдар культурасы эксперименттік гаплоидияның ең тиімді әдістерінің бірі болып табылады және ерте ұрпақтың будандары негізінде гомозиготалы желілерін құру үшін әртүрлі селекциялық бағдарламаларда қолданылады. Гаплоидтік биотехнологияны пайдалану кезінде 1 – 2 жыл ішінде перспективалы гибридтерден жаңа сортты құруға негіз болатын генетикалық тұрақтандырылған дигаплоидтік желілерді құруға болады.

*Түйінді сөздер:* Оқшауланған микроспора, (*Hordeum Vulgare L*), гаплоидты технология, андрогенез.

## АННОТАЦИЯ

Тема дипломной работы «Культура изолированных микроспор ячменя (*Hordeum Vulgare L*)».

Дипломная работа выполнена на бумажном носителе в объёме 30 страниц. Диплом включает введение, 3 раздела, заключение, библиографический список научной и учебной литературы из 23 наименований, 2 таблиц, 10 рисунков.

Цель: Изучить факторы, влияющие на частоту процесса эмбриогенеза в изолированной культуре ячменя (*Hordeum Vulgare L*).

Дипломная работа краткий обзор методов выделения микроспор из ячменной культуры с применением гаплоидной технологии. Ячмень-одна из важнейших зерновых культур. Ячмень относится к числу древних культурных растений. Также культура пыльников в условиях *in vitro* является одним из наиболее эффективных методов экспериментальной гаплоидии и используется в различных селекционных программах для создания гомозиготных сетей на основе гибридов раннего поколения. При использовании гаплоидной биотехнологии в течение 1 – 2 лет можно создать генетически стабилизированные дигаплоидные сети, которые служат основой для создания нового сорта из перспективных гибридов.

*Ключевые слова:* изолированная микроспора, (*Hordeum Vulgare L*), гап – лloidная технология, андрогенез.

## ANNOTATION

Theme of diploma work «The culture of isolated microspores of barley «(*Hordeum Vulgare L*)».

Diploma work is executed on a paper carrier in the volume of 30 pages.

A diploma includes introduction, 3 divisions, conclusion, bibliographic list of scientific and educational literature pfrom 23 names, 2 tables, 10 pictures.

Purpose: To Study the factors influencing the frequency of process embrioge – neza in an isolated culture of barley «(*Hordeum Vulgare L*)».

Thesis a brief overview of the methods of isolation of microspores from barley culture using haploid technology. Barley is one of the most important crops. Barley is one of the ancient cultivated plants. Also, the culture of anthers in vitro is one of the most effective methods of experimental haploidy and is used in various breeding programs to create homozygous networks based on early - generation hybrids. When you use the haploid biotechnology in 1 – 2 years it is possible to create genetically stable dihaploids network, which serve as the basis for the creation of a new class of promising hybrids.

Key words: isolated microspore, (*Hordeum Vulgare L*), haploid technology, androgenesis.

## МАЗМҰНЫ

	Кіріспе	9
1	Әдебиетке шолу	10
1.1	Арпа культурасының пайдасы мен биологиялық ерекшеліктері	10
1.2	Арпа культурасының оқшауланған микроспорасы және гаплоидты технология	12
1.3	In vitro жағдайында тозаңдар культурасы және оларға әсер ететін факторлар	15
2	Материалдар мен әдістер	19
2.1	Стерилизациялық жағдайларды қамтамасыз ету	19
2.2	Оқшауланған тозаңдарды өсіруге арналған қоректік орталар	20
2.3	Арпа культурасының тозаңдарын бөліп алу және қоректік ортаға отырғызу	22
3	Зерттеу нәтижелері	24
	Қорытынды	28
	Пайдаланған әдебиеттер	29



## КІРІСПЕ

*Өзектілігі:* Қазіргі таңда селекцияның дәстүрлі әдістері мен замануи био – технологиялық тәсілдерді ұштастыра отырып арпаның генетикалық әртүрлілігін кешенді зерттеу өзекті болып табылады және культура селекциясын сапалы жаңа деңгейге көшіруге мүмкіндік береді.

Гаплоидтік биотехнологияны пайдалану кезінде 1 – 2 жыл ішінде перс – пективалы гибридтерден жаңа сортты құруға негіз болатын генетикалық тұрақтандырылған дигаплоидтік желілерді құруға болады.

*Зерттеу мақсаты:* Арпаның (*Hordeum vulgare L.*) оқшауланған культу – расында эмбриоидогенез процесінде эмбриоқұрылым түзілу жиілігіне әсер ететін факторларды зерттеу.

*Зерттеу мақсатына сәйкес келесі міндеттер қойылды:*

1. Арпаның (*Hordeum vulgare L.*) оқшауланған микроспоралар культурасын алу әдістерін зерттеу;
2. Оқшауланған арпа микроспора культурасындағы андроклиндік құрылымдар алу;
3. Арпаның оқшауланған микроспора культурасындағы эмбриогенез процесі нәтижесінде түзілген эмбриоқұрылымдардың түзілу жиілігіне генотиптердің әсері зерттеу.

# 1 Әдебиетке шолу

## 1.1 Арпа культурасының пайдасы мен биологиялық ерекшеліктері

Арпа – маңызды астық дақылының бірі болып табылады. Арпа ежелден бергі келе жатқан мәдени өсімдіктердің қатарына жатады. Бидай секілді, олда 10 мың жыл бұрын таяу Шығыста өсіріле, өндіріле бастаған. Арпа дақылы, азық - түліктік, жемдік және техникалық маңызды мәдениет болып саналады. Арпа жармасы, арпа ұны мен мияның дәрілік мәні зор. Сондықтанда бұл дақыл Ежелгі Мысырда, Месопотамияда және Грецияда маңызды астық мәдениетінің бірі болып табылады. Арпаны өсірудің үлкен ареалы мен мыңжылдығы *Hordeum L* тұқымының тұраралық және де түрішілік алуан түрлілігін анықтады. Арпаның кең таралу аймағы оның көптеген бағалы қасиеттеріне байланысты болған. Жоғары бейімделу қабілеті арқасында, оны көптеген ең қиын жағдайларда: тауларда және дала алқаптарында жоғары, жоғары ылғалдануда немесе құрғақ дала жағдайларында өсіре алады. Арпа – бұл экономикалық маңызды дақыл, бұл астық дақылының 60% – ға жуығы мал азығы ретінде, 30% – ға жуық уыт өнді – руге, 7% – ға жуығы тұқым өндіру үшін және тек 3% – ға жуығы ғана адам азы – ғына арналған [1].

Арпа *Hordeum Vulgare* дәнді дақылына, жалпы алғанда *Hordeum* туысына жатады. Бұл туыс, егілетін арпадан басқа, әлемнің қалыпты және құрғақ аймақтарында таралған жабайы шөптердің 30-дан түрін қамтиды. Бүкіл әлем бойынша бидай, күріш және жүгеріден кейінгі үшінші орынды алады [2].

Тарихы жағынан, арпа маңызды дәнді - дақыл ретінде, әлемнің көп елде – рінде Таяу шығыс, Оңтүстік Африка, Солтүстік және Шығыс Еуропада (негізінен Иран, Марокко Эфиопия, Финляндия, Ресей, Дания, Англия Польша) және Азия елдерінде (Жапония, Үндістан, Тибет және Корея) негізгі азық - түлік көзі ретінде пайдаланған [3].

Арпа жаздық немесе қысқы түрі, дәні қос қатарлы көп қатарлы (6 қатарлы) қауыздалған немесе қауыздалмаған болып жіктеледі. Жабайы арпа көбіне екі қатарлы, ал ең көп өсірілетін арпа алты қатарлы болып келеді. Алты қатарлы арпа 25 – 60 шақты дән өндіре алады, ал екі қатарлы арпа 25 – 30 [4].

Жаздық арпа әр түрлі топырақ-климаттық жағдайларға жақсы бейімделген. Жаздық бидай мен сұлыға қарағанда оның түсімі жоғары әрі 10 – 15 күн ерте піседі. Және де арпа ең тез дамитын мәдениет (вегетациялық кезең 70 – 110 күндерді құрайды) [5].

Әлемде жыл сайын 56 млн.га жуық алаңда, 136 млн. тоннадан астам арпа дақылы өндіріледі. Арпа дәнінің құрамына β - глюкан (холестеролға қарсы), ацетилхолин (жүйке жүйені қуаттандыратын, жад жоғалуды қалыпқа келтіреді) және лизин рибофлавин, тиамин кіреді. Сонымен қатар мал ақуызымен салыстырғанда, өсімдік ақуызы адам ағзасына толық сіңімді болып келеді. Арпа дақылының азықтық құндылығы адам ағзасында ұзақ уақыт бойы салқыдатқыш және тыныштандырғыш әсер қалыптастырады. Оны баламалы түрде мия және сыра өнеркәсіптерінде, сондай - ақ денсаулыққа арналған тониктарда

қолданылуының өзі, арпа қазіргі заманғы мәдениет екенін дәлелдейді. Арпа дәнінде 45 – 67% крахмал, 7 – 26% белоктар, 7 – 11% пентозан, 1,7 – 2% сахароза, 3,5 – 7,0% клетчатка, 2 – 3% май болады [6].

Сондай – ақ, арпа дәнедері еритін және ерімейтін тағамдық талшықтардың және Е витамині, В тобының витаминдері, минералдар және фенолдық қосылыстар сияқты басқа да биологиялық белсенді компоненттердің көзі болып табылады. Арпа токоферолдар мен токотриенолдарға бай болып табылады [3].

Биохимиктер, физиологтар, генетика және молекулалық биологтар үшін тамаша модельдік өсімдік болып табылатын арпа әлемдегі ең маңызды ауыл шаруашылығы өсімдіктерінің бірі болып табылады. Арпа отырғызу кезінде өте әмбебап болып, бидайға қарағанда суыққа төзімдірек, және масақ пайда болуы мен гүлденуі бидайға қарағанда ертерек болып, маусымынан бұрын егілуі мүмкін. Ерте отырғызу астықтың өнімділігін арттырып, ақуыз мөлшерін төмендетеді. Бұл уыттын жоғары сапалылығына алып келуі мүмкін, алайда ерте отырғызғанда үсік шалу қауіпі бар, ол үшін бақташылар өз аймақтары үшін мұз кату қауәпін қадағалау қажет. Ал кеш отырғызылған дақылдар жиі ыстық, құрғақ кезеңдерде піседі, бұл астық өнімділігін төмендетуі мүмкін. Зертханалық жағдайларда өсіру жеңіл және тіндік дақылдар гендерді ауыстыру және гендерді редакциялау технологияларының дамуын жеңілдетеді, дегенмен, арпа гені мен жүйелік биология бойынша зерттеулер әлі де жалғасуда. Сондай-ақ арпаның кең генетикалық вариациясы суық, тұздану, құрғақшылық және сілтілі топырақ сияқты стресстік жағдайларға төзімді сорттардың пайда болуына алып келді.[7].



1 Сурет – Арпа культурасы (*Hordeum vulgare L.*)

Дәнді дақылдардың арасында арпа – ең ерте пісетін, құрғақшылыққа төзімді және тұздылыққа төзімді дақыл. Ылғалдануды және қышқыл топырақты

нашар көтереді. Арпаның вегетациялық кезеңі 55 – тен 90 күнге дейін және одан да көп болуы мүмкін. Оңтүстік - Шығыстағы, Украинаның оңтүстігіндегі, Қазақстанның құрғақшылыққа төзімді сорттары. Құрғақшылыққа төзімділігін бидайдағыдай жаздық және күздік құрғақшылыққа төзімді деп ажыратады. Жазғы құрғақшылыққа төзімді көптеген сорттар үшін вегетацияның ерте фазасында жылдам өсу және ерте пісу тән келеді. Бұл оларға көктемгі ылғал қорын тиімді пайдалануға және қатты құрғақшылық басталғанға дейін вегетацияны аяқтауға мүмкіндік береді [8].

## **1.2 Арпа культурасының оқшауланған микроспорасы және гаплоидты технология**

Соңғы жылдары ауыл шаруашылығы саласындағы биотехнологияның елеулі жетістіктеріне гаплоидты технологияны пайдалану арқылы қол жеткізілді. Селекциядағы гаплоидты технологияның рөлі өтте зор. Гаплоидты технологияны қолдану комбинацияны жылдам табуға мүмкіндік береді, қажетті сортты өндіріп алу уақытын біршама қысқартады десекте болар[9].

Оқшауланған микроспора культурасы арқылы гаплоидты өсімдіктер өсіру қазіргі таңға өсімдіктер селекциясын тездететін маңызды қаруы болып табылады [10].

Микроспора культурасынан алынған гаплоид – өсімдіктер ауыл шаруа – шылығындағы маңызды өсімдіктердің гомозиготалы және гомогенді линияларын алудың жылдам тәсілі болып саналады. Бұл микроспора культура технологиясы гомозиготалы өсімдіктерді зерттеулеріндегі, гаплоидты микроспоралы экспланттардан, рецессивті мутантты линиялардың бөлінуін қатамасыз етеді. Ең маңызды кезең *in vitro* жағдайындағы өсімдік регенерациясы болып табылады, кейін эмбрионға ұқсас құрылымдарды, гаплоидты немесе екі еселі гаплоидтарды алу мақсатында қатты регенерациялық ортаға көшіру. Оқшауланған микроспоралардың культурасы, молекулалық зерттеулердің үнемі кеңейетін спектріне арналған платформаны қамтамасыз ете отырып, микроспорлық индукция механизмдерін және эмбриогенез процестерін зерттеу үшін тамаша жүйе болып есептеледі[11].

*In vitro* алынған екі еселенген гаплоидтар практикалық селекцияда ғана емес, генетикалық инжинерияда да, сондай – ақ, өсімдіктердің жасушалық селекциясында да қолданылуы әбден мүмкін. Германияда арпаның жаңатіркелген сорттарының көпшілігі гаплоидты технолгияны пайдалана отырып жасалған және 2006 – 2007 жж егіс алқаптарының 50% – ы жаздық және күздік арпаның гаплоидты технологияны пайдалана отырып алынған сорттарымен егілді екен. Гаплоидтерді пайдланудың негізгі селекциялық артықшылығы гомозиготаны бір кезеңді алу мүмкіндігіне негізделген, бұл бейімделудің морфофизиологиялық параметрлерін тезбелгілеуге және Қазақстанның қатаң климаттық жағдайларына төзімді, астықтың жоғары өнімділігін тұрақты сақтау және қазіргі заманғы нарықтың барлық қажеттілік–

теріне жауап беретін көптеген ауруларға төзімді, бейімделген сорттарды шығару мерзімдерін қысқартуға мүмкіндік беретін технология [12].

Гаплоид өсімдіктер рецессивті гендік мутацияларды оңай анықтауға мүмкіндік береді, себебі олар доминантты аллельдермен бүркемеленеді. Бұл селекциялық процесті тездетеді, өйткені пайдалы гендерді іріктеуді жеңілдетеді. Бұл ретте гаплоидтерден қалаған гендік комбинацияны алу ықтималдығы диплоидтерге қарағанда жоғары келеді. Гаплоидты өсімдіктерден колхициндеу жолы мен екі есе гаплоидтік сызықтар немесе дигаплоидтер (*doubled haploid, DH*) алады. Қазіргі таңда өсімдіктердің дигаплоидтарын алудың әр түрлі тәсілдері бар болып табылады. Эксперименталды гаплоидияның бірнеше негізгі әдістерін бөліп көрсетуге болады:

1) Дигаплоидтар өсімдіктерді алыстан будандастыру жолымен алу селекциялық бағдарламаларда жиі қолданылады (жүгерінің немесе басқада өсімдіктердің тозаңын тозаңдандыру әдісі – бөтен текті түр тозаңдатқыштың хромсомасымен селективті элиминациясы бар алыстан будандастыру), фито–гормондармен өңдеудеумен және кейіннен эмбрионнан бүтін өсімдікті регенерациялаумен біріктіріп қолданылатын әдіс [13]. Бұлқұбылыс әсіресе арап дақылында жақсы зерттелген. Диплоидтық арпа *Hordeum vulgare* (мәдени) және *H. bulbosum* (көп жылдық жабайы) ұрықтың және эндоспермнің өсу сатысында (ұрықтандырудан кейінгі 5 күннен кейін) жабайы хромосоманың элиминациясы жүреді. *H. vulgare* хромосомасы мен гаплоид пайда болады. Ұрықтанғаннан соң 15 тәуліктен кейін аналық өсімдікте будан ұрығының өсуі тоқтатылады, бірақ *in vitro* өсіру кезінде осындай ұрықтардан өскіндер пайда болады. [12].

2) Гиногенез – әйел гаметофит мәдениетінен гаплоид алу әдісі болып табылады. Ерлердің стерилділігі бар өсімдіктерде ұрықтандырылмаған тұқымдарды өсіру гаплоидты алудың жалғыз мүмкіндігі болып табылады. Кейбір өсімдіктерде, мысалы арпа мен күріште, жасыл өсімдіктердің индукциясы андрогенезбен салыстырғанда гиногенезде әлдеқайда жоғары келеді екен. Ұрықтың қандай жасушасы жаңа ағзаға бастама беретініне байланысты партеногенез және апогамия деп ажыратылады. Партеногенез ұрықтандырусыз аналық жасушасының дамуы жолы. Апогамия кезінде ұрық синергидтен немесе антиподтан дамитын болады [12].

3) Андрогенез – микроспорадан немесе тозаңды дәннің жасушаларынан гаплоидті өсімдіктің пайда болу процесін айтады. Андрогенез тікелей (эмбриогенез) немесе тікелей емес, яғни кассогенез арқылы болу мүмкіндігі бар. Андрогенез әртүрлі жолдармен, соның ішінде генеративті немесе вегетативті жасушалардың дамуы арқылы, сондай-ақ суспензордың пайда болуы арқылы болуы мүмкін [14].

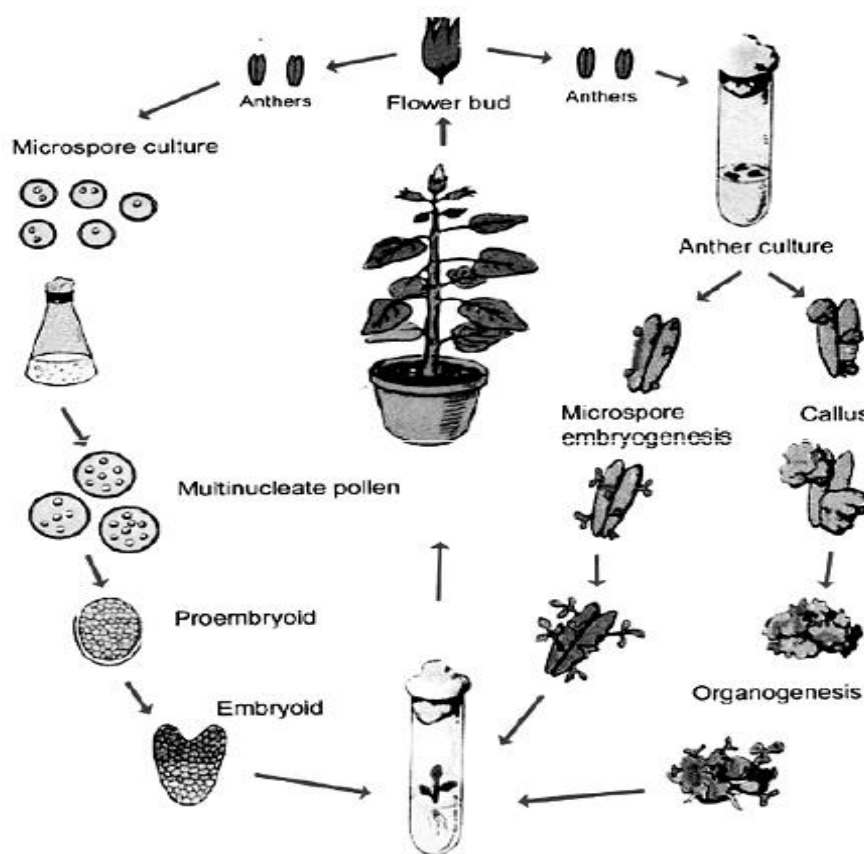
Андрогенез негізінде гаплоидты өсімдіктерді алудың негізгі әдістері:

а) Тозаңқап дақылы- бүгінгі таңда бұл негізгі технологиялардың бірі болып табылады. Бұл әдісті Еуропа мен АҚШ – тың селекциялық - генетикалық компанияларының барлық дерлік бөлімшелерінде пайдаланады [15].

Гаплоидті өсімдіктерді оқшауланған тозаңнан алу екі бағытта: тікелей регенерация және жанама калуссогенез арқылы жүргізілуі мүмкін. Бірінші жағдайда жекелеген тозаңды дәндерден тозаңдар ішінде эмбрионалды құры –

лымдар қалыптасады, олар егудің белгілі бір жағдайларында гаплоидті өсімдіктерге бастау беретін эмбриондарға дамиды. Эмбриондар – ұрық тәрізді құрылымдар. Екіншісінде – тозаң бөлінеді, ал бөлулер нәтижесінде пайда болған жасушалар тез мөлшерде ұлғаяды және тозаң дәнінің қабығын бұзып каллус түзеді. Одан әрі морфогенез нәтижесінде осы каллус жасушаларынан өсімдіктер регенерацияланады. Бұл ретте өсімдіктер әртүрлі пloidты болуы мүмкін – ди-, поли-, анеуплоидия. [12].

b) Оқшауланған микроспора культурасы (ОМК) – ең перспективті әдіс болып табылады. Оқшауланған микроспора культурасы басқа да қолжетімді әдістермен салыстырғанда бірнеше артықшылықтар бар. Эмбрионды бір гап – лloidтық жасушалардың үлкен санын қамтамасыз ете отырып микроспоралар көп мөлшерде бөлінуі мүмкін. ОМК – өз алдына жеке жасушалар болып табылады, бұл бір жасушаны іріктеуді оңтайландырады, микроспораның дамуына ортаның әр түрлі компоненттерінің әсерін тікелей зерттеуге үлкен мүмкіндік береді [16].



2 Сурет – Reynolds (1997) бойынша тозаңдар мен микроспоралар культурасында гаплоидті өсімдіктерді алу схемасы

Андрогенез әдісі микроспоралар мен піспеген тозаңды дәндердің өз даму жолын гаметофитикалық (жетілгенген тозаңды дәнге апаратын) спорофитикалық деңгейге түрлендіру қабілетіне негізделген екен, бұл жасушалардың гаплоидтық деңгейде бөлінуіне алып келеді, кейіннен каллус немесе эмбриондар пайда бола алады. Андрогенезді асептикалық жағдайларда тозаңды кесуден тұратын техникалық қарапайым әдіс арқылы немесе *in vitro* жағдайында

піспеген тозаң дақылдарының көмегімен индуцирлеуге болады. Тозаңдар қатты, жартылай қатты немесе сұйық ортада немесе екі фазалы жүйелерде (агар - қатайған ортаны жабатын сұйық орта) *in vitro* инокуляциялайды және өсіреді [17].

### **1.3 *In vitro* жағдайында тозаңдар культурасы және оларға әсер ететін факторлар**

*In vitro* жағдайындағы тозаңдар культурасы эксперименттік гаплоид – дияның ең тиімді әдістерінің бірі болып табылады және ерте ұрпақтың будандары негізінде гомозиготалы желілерін құру үшін әртүрлі селекциялық бағдарламаларда қолданылады. Әдеби деректерге сәйкес, микроспоралардың бөлінуі және кейіннен гаплоидті және екі есе гаплоидті өсімдіктерді алу үшін оларды өсірудің белгілі бір жағдайларын жасау қажет екендігі белгілі. Біріншіден, микроспоралар кейінгі бір ядерлі немесе ерте екі ядерлі даму сатысында болуы тиіс екендігі көрсетілді. Екіншіден, микроспоралардың бөлінуін индукциялау үшін және өсімдіктерге, дақылдарға регенерациялауға қабілетті колониялар мен ұрық тәріздес құрылымдарды одан әрі қалыптастыру үшін стресске ұшырау қажет. Тозаңды суық өңдеу, аштық сияқты экстремалды стресстік жағдайлардың әсерінен жыныстық жасушалар сияқты микроспоралардың генетикалық бағдарламасының өзгеруіне қол жеткізуге болады және оларды бөлісуге және кейіннен фертильді гаплоид/гомозиготалы өсімдіктерін өндіруге қабілетті соматикалық жасушаларға айналдыруға болады екен [18].

Сандық және сапалық параметрлермен сипатталатын (микрoқұрылымдардың пайда болу жылдамдығы, жиілігі, типі, визуалды әр түрлі жаңа түзілімдер) морфогенетикалық үдерістердің тозаңдарды өсіру процесінде пайда болуын анықтайтын фактор индукциялық қоректік орта болып табылады. Қоректік ортаның құрамы микроспоралар культурасына гаплопродукцияның тиімділігіне әсер ететін маңызды фактор болып табылады. Қоректік ортаның кейбір компоненттерін ауыстыру (азот көздері және оның концентрациясы, көміртегі көздері, түрлі табиғи қоспалар) гаплоидия әдісінің тиімділігін күрт жоғарылатқаны және оны практикалық селекцияда қолдануға мүмкіндік бергені белгілі. Қоректік ортаның маңызды компоненті көмірсулар болып табылады. Сахароза – әртүрлі экспланттарды өсіру үшін көмірсулардың ең көп таралған көзі. Сонымен қатар арпаның оқшауланған микроспораларын өсіру кезінде мальтозаны пайдаланудың артықшылықтары анықталды [11].

Тозаң дақылы ауыл шаруашылығы дақылдарының бірнеше түрлерін өсіру бағдарламаларын жеделдету үшін сәтті пайдаланылған. Тозаң дақылы әдісімен гаплоидтерді алу процесі стерилизациядан басталады. Тозаңды шығару кезінде оларды зақымдауға болмайды. Зақымдалған тозаңды міндетті түрде тастайды, өйткені олай болмаған жағдайда каллус тозаңнан емес, тозаң тіндерінің соматикалық диплоидтық жасушаларынан пайда болуы мүмкін. Тозаңдарды өсіру сұйық, қатты және аралас ортада жүзеге асырылады. Қажетті тозаңды бөліп

алғаннан кейін, оны арнайы қоректік ортадаларды өсіреді: Мурасиге - Скуг, Гам–борг (B5) немесе N6. Оқшауланған тозаңды қараңғыда немесе әлсіз жарықта, 25+2 температурада культивирлейді. Жалпы тозаң культурасынан гаплоид алуға жүргізілетін жұмыстар, алдымен тозаңды өсімдіктен асептикалық жағдайларды сақтай отырып бөліп алады. Оны бірден қоректік ортаға отырғы – зады. Қоректік ортаның құрамы өсімдіктің генотипіне сәйкес таңдап алады [19].

Андрогенез тиімділігіне әсер ететін негізгі факторлар:

1. Генотип
2. Бастапқы өсімдік-доноларды өсіру
3. Микроспоралардың даму сатысы
4. Алдын - ала өңдеу шарттары
5. Микроспоралар мен тозаңдарды өсіру шарттары
6. Қоректік орта құрамы [12].

Маңызды дәнді - дақылдардың, соның ішінде жаздық арпа селекциясын – дағы гаплоидия әдісін кеңінен пайдалану *in vitro* – да алынған гаплоидты өсім – діктердің тым төмен шығуымен тежеледі. Себебі, генотип немесе өсімдік-доноларды өсіру шарттары, микроспоралар даму сатысы, қоректік орта құрамына, алынған гаплоидтарды еселеу тәсілдері сияқты факторларға тәуелділік болуы мүмкін. Гаплоидтардың шығуын арыттыру үшін, гаплоидтың технологияның кейбір кезеңдерін жетілдіру қажет болып табылады. Бұл ретте гаплоидтерді алу әдістерін оңтайландыруда генетикалық және физиологиялық стратегияларды ажыратады. Бірінші тәсілге сәйкес, «*tissue culture ability*» деп аталатын төрт тәуелсіз белгі бар: каллустардың индукциясы, каллустардың тұрақтануы, өсімдіктер регенерациясы, альбиностар мен жасыл өсімдіктер арақатынасы. Тозаңдар культурасындағы реакция генотиппен, орта факторларымен және генотиппен ортаның өзара әрекеттесу факторларымен анықталады. Бұл ретте андрогенез индукциясына әсер етудің ең үлкен күшіне генотип ие [20].

Негізі тозаңдар культурасының андрогенезі дегеніміз, бұл тозаң дәндерінің гаметофитті даму жолынан спорофитті даму жолына өтуі. Ол дегеніміз гаплоидты тозаң дәндері соның ішінде өсімдік регенеранты дигаплоидизациядан кейін гомозиготалы гаплоидты өсімдікке айналуын айтады. Тозаң дәндерінің гаметофитті даму жолынан, спорофитті даму жолына өткендігін анықтайтын көптген факторлардың ішінен, екі негізгі факторларды қарастыруға болады: ол донорлы - өсімдікгенотипі және эндогенді, экзогенді фитогормондар балансы [21].

Фитогормон көмегімен жасушалардың, тіндердің және ағзалардың өзара әрекеттесуі жүзеге асырылады. Гормондар физиологиялық бағдарламаларды іске қосу және іске асыру үшін қажет, және жалпы, өсімдіктердің өсу және даму процестері фитогормондармен реттеледі. Сондай - ақ, *in vivo* сияқты, *in vitro* жағдайында оқшауланған жасушаның тіршілік ету процестерді ауксиндердер, цитокининдер, гиббереллиндер, абсциз қышқлы реттейді. Гормоналды реттеу бойынша зерттеулерде келесі мәселелерді анықтау маңызды болып табылады: фитогормондардың жасушалар немесе өсімдіктер органдары арасындағы қашықтықтан өзара әрекеттесуді жүзеге асырудағы сигналдық функциялары; фитогормондардың өсімдіктердің стрестік әсерлерге қарсы реакцияларына



катысуы. Фитогормондардың әрекет ету механизмдерін зерттеу өсімдіктердің гормоналды сигналдарының желісі туралы концепцияның қалыптасуына алып келді, ол компетентті жасушаға дамудың нақты жолын бірнеше ықтимал бағыттардан "таңдауға" мүмкіндік береді және әртүрлі фитогормондардың реттеуші жүйелерінің өзара әрекеттесуін қамтамасыз етеді. Қоректік ортаға 2,4 – D төмен концентрациясын енгізген кезде андрогенезге қабілеттілік ИУК деңгейі бар сорттарда жоғарылайды, ал эндогенді ИУК құрамы төмен сорттарда қоректік ортаға 2,4 – D жоғары концентрациясын енгізу қажет болып табылады. Тозаң эмбриогенезінің жиілігін арттыру үшін белгілі бір гормоналды тепе - теңдікті құру қажет екендігі күмән туғызбайды [22].

Культивирлеу кезіндегі микроспоралардағы хромосомаларды екі есе көбейту өте маңызды процесс болып табылады. Арпа мысалында 70% – ға дейін микроспоралар өсіру процесінде хромосомалар санын өздігінен екі есе көбейтуі мүмкін екендігі дәлелденген [18].

Тозаң дәндерінің постиндуктивті даму кезеңі морфогенетикалық түрлендірудің әртүрлі жолдарымен сипатталады. Тозаңды эмбриондар каллусты тін – дерде тікелей регенерация немесе тікелей емес регенерация жолымен дамуы мүмкін [21].

Оқшауландырылған тозаңдардан гаплоидті өсімдіктерді алудың өзі үш бағытта жүргізілуі мүмкін:

1) оқшауланған микроспоралар дақылынан соматикалық эмбриогенез ин – дукциясы (тозаңның дақылы);

2) тікелей андрогенез (эмбриондар мен гаплоидті өсімдіктер - регенерант – тар түзілу);

3) жанама андрогенез, репродуктивті жасушалар дифференцияланады және пролиферацияға ауысқанда, алдымен каллус түзед, содан кейін арнайы ортаға отырғызғанда – морфогенді каллус және регенеранттар түзіледі [19].

Қазіргі уақытта тозаңдарды өсіру кезінде микроспордың бір бөлігі эмб – риондарды немесе каллуссты өндіретін гаплоидті өсімдіктерді алу әдісі үлкен маңызға ие. Культивирлеуді арнаулы шарттарымен жүргізу нәтижесінде эмб – риондардан гаплоидты хромосомалы өскіндерді бірден алуға болады. Бұл тікелей андрогенез деп аталады, эмбриондар микроспордан тікелей дамиды [18].

Тозаңның зиготикалық клеткаға ұқсас болатын және эмбриогенездің бірқатар кезеңдерінен өтетін тікелей андрогенез тиімді болып табылады. Каллус өсімдіктерінің регенерациясы жағдайында, барлық өсімдіктерде гаплоидтік хромосомалар жиынтығы болмайды. Кейде алынған өсімдік - регенераттар әрдайым гаплоидты деп санайды, алайда бұл дұрыс емес ой, себебі ерте өсіру сатыларында микроспоралар геномының кездейсоқ мультипликациясы болуы мүмкін немесе жаңа пайда болуларға тозаңның қабырғасының соматикалық жасушалары берілуі мүмкін. *In vitro* андрогенезінің өнімділігі көптеген өзара байланысты факторларға байланысты екені анықталды. Андрогенезді табысты индукциялау үшін қажетті шарт тозаңда микроспоралардың даму сатысын анықтау болып табылады. Дәнді дақылдарда ер гаметофитті тозаң культурасына еңгізу үшін дамуының оңтайлы сатысы-бір ядролы микроспораның сатысы. Арпа мен бидай үшін микроспораның дамуының аталған сатысы басты сабақтың

үстіңгі бетінен жапырақтың шығу фазасына сәйкес келеді екен. Алайда, тозанды дәндердің даму сатысын анықтаудың мұндай тәсілі әрдайым сенімді емес, өйткені өсімдіктердің морфологиялық белгілері өсіру жағдайына байланысты өзгеруі мүмкін. *In vitro* микроспорасының дамуына қолайлы әсер ететін факторларға өсімдіктердің, масақтардың және тозақдардың салқын алдын ала өңделуі жатады. Төменгі оң температуралар бөлінуді синхрондауға және тозақ дәндерінің өміршеңдігін артырады. Мұндай алдын ала өңдеу масақтарға немесе тіпті оқшауланған тозақдарға қолданылуы мүмкін. Өкінішке орай, ұсынуға болатын стандартты алдын ала өңдеу жоқ, сондықтан өсімдіктердің әрбір түрі үшін инкубацияның оңтайлы температурасы мен уақытын анықтауымыз қажет [23].

## 2 Материалдар және әдістер

Донорлы–өсімдіктерді өсіру жөніндегі ғылыми зерттеу тәжірибие жұмыс – тары Алматы қаласы, Қарасай ауданы, Алмалыбақ ауылында орналасқан АҚ «КазАгроИнновация» қарасты ЖШС «Қазақ егіншілік және өсімдік шаруашы – лығы ғылыми институты» тәжірбиелік егіс алқабында жүргізілген болатын. Ал, зертханалық жұмыстарды Алматы қаласында орналасқан «Технопарк корпусының 103 зертханалық бөлмесінде» жүргізілді.

Бұл бөлімдегі жұмыстың негізг мақсаты – өсімдіктердің оқшауланған жасушалары, ұлпалар және тозаңдармен өсінділерімен жұмыс жүргізу кезінде асептиканы ұстау ережелерін меңгеру, стерильді тұқым алу және олардан асептикалық өскіндерді өсіру болып табылады.



3 Сурет – Егіс алқабында

### 2.1 Стерилизациялық жағдайларды қамтамасыз ету

Ламинар - бокс стерилизациясы. Оқшауланған микроспораларды, тозаң – дарды табысты өсірудің негізгі шарттарының бірі қатаң стерильділікті сақтау болып табылады, өйткені жасанды қоректік ортада екі есе қауіп төндіретін микроорганизмдере жақсы дамиды. Біріншіден, микроорганизмдердің тіршілік әрекеті нәтижесінде қоректік ортаның құрамы айтарлықтай өзгеруі мүмкін, екіншіден, өсімдіктен оқшауланған тін, жасушалар және әсіресе тозаңдар микроағзалармен оңай зақымданады. Сондықтан барлық тәжірибелерді стерильді жағдайда жүргізеді. Ламинар – боксты, құрал – жабдықтарды, ыдыстар,

өсімдік материалын, қоректік ортаны, мақта тығындарын және басқа да материалдардың барлығын дерлік стерильдеуі керек.

Ламинар - бокстар стерильдікті талап ететін оқшауланған жасушалар мен ұлпалардың өсінділермен түрлі жұмыстарды орындауға арналған. Ламинар - бокстағы стерильдік өзінде орнатылған, ауа айдайтын бактериялық сүзгілердің көмегімен қамтамасыз етілед. Жұмыс басталғанға дейін 2 сағат бұрын ламинар-бокс бактерицидті ультракүлгін шамдармен сәулелеп. Ламинардың ішкі бетін, спирт шамды, лупаны, қоректік ортасы бар пробиркаларды 70% спиртпен міндетті түрде сүртеді. Ламинар - бокста жұмыс басталар алдында қолды міндетті түрде спиртпен сүрту керек.

*Зерттеу объектісін стерилизациялау.* Өңдеу шартты объектіге байланысты болады. Сабақтардың, тамырдың фрагменттері ағынды су құбырымен жуылып және спиртке орналастырылады (1 минутқа 70% – дық ерітінді). Тұқымды алдын ала зарарсыздандыру – олардың ластану дәрежесіне байланысты жүргізілетін процедура. Біздің зерттеу объектіміз арпа тозаңдары мен микроспорасы болғандықтан, стерелизация масақтарына жасалады. Бұл арпа масақтарын ламина - боксте спиртпен сүрту арқылы жүзеге асырылады

*Құралдарды стерилизациялау.*

Құрал - жабдықтарды (скальпельдерді, пинцеттерді, инелерді және т.б.) алдын ала стерилдеу құрғақ, ыстық кептіру шкафында 140 температурада 2 сағат бойы қыздырудан тұрады. Металл заттарды автоклавтауға болмайды: будың әсерінен олар тот басады және өткірлігін жоғалады. Тікелей жұмыс алдында және оның процесінде құрал-саймандар (пинцеттер, скальпельдер, микро-биологиялық ілмектер) ламинарда тағы да стерильдейді, оларды 96% этил спирті бар стақанға салып және спирт шам жалынына күйдіреді. Стериль құрал тек бір манипуляция үшін қолданылады. Өте жұқа құралдар (инелер) күйдіру кезінде өз қасиеттерін жоғалтады, сондықтан оларды спиртке батырып стерилизация – лауға болады.

*Қоректік орталарды стерилизациялау.* Пробиркаларға төгілген қоректік ортаны мақта тығындармен жауып, целлофанға орайды және 120 температурада және 1 атм қысымда 20 минут бойы автоклавтайды.

## **2.2 Оқшауланған тозаңдарды өсіруге арналған қоректік орталар**

Өсімдіктердің жасушаларын, ұлпаларын және органдарын өсіру үшін әр түрлі гормоналды құрамды қоректік орталар пайдаланады. Оқшауланған жасушалар мен ұлпаларды өсіруге арналған қоректік орталар өсімдіктерге қажетті барлық макроэлементтерді, витаминдерді, көмірсуларды, фито-гормондарды қамтуы тиіс. Көмірсулар оқшауланған жасушалар мен ұлпаларды өсіру кезінде қоректік ортаның қажетті компоненті болып табылады, өйткені олар автотрофты қоректендіруге қабілетсіз. Әдетте көмірсулар көзі ретінде қантты немесе глюкозаны әр түрлі концентрацияларда қолдануға болады. Тозаң және *in vitro* микроспорасы культурасы үшін Blaydes, MC, N6, т.б. негізгі қоректік орталары пайдаланды.

Қоректік ортаны дайындау жолы:

1. 1л қоректік ортаны даярлау үшін 1л ыдысқа 400 мл – ге дейін су құйып 30г сахарозаны саламыз
2. Сахарозаны жақсылап ерітіп, қажетті мөлшерлерде алдын ала дайындалып қойған ерітінділарді (макротұздар, микротұздар, витаминдер, фитогормондар ) қосылады.
3. Дистилденгенген суды 950 мл-ге дейін жеткізеді.
4. Ерітіндінің рН көрсеткішін 5,8 – 6,0-ға дейін жеткіземіз.
5. Қоректік ортаны 1л колбаға немесе өлшеуіш көрсеткіші бар цилиндрге ауыстырамыз. Және де дистилденген су белгіленген мөлшерге жеткізілу керек.
6. Дайын қоректік ортаны арнайы таза конусты колбаларға құйып ауызын фольгамен жауып автоклавтаймыз.

1 Кесте – Оқшауланған тозаң дақыл және арпа микроспоры үшін пайдаланылған қоректік ортаның құрамы

Компоненттер	Құрамы	Қоректік орталар (мг/л)						
		MC	Blaydes	N6	N6P	N6M	MCR	MCC
Макро- тұздар	Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	-	347	-	-	-	-	-
	KNO <sub>3</sub>	1900	1000	2830	2830	2830	1900	1900
	NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	165	100	-	-	-	165	165
	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	-	-	463	463	463	-	-
	MgSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	370	350	185	185	185	370	370
	CaCl <sub>2</sub> 2H <sub>2</sub> O	440	-	166	166	166	440	440
	KCl	-	65	-	-	-	-	-
	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	170	300	400	400	400	170	170
Микро- тұздар	MnSO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> O	22,3	-	-	-	-	22,3	22,3
	MnSO <sub>4</sub> 4H <sub>2</sub> O	-	4,4	-	4,4	4,4	-	-
	KJ	0,83	0,80	0,80	0,80	0,80	0,83	0,83
	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	6,20	1,60	-	1,60	1,60	6,20	6,20
	ZnSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	8,60	1,50	-	1,5	1,5	8,60	8,60
	CuSO <sub>4</sub> 5H <sub>2</sub> O	0,025	-	-	-	-	0,025	0,025
	Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> 2H <sub>2</sub> O	0,25	-	-	-	-	0,25	0,25
Fe-хелат	FeSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	27,8	27,8	27,8	27,8	27,8	27,8	27,8
	Na <sub>2</sub> EDTA 2H <sub>2</sub> O	37,3	37,3	37,3	37,3	37,3	37,3	37,3
Витамин дер	Тиамин HCl	0,4	0,5	1,0	1,0	1,0	0,4	0,4
	Пиридоксин	-	0,5	0,5	0,5	0,5	-	-
	Никотин. к-та	-	1,0	0,5	0,5	0,5	-	-
	Аскорбин.к-та	-	1,0	1,0	1,0	1,0	-	-

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Аминокышқылдар	Глицин	-	-	2,0	2,0	2,0	-	-
	Гистидин	-	-	-	20	100	-	-
	Глутамин			-	20	100	-	-
Гормондар	2,4-Д	1,0	0,5	1,0	1,0	1,0	-	2,0
	ИУК	-	-	-	-	-	0,5	-
	Сахароза	10 %	11 %	9 %	9 %	9 %	2 %	2 %
	Мезоинозит	100	100	100	100	200	100	100
	Фиколл	-	-	-	30000	-	-	-
	Агар	6000	6000	6000			6000	6000
	Кондиционир.	-	-	-	+	+	-	-
	pH	5,8-6,0						

### 2.3 Арпа культурасының тозандарын бөліп алу және қоректік ортаға отырғызу

Біз негізгі зерттеу объектісі ретінде арпаның Арна, Сәуле, Сусын, 3/95, 3/76, 3/92, 3/27 сорттары алынды. Арпа тозандарының мәдениеті үшін алдын ала өңдеудің ең жиі қолданылатын тиімді әдісі-төмен температураны қолдану әдісі. Жиналған арпаны өсіру алдында суық шокқа ұшырату жасайды. Дегенмен, температура мен ұзақтығы әртүрлілікке байланысты. Арпа тозандарын суықпен алдын ала өңдеу андрогенез әлеуетін күшейтетіні белгілі мәлімет. Стерильдік жағдайларды сақтана отырып, ламинар – боксте арпа дақылының әлі толығымен пісіп-жетілмеген дәндерінен тозандарды бөліп алу жұмыстарын жүргізіп, оларды бірден қоректік ортаға отырғызу жұмыстары жүргізілді. Себебі оқшауланған арпа тозандарын ұзақ ұстауға болмайды, себебі кеуіп кетуі мүмкін.



4 Сурет – Арпа дақылының оқшауланған тозандары және оларды қоректік ортаға отырғызу



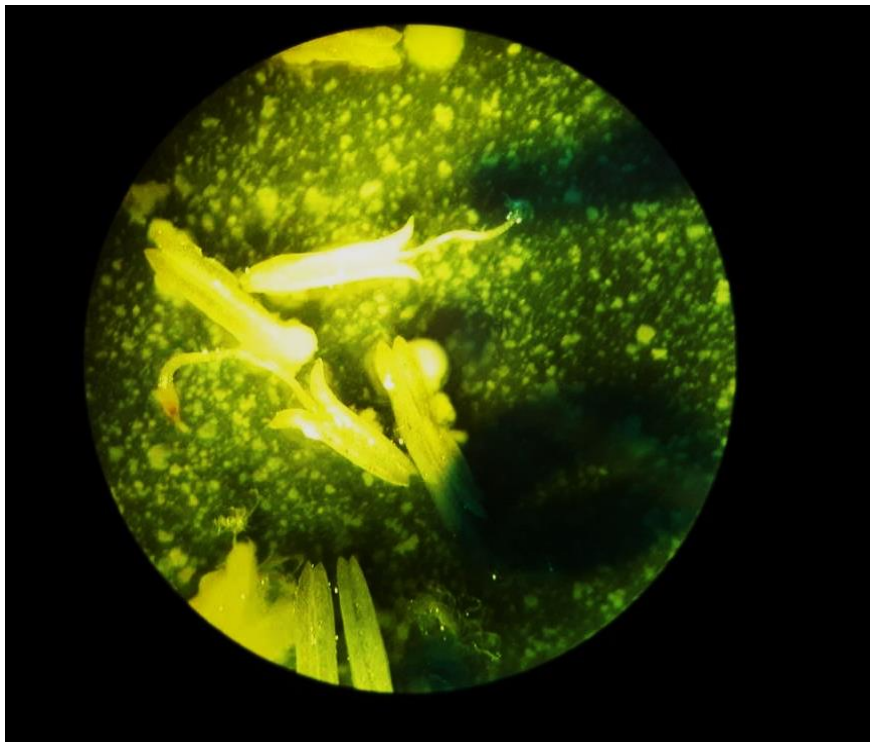
5 Сурет – Термостаттағы оқшауланған арпа тозаңдарын бөліп алу және егу жұмыстары

Тозаңдарды масақтың ортаңғы бөлігіннен бөліп алдық. *In vitro* микроспорасы мен тозаңдарды өсіру 27 °С қараңғыда жүзеге асырылды, ал эмбрионид тәріздес құрылымдар пайда болғанда 24 °С болып өзгертіледі. Себебі тозаңдар культурасының культивирлеудің қалыпты, оптималды температурасы болып табылады.

### 3. Зерттеу нәтижелері

Оқшауланған тозаңнан гаплоидті өсімдіктерді алу екі жолмен өтуі мүмкін: соматикалық ұрықтардың тікелей регенерациясы (эмбриоидогенез) және каллу – согенез арқылы. Эмбриондардың қалыптасу тиімділігі генотипті тәуелділік процесс болып табылады және 0 – ден 95% – ке дейін түрленеді.

3 – 4 аптадан кейін тозаңдар культурасында сұйық ортада көрінетін мик – роспордан алынған алғашқы эмбрион тәріздес құрылымдар байқалды. Әр апта сайын цитологиялық бақылау, микроспоралар бөлінуін және каллустар мен эмбриоқұрылымдардың дамуын есепке алу жүргізілді.



6 Сурет – Арпа микроспорасы культурасында түзілген эмбриондар (*Hordeum vulgare l.*)

In vitro оқшауланған микроспораның мәдениеті негізінде гаплоид биотехнологиясын пайдалану бойынша жүргізілген зерттеулер нәтижесінде біз эмбриондар және дигаплоидтік желілер құрылған регенеранттар алынды. Зерттеу нәтижесі бойынша арпаның арпаның 7 түрлі генотиптерін пайдалана отырып 2- кестедегідей мәліметтер алдық. Арпаның әртүрлі генотиптерін зерттеу нәтижелері бойынша in vitro өсіру шарттарына деген ықыластығы бойынша андрогендік әлеуеті жоғары нысандар бөлінген. Зерттеу пролиферация үдерістерінің индукциясына қабілеттілігі, олардың өту қарқындылығы, содан кейін жасушалық популяциялардың регенерациясы донорлық өсімдіктің бастапқы эксплантының даму сатысына және түріне байланысты екенін көрсетеді. Барлық генотиптерде микроспор бөлінуі алынды. Микроспоралардың дамуының басым жолдары анықталды.

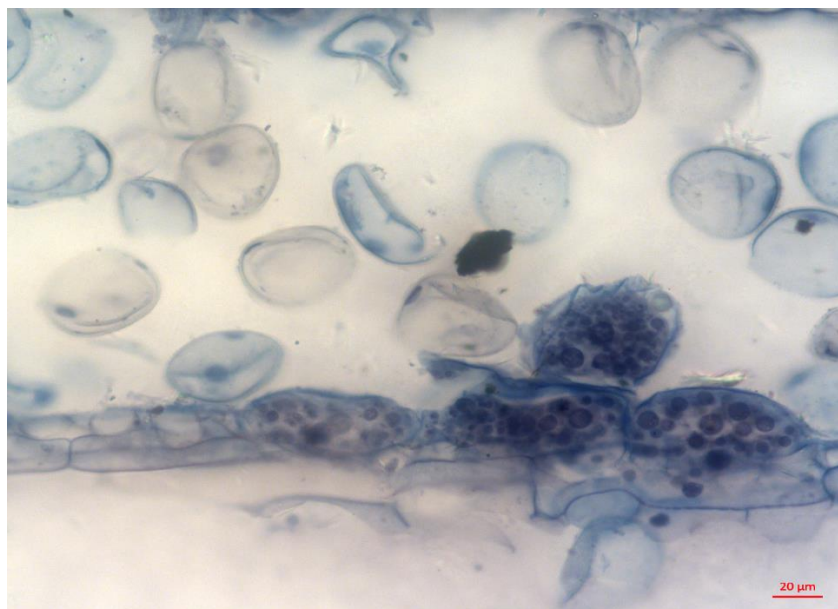
*Арпа микроспорасының дамуын микроскоп арқылы зерттеу.*



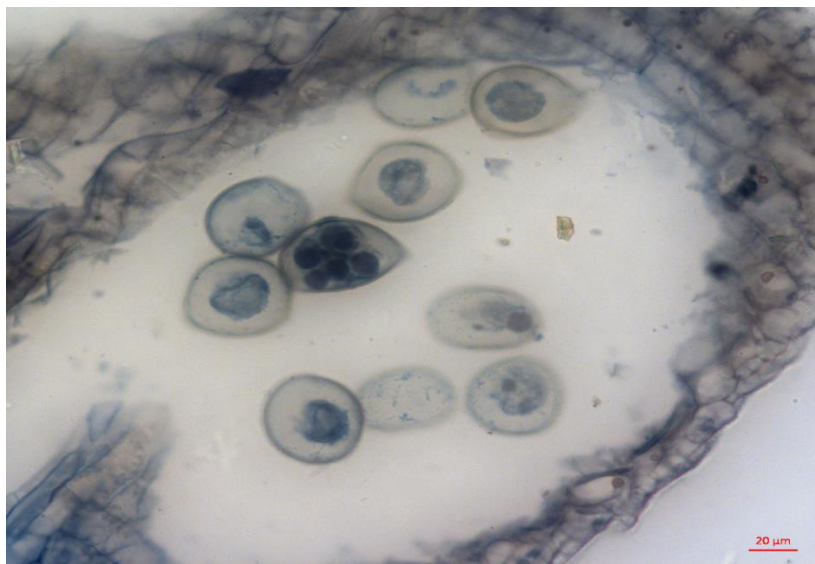
Қоректік ортаға оқшауланған арпа тозаңдарын отырғызып арнайы қоректік орта жағдайларында *in vitro* өсіру кезінде ол сапрофиттік даму жолында болады. Яғни гаметофиттік дамудан сапрофиттікке көшеді. Сондай – ақ оқшауланған тозаңдарды қоректік орталарда өсіру барысында, микроспоралар тозаң ішінде орналасуы мен метоболизмдері өзгереді. Микроскопиялық зерттеулер нәтижесінде микроспоралардың тозаңқап қабымен байланыс үзгендігін, сондай ақ әр суретте эмбриоқұрылымдар түзілгендігін байқауға болады. Сондай ақ тозаңқап камерасында олар түрлі қалыпта орналасады.



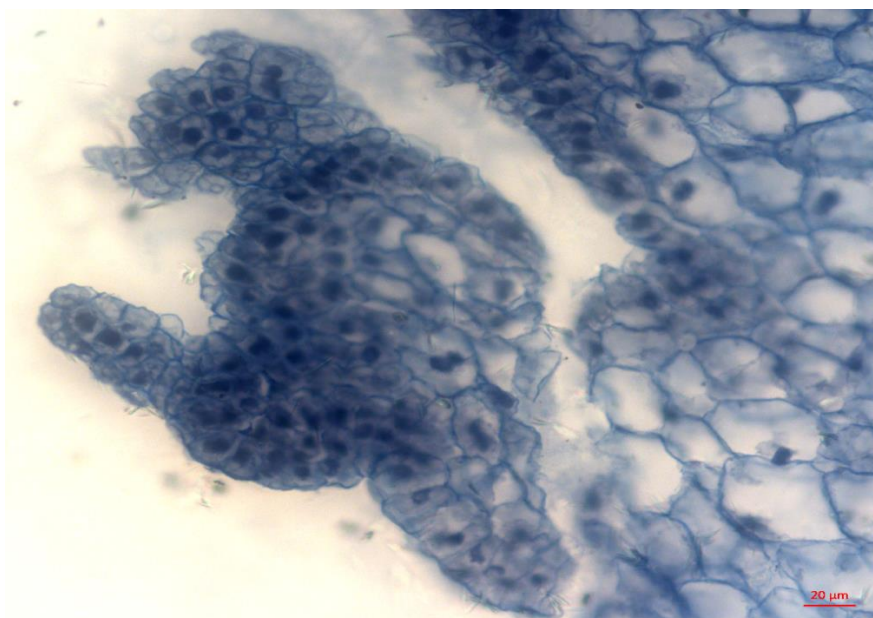
7 Сурет – Оқшауланған арпа микроспорасының *in vitro* жағдайында дамуы



8 Сурет – Эмбриодогенез процесінің микроскопиялық көрінісі



9 Сурет – Эмбриоқұрылымдардың түзілуі



10 Сурет – Эмбриоидтар түзілу процесі

Арпаның оқшауланған микроспораларын өсіру барысында 10-суреттен байқап отырғанымыздай эмбриоқұрылымдар тозаң камерасы ішінен сыртына шыққанын көруге болады.

2 Кесте – Арпа микроспорасы культурасының эмбриоидогенезі (*Hordeum vulgare* L.)

Генотип	Культивирленген тозаңдар саны	Алынған эмбриоидтар саны	%
Арпа	216	1	0,46
Сауле	54	4	7,40

2 - Кестенің жалғасы

1	2	3	4
Сусын	144	5	3,47
3/95	126	9	7,14
3/76	90	2	2,22
3/92	54	3	5,56
3/27	198	9	4,54

Зерттеу нәтижелері көрсеткендей арпа микроспорасы культурасында, қоректік орталардың түрлілігіне қарамастан әр генотиптен эмбриондық құрылымдардың пайда болғандығын байқаймыз. Тозаңның эмбриогенді қабілеті және андрогенді эмбриондардың регенерациялық қабілеті тек генотипке ғана емес, сондай - ақ, донор - өсімдіктерді өсіру жағдайларына да байланысты екені белгілі. Алайда эмбриондардың түзілу жиілігі әр түрлі болып табылады. Бұл жағдай генотиптің өсірілген қоректік ортасына байланысты болып табылады.

Тозаңдарды өсірудің барысында морфологиялық өзгерген микро – споралардың дамуы зерттелді. Микроспораның эмбриогенді бөліну жиілігі жаздық арпаның Сәуле генотипінде жоғары көрсеткіште, ал төмен көрсеткішті Арна генотипі көрсетті. Жаздық арпаның Сәуле генотипі Blaydes қоректік ортасында 54 тозаңдарды культивирлеу барысында эмбриондар түзілу жиілігі бойынша 7,40 % көрсетті. Ал арпаның Арна генотипінен 216 тозаңдар культивирлеу барысында, эмбриондар түзу жиілігі небәрі 0,46 % көрсетті. Бұл яғни, зерттеу барысында, зерттеу объектісі ретінде алынған барлық 7 жаздық арпа генотиптерінің ішіндегі эмбриондар түзілу жиілігі бойынша ең төмен көрсеткіш көрсеткен генотип болып табылады. Сонымен қатар жаздық арпаның Сусын сортынан қоректік ортада культивирленген тозаңдар саны 144 болы, нәтижесінде 5 эмбриондық құрылымдар алынды, алайда эмбриондық құрылымдар түзілу жиілігі 3,47 % көрсетті. Сонымен қатар Сауле сортынан кейінгі эмбриондық құрылымдардың түзілу жиілігі бойынша жоғары көрсеткіш көрсеткен 3/95 сорты болып табылады, культивирленген тозаңдар саны 126, ал эмбриондар түзілу жиілігі 7,14%-ды көрсетті. Және тағы бір жоғары көрсеткішті көрсеткен жаздық арпа сорты 3/92 эмбриондар түзілу жиілігі 5,56% көрсетті. Қалған 3/76 (2,22%), 3/27 (4,54%) сорттары эмбриондар түзу жиілігі алдыңғы Сәуле, 3/95, 3/92 сорттарынан төмен көрсеткіште болды.

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

## ҚОРЫТЫНДЫ

Арпаның (*Hordeum vulgare L.*) оқшауланған культурасында эмбриоидо – генез процессіндегі эмбриокұрылымдар түзілу жиілігіне әсер етуші факторлары зерттелді. Оқшауланған арпа микроспора культурасындағы андроклиндік құрылымдары алынды.

Арпаның оқшауланған микроспора культурасындағы эмбриогенез процесі нәтижесінде түзілген эмбриокұрылымдардың түзілу жиілігіне генотиптердің әсері зерттелді.

Vlaydes қоректік ортасында эмбриоидтар түзу жиілігі бойынша жаздық арпаның Сауле сорты 7,40 % көрсетті. Сонымен қатар жаздық арпа будандары 3/95 (7,14 %) және 3/92 (5,56 %) эмбриоидтар түзу жиілігі бойынша жоғары көрсеткіш көрсетті.

## ПАЙДАЛАНЫЛГАН ӘДЕБИЕТТЕР ТІЗІМІ

- 1 УДК 633.16. А.В. Железнов<sup>1</sup> , Т.В. Кукоева<sup>2</sup> , Н.Б. Железнова<sup>1</sup>./Ячмень голозерный: происхождение, распространение и перспективы пользования /© 2013 г.
- 2 (Аниськов Н.И., Поползухин П.В. Яровой ячмень в Западной Сибири (селекция, семеноводство, сорта): монография. – Омск: ООО «Вариант-Омск», 2010. – 388 с)
- 3 Mahesh Gupta Nissreen Abu-Ghannam Eimear Gallagher, 2010. Barley for Brewing: Characteristic Changes during Malting, Brewing and Applications of its By-Products. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety  
4 (Hordeum Introduction. Available at :[http://www.gramene.org/species/hordeum/barley\\_ intro.html](http://www.gramene.org/species/hordeum/barley_intro.html)Retrieved April 21, 2012)
- 5 Сокол А.А. Ячменное поле Дона. Ростов-на-Дону: Ростовское книж. изд-во, 1985. 109 с
- 6 Chand, N., S.R. Vishwakarma, O.P. Verma and M. Kumar, 2008. Phenotypic Stability of Elite Barley Lines over Heterogenous Environments. Barley Genetics News Letter, 38: 14-17.
- 7 Barley (Hordeum vulgare L.) Improvement Past, Present and Future/Nermin Gozukirmizi and Elif Karlik, [www.intechopen.com](http://www.intechopen.com)
- 8 Селекция и генетика ячменя лекции для самостоятельного изучения курсов:«Частная селекция и генетика полевых культур» Мичуринск – наукоград РФ 2008
- 9.Wedzony M., Foster B.P., Zur I., Golemiac E., Szechynska-Hebda M., Dubas E., Gotebiowska G. Progress in doubled haploid technology in higher plants // В кн.: Advanced in haploid production in higher plants / под ред. А.Тouraев, В.Р. Foster, Е.М. Jain. - SpringerScience + BusinessMedia B.V., 2009. – P. 1-35
- 10 Ferrie A.M.R., Caswell K.L. Isolated microspore culture techniques and recent progress for haploid and doubled haploid plant production // Plant Cell Tiss.Organ.Cult. – 2011. – V. 104. – P. 301–309
- 11 УДК 633.16:578 Культура изолированных микроспор в создании генетически однородных и стабильных дигаплоидных генотипов ячменя Б.М. Башабаева, А.Ж. Исмагул, А.И. Абугалиева, Б.Ш. Алимгазинова, Б.С. Сариев
- 12 Biotechnolog. Theory and Practice/ Биотхнология. Теория и Практика. 2015, pp.33-43 Уразалиев К.Р., УДК 631.111:57.085.23 Гаплоидные технологии в селекции растений
- 13 Niroula R.K., Bimb H.P. Overview of Wheat X Maize System of Crosses for Dihaploid Induction in Wheat. World Applied Sciences Journal, 2009, vol. 7(8), pp. 1037-1045
- 14 Seguí-Simarro J.M. Nuez F. How microspores transform into haploid embryos: changes associated with embryogenesis induction and microspore-derived embryogenesis // *Physiol Plantarum*. – 2008. – Vol. 134, №1. – P. 1-12.

15 Rubtsova M., Gnad H., Melzer M., Weyen J., Gils M. The auxins centrophenoxine and 2,4-D differ in their effects on non-directly induced chromosome doubling in anther culture of wheat (*T. aestivum* L.) // *Plant Biotechnol Rep.* – 2012. – Vol. 7. – P. 247-255

16 .Basu S.K., Eudes F., Kovalchuk I. Role of *recA/RAD51* gene family in homologous recombination repair and genetic engineering of transgenic plants // *Applications of plant biotechnology: In vitro propagation, plant transformation and secondary metabolite production.* Chapter 12. ed. A. Kumar and S. Sopory. New Delhi, India: I.K. International Publishing Houst Pvt Ltd, 2010, pp. 231-255.

17 [www.intechopen.com/Haploids and Doubled Haploids in Plant Breeding/](http://www.intechopen.com/Haploids_and_Doubled_Haploids_in_Plant_Breeding/) Jana Murovec and Borut Bohanec/ University of Ljubljana, Biotechnical Faculty Slovenia /2012

18 Исмагул А., Елибай С., Башабаева Б.М., Абугалиева А.И. Анализ методов гомозиготизации материала в селекции и разработка протоколов культуры изолированных микроспор казахстанских сортов пшеницы // *Вестник КазНУ, серия биологическая.* - 2012. - №2(54). - С. 17-23.

19 Т.И. Дитченко/Культура клеток, тканей и органов растений курс лекций//, Минск 2007.-С.102

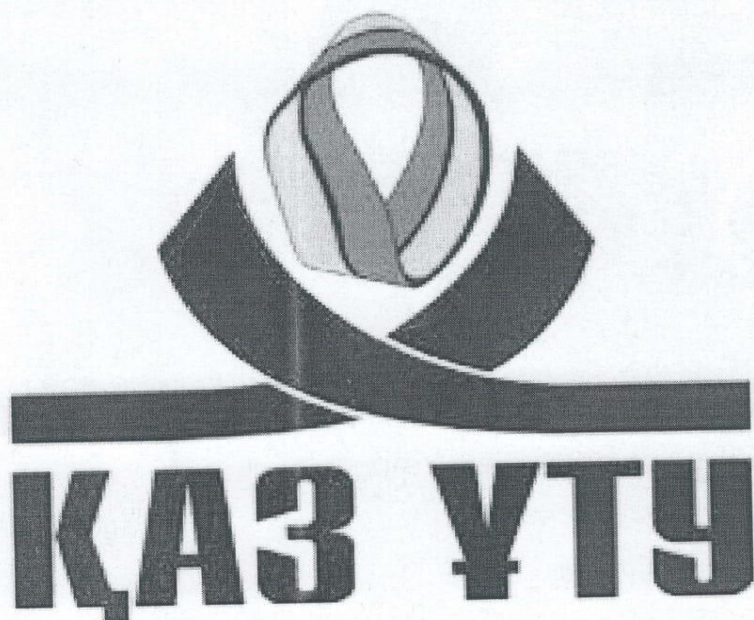
20 Бурлуцкий В.А. О биотехнологии гаплоидных систем //Сборник статей по материалам II Всероссийской научно-практической конференции «Биотехнология как инструмент сохранения биоразнообразия растительного мира», Волгоград, 2010. - С. 370.

21 УДК 573.6.086.83:633.31/37. А.А. Нуржанова, С.К. Турашева, С. Ораз, Ж.Е. Жумашева, К.А.Кашкеев. Сравнительная оценка морфогенетического потенциала различных гибридных линий ярового ячменя(*Hordeum vulgare*). *KazNU Bulletin. Biology series* No1/2 (60). 2014

22 Кулаева О.Н. Новейшие достижения и перспективы изучения механизма действия фитогормонов в сигнальных системах целого растения // *Вестник РФФИ.* – 2004.–№2.–Р. 12-26.

23 Джаксыбаева Г. Г., Султумбаева А. К. Д40 Культура тканей и биотехнология растений : учебное пособие / Г. Г. Джаксыбаева, А. К. Султумбаева. - Павлодар : Кереку, 2015. - 99 с.

## Краткий отчет



Университет:	Satbayev University
Название:	Оқшауланған арпа микроспора культурасы (Hordeum Vulgare L)
Автор:	Анарбек Нағима Жүрсінқызы
Координатор:	Бакытжан Анапияев
Дата отчета:	2019-04-22 07:16:24
Коэффициент подобия № 1: ?	<b>6,2%</b>
Коэффициент подобия № 2: ?	<b>1,5%</b>
Длина фразы для коэффициента подобия № 2: ?	<b>25</b>
Количество слов:	5 744
Число знаков:	45 390
Адреса пропущенные при проверке:	
Количество завершенных проверок: ?	8

[>>](#) Самые длинные фрагменты, определенные, как подобные

[>>](#) Документы, в которых найдено подобные фрагменты: из RefBooks i