

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ БІЛІМ ЖӘНЕ ҒЫЛЫМ МИНИСТРЛІГІ

Қ.И.Сәтбаев атындағы Қазақ Ұлттық Техникалық Зерттеу университеті

Химиялық және биологиялық технологиялар институты

«Биотехнология» кафедрасы

Маханова Салтанат Успановна

Бидай (*Triticum aestivum* L.) дақылының гаплоидтық биотехнологиясы

ДИПЛОМДЫҚ ЖҰМЫС

5B070100 – «Биотехнология» мамандығы

Алматы 2019

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ БІЛІМ ЖӘНЕ ҒЫЛЫМ МИНИСТРЛІГІ

Қ.И.Сәтбаев атындағы Қазақ Ұлттық Техникалық Зерттеу университеті

Химиялық және биологиялық технологиялар институты

«Биотехнология» кафедрасы



ҚОРҒАУҒА ЖІБЕРІЛДІ

Биотехнология кафедра
менеджері, PhD, профессор

З.К. Туйебахова

«06» Мамыр 2019 ж.

ДИПЛОМДЫҚ ЖҰМЫС

Тақырыбы: «Бидай (*Triticum aestivum* L.) дақылының гаплоидтық биотехнологиясы»

5B070100 – «Биотехнология» мамандығы бойынша

Орындаған

Маханова С.У.

Ғылыми жетекші

б.ғ.д. профессор

Б.Б. Анапияев

«06» 05 2019 ж.

Алматы 2019

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ БІЛІМ ЖӘНЕ ҒЫЛЫМ МИНИСТРЛІГІ

Қ.И.Сәтбаев атындағы Қазақ Ұлттық Техникалық Зерттеу университеті

Химиялық және биологиялық технологиялар институты

«Биотехнология» кафедрасы

5B070100 – «Биотехнология»



БЕКІТЕМІН

Биотехнология кафедрасы

менгерушісі, PhD, профессор

З.К. Туйебахова

Мамыр 2019 ж.

**Дипломдық жұмыс орындауға
ТАПСЫРМА**

Білім алушы Маханова Салтанат Успановна

Тақырыбы Бидай (*Triticum aestivum* L.) дақылының гаплоидтық биотехнологиясы

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

Аяқталған жұмысты тапсыру мерзімі «22» 04. 2019 ж.

Дипломдық жұмыстың бастапқы берілістері Диплом алды өнеркәсіптік практикадан алынған материалдар

Дипломдық жобада қарастырылатын мәселелер тізімі:

а) Бидайдың (*Triticum aestivum* L.) оқшауланған культурасында эмбриоидогенез процессінің жиілігіне әсер ететін факторларды зерттеу.

ә) Бидайдың (*Triticum aestivum* L.) оқшауланған микроспора культурасында андроклиндік құрылымдар алу.

б) Бидайдың оқшауланған микроспора культурасында эмбриоидтардың түзілу жиілігіне генотиптің әсерін зерттеу.

Ұсынылатын негізгі әдебиет: 22 амау

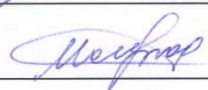
Дипломдық жұмысты дайындау
КЕСТЕСІ

Бөлімдер атауы, қарастырылатын мәселелер тізімі	Ғылыми жетекші мен кеңесшілерге көрсету мерзімдері	Ескерту
Әдеби шолу	Қаңтар	
Материалдар мен әдістер	Ақпан	
Зерттеу қорытындылары: зертханалық жұмыстар	Наурыз	

Дипломдық жұмыс бөлімдерінің кеңесшілері мен
норма бақылаушының аяқталған жұмысқа қойған
қолтанбалары

Бөлімдер атауы	Кеңесші, аты, әкесінің аты, тегі (ғылыми дәрежесі, атағы)	Қол қойылған күні	Қолы
Норма бақылаушы	Ғылым магистрі Тұрғымбаева Қ.Қ.	22.04.2019	

Ғылыми жетекші _____  Б.Б. Анапияев

Тапсырманы орындауға алған білім алушы _____  С.У. Маханова

Күні «06» 05 _____ 2019 ж.

АНДАТПА

«Бидай (*Triticum aestivum* L.) дақылының гаплоидтық биотехнологиясы» атты дипломдық жұмыстың көлемі қағаз түрінде 35 беттен, кіріспеден, 3 бөлімнен, 11 суреттен, 3 кестеден, қорытынды бөлімнен, 22 пайдаланылған әдебиеттер тізімінен тұрады.

Түйін сөздер: *Triticum aestivum* L, гаплоидтық технология, тозандар, андрогенез, жұмсақ, жаздық бидай.

Зерттеу жұмысының өзектілігі: Бидай (*Triticum aestivum* L.) дақылының гаплоидтық биотехнологиясын зерттеу, тозандықтардың сипаттамасы, гаплоидтық технологияның маңызды әдістері және қоректік орталар бойынша құрамы және осы саладағы соңғы жаңалықтардың қысқаша шолуын ұсынады. Осыған байланысты жаздық жұмсақ бидайдың (*Triticum aestivum* L.) оқшауланған микроспора культурасында эмбриоидогенез процессінің жиілігіне әсер ететін факторларды зерттеуге арналған біздің зерттеуіміздің тақырыбы өте өзекті.

Жұмыстың алға қойған міндеттері:

1. Бидайдың (*Triticum aestivum* L.) оқшауланған культурасында эмбриои – догенез процессінің жиілігіне әсер ететін факторларды зерттеу.
2. Бидайдың (*Triticum aestivum* L.) оқшауланған микроспора культура – сында андроклиндік құрылымдар алу.
3. Бидайдың оқшауланған микроспора культурасында эмбриондардың түзілу жиілігіне генотиптің әсерін зерттеу

АННОТАЦИЯ

«Гаплоидная биотехнология пшеницы (*Triticum aestivum* L.)» объем дипломной работы в бумажном виде состоит из 35 страниц, введения, 3 разделов, 11 рисунков, 3 таблиц, заключительной части, 22 списка использованной литературы.

Ключевые слова: *Triticum aestivum* L, гаплоидная технология, пыльник, андрогенез, мягкая, яровая пшеница.

Актуальность исследовательской работы: пшеница (*Triticum aestivum* L.) исследование гаплоидной биотехнологии культуры, описание пыльника, содержание по важнейшим методам гаплоидной технологии и питательным средам и краткий обзор последних новостей в этой области. В связи с этим Яровая мягкая пшеница (*Triticum aestivum* L.) тема нашего исследования очень актуальна для исследования факторов, влияющих на частоту процесса эмбриогенеза в культуре изолированной микроспоры.

Задачи работы:

1. Общие положения Пшеница (*Triticum aestivum* L.) исследование факторов, влияющих на частоту процесса эмбриогенеза в изолированной культуре.
2. Пшеница (*Triticum aestivum* L.) получение андроклиновых структур в изолированной микроскопической культуре.
3. Исследование влияния генотипа на частоту образования эмбрионов в культуре изолированной микроспоры пшеницы.

ANNOTATION

"Haploid biotechnology of wheat (*Triticum aestivum* L.)" the volume of the thesis in paper form consists of 35 pages, introduction, 3 sections, 11 pictures, 3 tables, the final part, 22 references.

Key words: *Triticum aestivum* L, haploid technology, anther, androgenesis, soft, spring wheat.

Relevance of the research: wheat (*Triticum aestivum* L.) study of haploid biotechnology culture, description of anthers, the content of the most important methods of haploid technology and culture media and a brief overview of the latest news in this area. In this regard, spring soft wheat (*Triticum aestivum* L.) is the topic of our research is very relevant for the study of the factors influencing the frequency of process embryogenesis in the culture of isolated microspores.

Work tasks:

1. Provisions common Wheat (*Triticum aestivum* L.) study of factors influencing the frequency of process embriogeneza in an isolated culture.

2. Wheat (*Triticum aestivum* L.) receiving androclinic structures in isolated microscopic culture.

3. The influence of genotype on the frequency of formation of embryoids in the culture of isolated microspores of wheat.

МАЗМҰНЫ

Кіріспе	9
1 Әдебиетке шолу	10
1.1 Өсімдік клеткаларын in vitro өсіру	10
1.2 Бидай (<i>Triticum aestivum</i> L.) дақылының морфологиясы және пайдасы мен маңызы	11
1.3 Бидай (<i>Triticum aestivum</i> L.) дақылының гаплоидтық биотехнологиясы	12
1.4 Аталық гаметофиттерден клеткалар культурасыннан гаплоидтарды алу	15
1.5 Донорлы өсімдіктердің өсу жағдайлары	16
1.6 Оқшауланған аталық гаметофит культурасындағы клеткалық бөлінудің ерекшеліктері	16
2 Зерттеу материалдары мен әдістері	20
2.1 Каллус пен эмбрионид үшін қоректік ортаның құрамы	20
2.2 Бидайдың дигаплоидтарын алудың сызба-нұсқасы	25
2.3 Қоректік орта дайындау	26
3 Зерттеу нәтижелері	28
3.1 Бидай (<i>Triticum aestivum</i> L.) гибридтерінің оқшауланған тозаңдары дақылының құрғақшылыққа төзімділік белгілері бар жаздық себу	28
3.2 LR 24. генінің негізгі көзі бар сорттар мен гибридтердің оқшауланған микроспораларының жаздық жұмсақ бидай дақылы	29
Қорытынды	33
Пайдаланылған әдебиеттер тізімі	34

КІРІСПЕ

Гаплоидтық өсімдіктер практикалық селекция мен теориялық зерттеу – лерде қолданылатын өте құнды генетикалық материал болып табылады. Гаплоидтарды пайдаланып, яғни хромосомалар санын екі есе арттырып, гомозиготаларды жылдам алуымызға болады. Гомозиготалық өсімдіктерді тұқым арқылы көбейткенде, ұрығындағы белгілер ажырамайды, сол себепті бұл экономикалық жағынан тиімді болып келеді.

Гаплоидты клеткаларды алудың қайнар көзі ретінде репродуктивті культураның клеткалары көптеген елдердің селекциялық - генетикалық жұмыс – тарында кең қолданылады. Мысалы: Қытай елінде гаплоидты технологияны пайдалану арқылы күріш пен бидайдың жаңа сорты жасалынды. Ал, Францияда күзгі бидайдың жұмсақ сорты алынды және де Украинада арпаның бірінші сорты шықты. [1]

Алғашқы гаплоидты өсімдікті 1922 жылы А.Ф. Блексли тәжірибелі түрде *Datura Stramonium* – алды. Бұл гаплоидия саласында өсімдіктер селекциясында практика жүзінде қолдануға болатындығын көрсетті. Осы жылдары гаплоид – тардан гомозиготалы диплоидты диния алуға болатындығы туралы айтылған. Кейіннен Р.А. Моррисон томаттың гомозиготалы линиясын алды. Осылайша теориялық болжамның дұрыстығы тәжірибеде дәлелденді. [2]

Өзектілігі: Қазақстан бидай өндіруші елдердің алдыңғы ондығына кіреді, осыған байланысты жоғары өнімді және қоршаған ортаның абиотикалық және абиотикалық факторларына төзімді сорттар шығару бойынша зерттеулерді қар – қынды жүргізу керек. Селекционерлерге калассикалық әдістерді қолданып жаңа сорттарды шығару үшін 12-15 жыл қажет. Бұл ұзақ мерзімді қысқарту үшін биотехнологиялық әдістер қолданылады. Селекциялық процесті қысқартып аз мерзімде геретозиготалы бағалы будандардан гомозиготалы линиялар алуы үшін гаплоидтты биотехнология қолданылады.

Осыған байланысты жаздық жұмсақ бидайдың (*Triticum aestivum* L.) оқшауланған микроспора культурасында эмбриоидогенез процессінің жиілігіне ісер ететін факторларды зерттеуге арналған біздің зерттеуіміздің тақырыбы өте өзекті.

Жұмыстың мақсаты: Бидайдың (*Triticum aestivum* L.) оқшауланған микроспора культурасында эмбриоидогенез процессінің жиілігіне әсер ететін факторларды зерттеу.

Жұмыстың міндеті:

1. Бидайдың (*Triticum aestivum* L.) оқшауланған культурасында эмбриои – догенез процессінің жиілігіне ісер ететін факторларды зерттеу;
2. Бидайдың (*Triticum aestivum* L.) оқшауланған микроспора культурасын – да андроклиндік құрылымдар алу;
3. Бидайдың оқшауланған микроспора культурасында эмбриондардың түзілу жиілігіне генотиптің әсерін зерттеу;

1 Әдебиетке шолу

1.1 Өсімдік клеткаларын *in vitro* өсіру

Клеткаларды *in vitro* өсіру деген ұғымға өсімдіктен бөлініп алынған клет – каларды, ұлпаларды, мүшелерді коректік ортада заласыздандырылған жағдайда өсіру болып табылады. Өсімдік клеткаларын *in vitro* жағдайында нәтижелі өсіру жұмыстарын XX ғасырдың 30-шы жылдары Ф. Уайт пен Р.Готре бастап еді. Өсімдіктің тірі клеткасы лайықты коректік ортада өзіне тән тотипатенттік қасиетін көрсетеді, өсімдіктің бөлігін эксплант деп атайды. *In vitro* жағдайында пайда болған өркені мен тамыры жетілген өсімдікті регенерант деп аталады.

Тотипатенттілік деген –клетканың өзіне тән генетикалық потенциялын толық жүзеге асыру қасиеті. Тотипатенттілік қасиет туралы гипотеза белгілі ғалым Г.Габерландтың есімімен байланысты және бұл тәжірибені алғашқы рет 1902 жылы Габерлант жүргізді, ал 1930 жылы Уайт оқшауланған тамырларды жасанды ортада өсіріп, олардың дамуын байқады. Осы әдіспен сәбіз тамырынан бөліп алған бөліктерді жасанды стирильді ортада жетілдіру арқылы каллус ұлпасы өсірілді. Каллус тек біріңғай паренхима клеткаларынан тұрады. Бұл факторлардың әсерімен каллус дифференциацияланып, одан әрі түрлі тканьдер пайда болады. Каллусты өсіру арқылы клеткалардың өсуіне, дамуына қажетті коректік заттар, витаминдер мен гармондардың әсерлері зерттеледі.[3]

Андроклиния – *in vitro* оқшауланған тозаңдықтар культураның спорогенді клеткадан гаплоидты регенерант өсімдіктердің қалыптасу процессі. Тоzaңдықтың спорогенді клеткалары *in vitro* жағдайында өздерінің морфогенетикалық потенциясын толық көрсете алатындығы анықталды. Сонымен қатар, бақыланған жағдай бұл процессті басқаруға мүмкіндік береді, әрі өсімдік дамуының ерекше жүйесі ретінде қарастырылады.

Каллус – клетканың ретсіз бөлінуі нәтижесінде пайда болған ұлпаның ерекше түрі. Кез келген өсімдіктің клеткасының нақтылы бір жағдайда өсіп, дамып бүтін өсімдікке айналу қабілеті бар. Бұл тотипотенттік қасиет деп аталады. Тотипотенттік тек өсімдіктерге ғана тән, ал жануарларда мүлдем байқалмайды.

Клеткалардан ферменттердің әсерімен протопластарды бөліп алу және оларды өсіру әдісі елеулі бір тарихи кезең болды. Себебі протопластарды өсіру өсімдіктер биотехнологиясының клеткалық және гендік инженериясы деген маңызды бағыттардың негізін қалады. Биотехнология биологиялық процестер мен объектілерді пайдалануға негізделген, экономикалық және экологиялық жағынан тиімді де маңызды заттарды өндіру және жоғары өнімділігі бар организмдерді шығаратын ғылыммен өндірістің жаңа бағыты болып саналады. Өсімдік биотехнологиясы жалпы биотехнологияның күрделі бір саласы. Оның негізінде өсімдік клеткаларын жасанды коректік ортада өсіру әдістері жатады. [4]. XIX ғасырда өсімдіктің бөлшектері мен жеке дара мүшелерін алғаш өсіре бастаған неміс ғалымдары К.Рехингер және Х.Фехтинг болатын. Өсімдік

клеткасын өсіру идеясы жануарлар физиологиясын зерттеп жүрген ғалымдардың назарын өзіне аударды. Клетка өсіруде айтарлықтай табысқа 1922 жылы Германияда В.Котте және АҚШ – та В.Роббинс қатар бір мезгілде 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. Осы ғылыми жаңалықты ашу арқасында Т.Мурасиге мен Ф.Скуг 1962 жылы өздерінің атақты қоректік ортасын дайындады.

In vitro жағдайында клеткаларды өсірудің негіздері мен әдістері

Клеткаларды өсіру үшін эксплантты, қоректік ортаны, құрал - жабдық – тарды, ыдыстарды алдын-ала автоклавта залалсыздандыру керек. Өсімдіктен эксплантты бөліп алуды және оны қоректік ортаға отырғызу жұмыстарын ламинар боксте жүргіземіз. Бұл бокстің ішіне фильтрден өткізіліп, микроор – ганизмдерден тазартылған ауа бәріліп тұрады және әртүрлі микробтардан және т.б. қорғайтын ультракүлгін шамы бар. Өсімдік клеткалары, ұлпалары мен мүшелері өсуіне қоректік ортадан басқа да жағдайлар әсер етеді. Клетканың өсуіне әсер ететін сыртқы факторлардың бірі – жарық болып табылады. Жалпы *in vitro* өсірілетін өсімдік клеткасында жасыл пигмент хлорофил түзілмейді. Сондықтан 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 да ескеру керек. Жоғары осмос қысымы клетканың қоректік заттарды сіңіруін қиындатады. Ор – таның осмос қысымын қалыпты күйде сақтау, әсіресе протопластарды бөліп алғанда және оларды өсіргенде өте маңызды. Осмос қысымын реттейтін заттың концентрациясы өсімдіктің түріне және физиологиялық күйіне байланысты жеке іріктеліп алынады. [5]

1.2 Бидай (*Triticum aestivum* L.) дақылының морфологиясы және пай – дасы мен маңызы

Жұмсақ күздік бидай (*Triticum aestivum* L.) – бидай түрі кәдімгі, жұмсақ. Дәнінің формасы жұмыртқа тәрізді, ұрыққа қарама-қарсы жағында анық көрінетін айдары болады, хромосома саны $2n=42$. Биіктігі 60-180 см бір жылдық шөп текті өсімдік. Ұрық, колеоптиль және түйін тамырлары бар. Ұрық тамырлары тұқым өскен кезде пайда болады, шоғырды - жер асты колеопталь торабынан. Жеткілікті ылғалдану жағдайында қанығу қарқынды, сондай-ақ құрғақшылық пен әлсіз аязға төзімділіктің әсері соғұрлым күшті болады. Гүл шоғы-күрделі масақ. Ол өзекше мен колоскадан тұрады. Әрбір масақ 2 масақ және 3-4 гүл бар. Колоскадағы дамыған гүлдердің саны 5-6-ға жетуі мүмкін. Ең дамыған масақтар масақтың ортасынан сәл төмен орналасқан. Салмағы 1000 дән 20-50 дейін 70 г. Орташа жылы ауа райы жағдайында масақтың гүлдеуі 3-4 күн

созылады. Жұмсақ бидайдың отаны Закавказье, Түркия, Иран, Ирак, Сирия, Түрікменстанда біздің дәуірге дейінгі 7 – 6 мыңжылдықтан бастап, Батыс Еуропа елдерінде – біздің дәуірге дейінгі 6 – 2 мыңжылдықтан бастап, Солтүстік Кав – казда – біздің дәуірге дейінгі 1 мыңжылдықтан бастап, Белоруссия мен Балтық жағалауы аумағында – біздің дәуіріміздің 4 – 5 ғасырынан бастап таралған. Оң – түстік Америкаға 1528 жылы, АҚШ аумағына 1602 жылы интродукцияланған, Канадада оны 1802 жылдан, ал Австралияда – 1788 жылдан бастап өсіреді. Ареал әлемнің барлық егіншілік аудандарын қамтиды. Ресейде күздік жұмсақ бидай барлық жерде (алаңдардың үштен бір бөлігі), Солтүстік Кавказда және қара топырақты облыстарда ең үлкен алқаптар өсіріледі. Негізінен, нанн пісіруге арналған ұн тарту үшін пайдаланылады және 14% ылғалдықта сақтайды. Жаздық *Triticum aestivum* бидайының (қатты дәнді, қызыл дәнді) *Ақмола 2, Астана 2, Әлем, Алтай, Жеңіс, Казахстанская 15, карагандинская 22, 70, Кабалыкская 90, Омская 18, 19, 24, 29, Саратовская 29, Шортандинская 95* сорттары наубай – ханалық бағытта пайдаланылады.[6]

Қазақстандық генетика (селекция) саласындағы ғалымдар республиканың күрделі экологиялық жағдайларына бейімделген жаздық және күздік бидайдың жұмсақ және қатты сорттарын, арпаны және т.б. дақылдарды сұрыптау бағы – тында тиімді жұмыстар жасап келеді. Еліміздің белгілі селекционерлері Л.В. Пименова, Н.Л. Удольская, еңбектері Р.А. Уразалиев, О. Шегебаев, Б.С. Сариев, К.К. Шулембаева, А.А. Грязнов және т.б. генетико-селекциялық ізденістерінде жалғасын тапты. Республикадағы дәнді дақылдардың өнімін арттыруда физио – логия ғылымының үлесі мол. Бұл салада астық тұқымдас дақылдардың эколо – гиялық тұрақтылығы мен төзімділігінің физиологиялық ерекшеліктерін зерттеген және нәтижелері практикаға енгізілген Ф.А. Полимбетова мен Л.К. Мамоновтың ғылыми еңбектерін атау керек.

Селекциялық материалдың сапасын бақылаудың биохимиялық әдістерін, сондай-ақ, дән сапасының маңызды қасиеттерін биохимиялық тұрғыдан болжау әдістерін жасауда Ю.В. Перуанский, Г.М. Морунова, Б.Т. Надиров, А.И. Абугалиева бағалы үлестерін қосты десек болады. Республикада, көптен бері селекциялық ізденістерді жылдамдату еліміздегі өсімдіктер генофондын қорғау, сақтау мақсаттарында астық дақылдарының биотехнологиясы бойынша зерттеулер И.Р.Рахимбаевтың жетекшілігімен жүргізілуде.[7]

1.3 Бидай (*Triticum aestivum* L.) дақылының гаплоидтық биотех – нологиясы

Бидай (*Triticum aestivum* L.) мемлекеттің азық - түлік қауіпсіздігін қамта – масыз ететін стратегиялық маңызды астық мәдениеті болып табылады. Қазақстан бидайды ірі импорттаушылардың ондығына кіреді. Сондықтан жаңа жоғары өнімді сорттар құруға ерекше көңіл бөлінеді. Астықтың пісу мерзімдері астық жинауды бастау үшін шешуші болып табылатыны жалпыға мәлім. Қазақстанның күрделі агроклиматтық жағдайында астық пісуінің кешірек

мерзімдері ауа райы күрт континентальды климатпен фермерлерді жаңбырлы және аязды маусымда жинауды бастауға мәжбүр етеді, бұл әрине, астық сапасының нашарлауына, егіннің жеткіліксіз болуына және сақталуының төмендеуіне әкеледі. Сондықтан тез пісу мерзімінен жоғары өнімді сорттарды құру егіншілік қаупі бар және климаты күрт континентальды елдер үшін өте өзекті болып табылады. Астықтың дамуы мен жетілу процестерін реттеу өсімдіктер физиологиясы, биохимиясы, эмбриология, генетика және селек – циясының іргелі мәселелерінің бірі болып табылады. Қазіргі уақытта ғалымдар жасушалардың бөліну процесіне әсер ететін гендерді қарқынды зерттеуде және астықтың даму және жетілу мерзімін жылдамдату үшін әртүрлі әдістерді әзірлеуде. Сондай-ақ өте өзекті болып дәнді дақылдардың *in vitro* микро – спорасындағы өсімдіктердің морфогенез және регенерация процестерін зерттеу болып табылады. Қазіргі уақытта *in vitro* бидайының микроспораларының даму процестері, эмбриоидогенез процестері, органогенез және өсімдіктердің морфо – генез және регенерация процестерін реттеу мәселелері қарқынды зерттеледі.

Гаплоиды жасушалық селекция және генетикалық инженерия үшін бірегей объектілер болып табылады. Гаплоидтерді пайдаланудың экономикалық тиімділігі перспективалы гибридтерден және бағалы генетикалық материал – дардан, оның ішінде бағалы мутанттардан генетикалық тұрақты гомозиготалық желілерді жедел жасау мүмкіндігі болып табылады. Әдетте перспективалы будандар мен бағалы нысандарды генетикалық тұрақтандыру үшін дәстүрлі селекция әдістерін пайдалану кезінде 6 – 8 жыл талап етіледі. Гаплоидтік биотехнологияны пайдалану 1 – 2 жыл ішінде генетикалық тұрақтандырылған, гомозиготикалық константалық дигаплоидтік желілерді құруға мүмкіндік береді. Сондай-ақ, алынған дигаплоидтік сызықтарда рецессивті гендер пайда болады, олардың көпшілігі құнды белгілер болуы мүмкін. Әдетте, селекцияның дәстүрлі әдістерін қолданған кезде доминантты және рецессивті гендер Менделдің (3:1) заңы бойынша ыдырайды және сондықтан көрінбейді.

Генетикалық тұрақтандыру үшін гаплоид биотехнологиясын пайдалану кезінде доминантты және рецессивті гендер 1:1 пропорциясына бөлінеді және бекітіледі. Бұл гаплоидті биотехнологияның өте маңызды артықшылығы болып табылады, себебі экспрессироваться мүмкіндік береді.

Әртүрлі пісу мерзімі бар бидайдың мутанттық түрлерін жасадық, тез пісу мерзімі бар бидайдың іріктелген үлгілерін генетикалық тұрақтандыру үшін *in vitro* оқшауланған микроспораның мәдениеті негізінде гаплоидті биотехнология әдістерін пайдалануда.[8]

Гаплоидия – кариотиптегі хромосомалардың санының екі есе азаюы. Гаплоидтық организмнің сомалық жасушаларында сыңар хромосомалар жиынтығы (n) болады, яғни толық жиынтықтың теңжартысына тең ($2n$). Гап – лloidтарды дағдылы селекция әдістерімен шығару (түрішілік және тұраралық тозаңдану, рентген сәулесін түсіру және басқа стресс факторлармен ықпал ету) оңай емес және көп уақытты қажет етеді, ал аталық және аналықгаметофиттерді *in vitro* жағдайында өсіріп гаплоидтарды тез шығарып, селекция процесін жеңілдетуімізге болады. Бұл әдістер апомиксис процесіне негізделген яғни

апомиксис – организмнің жыныссыз жолмен көбеюі. Аталық гаметофитті (тозаң мен тозаңқаптар) *in vitro* жағдайында өсіріп, гаплоидтық өсімдіктерді алу андрогенез деп аталса, ал аналық гаметофитті (ұрық бүршіктер) өсіру арқылы гаплоидтық өсімдік алу гиногенез деп аталады. Андрогенді гаплоидтар деп – жұмыртқа клеткасынан немесе ұрықтық клеткасының басқа бір клеткасынан дамыған, бірақ өзінің хромосомасы спермия әкелген хромосомамен ығыстырылған өсімдікті айтады. Мұндай гаплоидтардың екі жақты табиғаты болады. Цитоплазмасы аналық дарақтан, ал ядросы аталық дарақтан, осындай гаплоидтарды алшақ гибридизация кезінде алуға болады. Андроклинді гап – лloidтар деп – аталық гаметофит клеткасынан (тозаң дәнінен) дамыған және цитоплазмасы мен ядросы аталық дарақтан болатын өсімдіктерді атайды. Осындай гаплоидтардың регенерациясы аталық гаметафитті *in vitro* жағдайында өсіру кезінде жүреді.

Гаплоид фенотипі мынадай ерекшеліктерге ие:

- оларда рецессивті гендер бар;
- гаплоидті организмдер диплоидтан азырақ, себебі олардың жасушалары гендер дозасын азайту салдарынан аз мөлшерде болады;
- гаплоидтер дерлік бедеулік, өйткені хромосомалар гомологтар жоқ, және мейоз процесінде теңгерілмеген гаметалар пайда болады. Сирек жағдайларда сирек кездесетін гаплоидтық хромосом жиынтығы бар гаметалар қалыптасуы мүмкін.

Өсімдіктерде мұндай гаметалардың өзін-өзі тозаңдандыру процесінде немесе жасанды полиплоидизация кезінде бірігуі барлық гендер бойынша диплоидтық гомозиготаны береді, бұл белгілі бір селекциялық міндеттерді шешу үшін өте құнды. Бірінші рет сасық мендуана тозаңқаптарын *in vitro* жағдайында өсіріп, Үндістанда С.Гуха мен С.Махешвари 1964 жылы гаплоидтық өсімдік алды. Содан кейін осы тәжірибені француз ғалымы К.Нич 1967 жылы темекінің тозаңқаптарын өсіріп қайталады. Содан бері гаплоидтық әдіспен 200 – ден астам өсімдік түрлері алынған, соның ішінде бидай, арпа, қара бидай, күріш, картоп, рапс және т.б. ауылшаруашылық дақылдары.

In vitro жағдайында аталық гаметофиттен гаплоидтық спорофиттің шығуы – өте күрделі, әлі толығымен анықталмаған процесс. Тозаңқаптарды микроспо – ралардан каллус немесе эмбриондар қалыптасып, кейін олардан гаплоидтық регенерант өсімдіктері шығады. Ол үшін микроспоралар *in vitro* жағдайында дамудың өте күрделі процесінен өтеді. Ал бұл процестің түрткі болар себепкер – лері мен реттеушілері әлі белгісіз. *In vitro* жағдайында микроспора әдеттегі гаметофиттік даму жүйесінің кез-келген фазасынан ауытқып кетіп, спорофиттік даму жолына түсуі мүмкін. Микроспоралардың *in vitro* жағдайында дамуы және гаплоидтық регенерант өсімдіктердің пайда болуы. Микроспоралардың *in vitro* жағдайында дамуы бірнеше жолмен қамтамасыз етілуі мүмкін. Бірлі-жарымы гаметофиттік даму жолынан ауысып эмбрионды түзеді. Басқалары дедифференцияланып, каллусқа айналады. Тағы біреулері микроспорогенез бен гаметогенез жолын жалғастырады, яғни пісіп жетілген тозаңға айналады. Ал тағы бір тобы біртіндеп ыдырап құриды.[9]

1.4 Аталық гаметофиттерден клеткалар культурасынан гаплоид – тарды алу

Аталық гаметофит жағдайында екі еселенген гаплоидтарды алу технологиясы біршама қарапайым. Өсімдіктерді жылыжайда немесе далалық жағдайда бір ядролы микроспора стадиясына дейін өсіреді. Содан соң гүлшоғырларын жинап алады да аз уақытқа төмендетілген оң температурада сақтайды. Сосын асептикалық жағдайда гүлден тозаңқаптарды оқшаулап, алдын-ала дайындалған біріншілік қоректік ортаға егеді. Бірнеше тәуліктен соң отырғызылған тозаңқаптан көзге көрінетін жаңадан пайда болған соң түзілістер пайда болады.[10]

Тозаңқаптарды өсіру құрылымының әртүрлі типінің қалыптасуына әкеледі: глобула, эмбриодтар, полиэмбриоидтар, морфогенді және морфогенді емес каллустар. Шар тәрізді эмбриоид зиготалы эмбриогенезге тән барлық сатыларын: жүректәрізді, торпедотәрізді және дән жарғақты өткізеді. [11]

Эмбриоидтардан өсімдіктердің тікелей жүруі немесе олар дедифференцияланып, каллус қалыптасуы мүмкін. Глобулярлы құрылымдар дедифференцияланған айнасы жоқ клеткалардың шар тәрізді тығыз шоғыр – лануы. Ары қарай глобула ұлпасы өледі немесе кей кезері каллусқа айналады. Дәнді дақылдардың тозаңқаптарын өсіруде негізінен 2 типті каллустың қалып – тасуы жүреді. 1 – гетерогенді клеткалардың ұйымдаспаған массасынан тұрады; 2 – дифференцировка мен регенерацияға компетентті меристемалық клеткалар – дан тұрады.

Органогенез процесін жүргізу үшін эмбриоидтар мен каллустарды арнайы құрамды қоректік ортаға көшіру қажет. Мұнда өсімдіктер регенерациясы жүреді. Мұндай өсімдіктерде әдетте хромосома саны гаплоидты болып келеді. сондықтан осындай өсімдіктердің дамуының белгілі бір сатысында диплоидты ұрықты материал алу үшін хромосомалардың санын екі еселеу процедурасын жүргізеді. Содан соң пробиркалы өсімдікті топыраққа ауыстырып, олардың дәндерін жетілдіреді. Өсімдіктердің әр түрінің өзіне тән ерекшеліктерін ескере отырып, каллусогенез бен эмбриогенез индукциялау жағдайлары мен өсімдік регенерациясына жеке-жеке технологиялық параметрлерді қолдануды қажет етеді.[12]

Пыльниктерді өсіру процесі *in vitro* спорофитті морфогенезінің екі жолы – эмбриоидогенез және каллусогенезді көпклеткалы құрылымның қалыптасу кезеңі арқылы басты клеткадан таралады.

Андрогенездің басты клеткасы – даму кезеңіндегі спорогенді клетка. Пыльниктерді инокуляциялау үшін қолайлы спорогенді клетканың даму кезеңі көбінесе астық тұқымдастары мен басқа тұқымдастар өкілдерінің оқшауланған тозаңдықтарын өсіру ж анықтайды. Микроспоралар мен тозаңдық дәндер *in vitro* жағдайына морфогенді «терезе» шегінде – шектеулі уақыт аралығында, яғни, белгілі сыртқы факторлар тозаңдық дифференциацияның гаметофитті жолын спорофиттіге "ауыстыру" барысында әсер етеді.

Тозаңқаптан алынған өсімдіктің ерекшелігі негізінен оның тікелей андро – генез немесе каллус ұлпасы арқылы пайда болғандығына байланысты. Тікелей андрогенез жолымен алынса, нағыз гаплоидті өсімдік шығады – $1n$, ал каллустан өсірілгенде, ди, три, тетраплоидтер, яғни $2n, 3n, 4n$, және т.б. эуплоидтер, анеу – плоидтер, сонымен қатар, басқа генетикалық өзгерістері бар өскіндер алынады

Жасушалардың полиплоидтылығы ядролардың қосылуы, хромосомалар – дың эндоредупликациясы, сандарының өзгеруі және микроспораның түзілуіне байланысты болуы мүмкін. Бұл жағдайда гаметоклоналдық варианттар деп аталатын өсімдіктер қалыптасады.

Көп жағдайда регенеранттар каллусогенез арқылы пайда болады. Мысалы: күріште, мұны жанама андрогенез дейді. Егер микроспорадан каллус ұлпасы қалыптасса, гаплоидті өсімдік алу күрделене түседі, себебі алдымен сабақ органогенезін қоздыру керек, кейін одан өркен түзілуі жылдамдатылады, бұл әрқашан бола бермейтін жағдай.[13]

1.5 Донорлы өсімдіктердің өсу жағдайлары

Андрогенездің индукциясы – өсімдік материалының өсу жағдайына тә – уелді. Жылдың маусымдық және климаттық, сонымен қатар фотопериоды циклы байқалған. Айқындалған тәуелділік өсімдіктің физиологиялық жағдайында көрінеді, ол қоршаған ортаның мына факторларына: температура, жарық, фотопериод, ылғалдылық және т.б. байланысты болады екен. Сондықтан, фи – зиологиялық факторлар өсу регуляторларының синтез, транспорт пен өсу қолай – лылығын қамтамасыз етсе, өсіру жағдайлары *in vitro* культурасында микроспора жетілуіне айтарлықтай әсер етеді.

Өсімдікті қысқа күн жағдайында өсіру эмбриогенді және абротивті тозандық дәнінің концентрацияларының артуына әкелуі мүмкін. Бұл тозандық культурасында каллус шығуының төмендеуінің себебі болып табылады.[12]

Н.В. Шерердің ойы бойынша детерминделген микроспораларының спо – рафитті даму индукциясы үшін табиғи жағдайға тән белгілі бір әсерлер қажет. Жылдың қолайсыз жағдайлары өсімдік регенеранттарының альбинизмін күшей – теді деп жорамалдайды.[14]

Біздің көзқарасымыз бойынша мұндай байланыстылық донорлы өсімдік – тердің әр түрлі биологиялық ерекшеліктерімен түсіндіріледі. Оларды ескере отырып әр генотип үшін қолайлы жағдай жасауға болады.[15]

1.6 Оқшауланған аталық гаметофит культурасындағы клеткалық бөлінудің ерекшеліктері

Аталық гаметофит археспориальді клеткалардың мейоздық бөліну нәтижесінде қалыптасады. Әр гаплоидты клетканың генетикалық жиынтығы аналық және аталық гендердің әр түрлі қатынасының арқасында өте ерекше

болуы мүмкін. Белгілі бір организмнің жыныс клеткаларының хромосом жиынтығы гаплоидті бола тұра, ал гендер құрамы жағынан гаметалар әр түрлі болғандықтан тұқымқуалаушылық қасиеті де әр түрлі болуы мүмкін.[16]

Гомологиялық хромосоманың конъюгациясы мен синапсисінен басқа мейоздың 1-ші бөлінуінің профазасында өте маңызды процесс – кроссинговер жүреді, ал ол рекомбинацияға әкеліп, оның нәтижесінде ұрпақтарда тұқым қуалайтын ауытқушылықтар болуы мүмкін. [17]

In vitro жағдайларындағы микроспоралар әр түрлі болады: 1) дамудың гаметофитті жолынан спорофитті жолға өтеді және эмбрионид қалыптастырады. 2) дедифференциацияланады және каллус қалыптастырады. 3) гаметогенез жолымен дамуды жалғастырады. 4) Микроспоралардың кейбіреулері дегенерацияланады және өледі. Оқшауланған тозандықтарды культураланған кезде бір ядролы микроспоралардың дамуының төрт негізгі жолдары бар деп болжайды:

1. Микроспора тек бөлінуі нәтижесіне спорофитті дамуға қабілетті екі ұқсас сіңлілі клеткалар қалыптасады. Бұл жағдайда вегетативті және генеративті клеткалардың қалыптасуы жүрмейді.

2. Микроспора тең емес бөліну нәтижесінде вегетативті және генеративті клеткаларды қалыптастырады. Спорофит вегетативті клеткалардың ары қарай дамуында қалыптаса отырып, генеративті клетка дегенерацияланады.

3. Микроспора тең емес бөліну нәтижесінде вегетативті және генеративті клеткалардың қалыптастырады. Спорофит тек генеративті клеткалардан қалыптасады.

4. Микроспора тең емес бөліну нәтижесінде вегетативті және генеративті клеткаларды қалыптастырады. Спорофит вегетативті де, генеративті де де клеткадан қалыптасады.

Осы жағдайлардың қайсысында болмасын спорофит (өсімдік - регенерант) тікелей эмбрионидогенез жолымен немесе каллустан органогенез жолмен алынады.

In vitro жағдайында культураланғанда ұрпақ клеткалар тағдыры аналық клетканың интерфазасында шешіледі деп есептеледі. Ары қарай, *in vitro* жағдайында микроспораның ерекше мүлдем басқа даму жолы индукцияланады.[18]

Қалыпты *in vivo* жағдайында, спорофиттен гаметофитке өту тек ядролы факторлармен ғана анықталып қоймайды, іс жүзінде бұл процесс генетикалық потенциалды жүзеге асыру болып табылады. Микроспоралардың аналық клеткалары мейоздық цитокинез басталмастан бұрын морфогенетикалық ақпарат алатын сияқты. Спорофитті клетка үшін мейоз процесі кезінде жүретін цитоплазма мен оның органеллаларының реорганизация маңызы спорофитті генерацияға тән ақпараттан арылу және клеткада гаметофитті генерация қызметіне дайындалу болып табылады. Органеллалардың дедифференциация редиференциация циклдері тек мейозға ғана тән емес тәрізді, оларды клетканың жаңа қалыпқа өту кезіндегі реорганизация процесінің қайсібірінің болмасын жағдайы ретінде қарастыру керек.[19]

In vitro культурасын өсіруде кейбір тозандарында қалыпты дифферен –

циациялық бөлінудің орынында тең немесе бірдей бөліну жүреді. Бұл кезде екі морфологиялық бірдей клетка пайда болады, ол көп жағдайда эмбриондық айналады. Осы жағдайда дұрыс дифференциялық қалыпты бөлінудің орынан бір ядролы микроспорасы интерфазасы кезінде ұрық даму бағдарламасына ауысады. Сол себептен генеративті де, вегетативті де клеткалар қалыптаспайды. Екі морфологиялық бірдей клетка пайда болып екеуі де эмбриондың қалыптасуына қатысады.

In vitro культурасында қоректік ортаға бір ядролық микроспораны өсіргенде әдеттегідей өзгеше бірдей емес бөліктерден тұратын дифференциялық бөліну байқалды. Осылай клеткалардан кейбіреулерінен эмбриондар дамыған. Мұндай эмбриогенез ағымында генеративті клетка бір немесе екі рет қана бөлінеді. Кейбір зерттемелер, егер микроспораның бөлінуінде вегетативті не – месе генеративті клетка түзілсе, онда бұл тозаң дәндерінен эмбриондар дамымайтынын көрсеткен, бірақ кейбір зерттеушілер, индукционды процесстер бірінші митоздан кейінгі процесттермен байланысты деп культураға ендірген көп жағдайда генеративті және вегетативті ядросы бар кәдімгі тозаң дәндері түзілген. Тек содан соң эмбриондар пайда болған. Осы кезде микроспоралар бірінші митоздық бөлінуден бірден екінші бөлінуге өтпейді, олар 5 – 6 күн созылатын лагфазаға өтеді. [18]

Жетілмеген тозаңын *in vitro* жағдайында дамытқан кезде микроспораның 80% дұрыс дамиды. Осы жағдайда жетілген тозаң түтігі ұрпақ клеткаларының бірінен құрылған. *In vitro* культурасында оқшаулап тозаңқаптарды өсіру процесстері спораның қалыпты гаметофиттік даму жолын тоқтатады және олардың аномальді дамуға өтуі нәтижесінде каллустан немесе эмбриондардан өсімдік алынады. Өзінің программасын жағдайға өзгерткен морфогенезге әкелетін каллустың массаның клетка саны барлық клеткалар популяциясының клетка саны мен салыстырғанда әлде қайда аз болып келеді. М.Х. Чайлахяның ойынша, морфогенезге өтуі үшін тек индуцирленген факторлардың болуы жеткілікті емес. Басқа керекті жағдай, клеткалардың әсер етуші жағдайларды қабылдауға дайындығы және даму программасын өзгерту жолымен дамуы яғни клетка «компетенттілігі» болып саналады. Сонымен микроспораның қалыпты гаметофитті жолымен дамудан ауытқуы және *in vitro* жағдайында спорофитті жолмен дамудан өтуін зерттеу даму циклінің екі фазасының ағымының гендер активтілігін реттелуі мен дифференциальды экспрессиясын анықтауға мүмкіндік береді.

Жоғарғы организмдердің даму процесі онтогенездегі дифференциальды гендер активтілік механизмін анықтау қазіргі биологияның бірінші тұрған фундаментальді мәселелерінің бірі болып табылады. Мүшелерде, тканьдерде, клеткаларда әр түр мен даму деңгейіне байланысты барлық гендердің те 5% ғана активті болады. Активті гендердің құрамына, түрге, мүшеге, сол тканьның тек белгілі жаста немесе ортаның өзгерісіне байланысты пайда болған гендер жатады. Осыған сүйенсек клетканың дифференциациясы және морфогенездің өзгеруі геннің активті регуляциясы мен ДНҚ жиілігінің әртүрлі бөлігінде ДНҚ өзгерістеріне тікелей байланысты жүреді. *In vitro* жағдайында клеткаға

индукторларды енгізуде (мысалы: гормондарды) немесе трансплантацияны зерттеуге, дамуы келесі дефференцирленген бөліну кезеңімен жүреді. Ядроға жаңа даму программасы қосылу нәтижесінде организмнің даму программасы жалғасады, осы кезде ядроға геннің активтілігін дифференциялаушы белгілі бір индукторлар әсерін тигізіп тұрады. Мұндай процесстер *in vitro*-да органогенез және эмбриоидогенез кезінде болады.

2 Зерттеу материалдары мен әдістері

2.1 Каллус пен эмбрионид үшін қоректік ортаның құрамы

Өсімдіктер тозаңдықтар культурасында морфогенді құрылымдардың қалыптасуын жоғарылату үшін минералды элементтердің, көмірсулардың, макро және микро тұздардың, органикалық қосылыстардың, гармондардың қолайлы концентрациялары мен қатынастарын жасау үшін әр түрлі қоректік орталар қолданылады. Олар: MC, Blaydes, N6, N6M, MCR, MCC және т.с.с.

Оқшаулан бидай микроспорасы мен тозаңдарына арналған қоректік орта құрамы 1 – ші кестедегідей болады: [20]

1 Кесте – Қоректік орта құрамы

Компо – ненттер	Құрамы	Қоректік орталар (мг/л)						
		MC	Blaydes	N ₆	N ₆ P	N ₆ M	MCR	MCC
Макро – тұздар	Ca(NO ₃) ₂	-	347	-	-	-	-	-
	KNO ₃	1900	1000	2830	2830	2830	1900	1900
	NH ₄ NO ₃	165	100	-	-	-	165	165
	(NH ₄) ₂ SO ₄	-	-	463	463	463	-	-
	MgSO ₄ 7H ₂ O	370	350	185	185	185	370	370
	CaCl ₂ 2H ₂ O	440	-	166	166	166	440	440
	KCl	-	65	-	-	-	-	-
Микро – тұздар	KH ₂ PO ₄	170	300	400	400	400	170	170
	MnSO ₄ H ₂ O	22,3	-	-	-	-	22,3	22,3
	MnSO ₄ 4H ₂ O	-	4,4	-	4,4	4,4	-	-
	KJ	0,83	0,80	0,80	0,80	0,80	0,83	0,83
	H ₃ BO ₃	6,20	1,60	-	1,60	1,60	6,20	6,20
	ZnSO ₄ 7H ₂ O	8,60	1,50	-	1,5	1,5	8,60	8,60
	CuSO ₄ 5H ₂ O	0,025	-	-	-	-	0,025	0,025
Fe-хелат	Na ₂ MoO ₄ 2H ₂ O	0,25	-	-	-	-	0,25	0,25
	FeSO ₄ 7H ₂ O	27,8	27,8	27,8	27,8	27,8	27,8	27,8
Вита- миндер	Na ₂ EDTA 2H ₂ O	37,3	37,3	37,3	37,3	37,3	37,3	37,3
	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. қ-лы	-	1,0	0,5	0,5	0,5	-	-
Амин – қыш-ры	Аскорбин.қ-лы	-	1,0	1,0	1,0	1,0	-	-
	Глицин	-	-	2,0	2,0	2,0	-	-
	Гистидин	-	-	-	20	100	-	-
	Глутамин	-	-	-	20	100	-	-
Гормон- дар	2,4-Д	1,0	0,5	1,0	1,0	1,0	-	2,0
	ИСК	-	-	-	-	-	0,5	-

1-Кестенің жалғасы

1	2	3	4	5	6	7	8	9
	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						

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



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



2 Сурет – (*Triticum aestivum* L.) дақылының тозаңқаптары

Негізгі бөліп алынған масақтарды суға және 4 – 7°C температурадағы тоңазытқышқа 3 – 25 күнге дейін салып, масақтарды салқындатамыз. Бөліп алынған масақ тозаңдарын, диацидоменен 10 минут немесе 75% этилді спиртмен 5 минут стерилденіп, 3 рет дистильденген сумен 1 минуттан шаямыз. Бидай тозаңдары мен модификацияланған микроспораларды қатты және сұйық ортаға отырғызуға МС, N₆, МСС, МСR, Blaydes қоректік орталары пайдаланылады. Мөлшері 16x150 мм, сыйымдылығы 5 мм пробиркаға оқ – шауланған тозаңдар мен микроспорларды, дайындалған қатты және сұйық қоректік ортаға орташа есеппен 15 – 20 тозаңнан отырғызамыз. Петри табак – шасының диаметрі 35 мм, дайындалған қоректік орта көлемі 1мл, осыған жуық шамамен 100 тозаң отырғызылады. Жекелеген тозаңқаптарды өсірген кезде олардың тозаңдарының қалыпты гаметофит арқылы даму жолы тежеліп, спорофиттік жолға көшкен кезде гаплоидтық өсімдік пайда болады.

Қазіргі кезде тозаңқаптан гаплоидті өсімдікті алу әдісі кеңінен қолданы – лып келеді. Тоzaңқап өсіндісінде микроспорадан эмбрионид құрылымы немесе каллус ұлпасы түзіледі. Эмбрионид құрылымын өсірген кезде хромосомала – рының жиынтығынан гаплоидты өскін алуға болады. Астық тұқымдастарда *in vitro* жағдайында андрогенезді индукциялау үшін микроспорогенездің кешіктірілген кезеңі қолайлы деген деректер әдебиеттерде кездеседі.



3 Сурет – Бидай (*Triticum aestivum* L.) дақылынан бөлініп алынған тозаңқаптар пробиркаға отырғызылған

Культурамен жұмыс жүргізу кезіндегі өсімдіктердің оқшауланған жасушалары мен тіндерін стерильдеу әдістері

Өсімдіктердің оқшауланған органдарын, тіндерін, жасушаларын және протопласттарын табысты өсіру шарттарының бірі қатаң стерильділікті сақтау

болып табылады, өйткені жасанды қоректік ортада микроорганизмдер жақсы дамиды, және бұл екі есе қауіпті. Біріншіден, микроорганизмдердің тіршілік әрекеті нәтижесінде қоректік ортаның құрамы айтарлықтай болып өзгеруі мүмкін, екіншіден, өсімдіктен оқшауланған тіндер, жасушалар және әсіресе протопласттар микроорганизмдермен оңай зақымданады.

Ламинар - боксты стерилизациялау. Ламинар – бокстар оқшауланды – рылған жасушалардың, ұлпалардың өсірінділерін және стерильділікті талап ететін жұмыстарға арналған құрылғы. Стерильді ауа бактериялық сүзгілердің көмегімен залалсыздандырады. Жұмыс басталмас бұрын 20 минутқа ламинар – бокстың ішкі көлемі ультракүлгін шамдармен сәулеленеді. Алдын ала ламинар – бокста спирт жанарғысын, 96% спирті бар фарфор стаканын, кол – баларды немесе шыныға қоректік ортасы бар түтіктерді орналастырамыз. 70% спиртпен сүртеміз және 20 минуттан соң УФ сәулені өшіреміз.

Ыдыстарды залалсыздандыру. Алдымен ыдысты детергенттерге немесе күкірт қышқылында екі хром қышқылды калий ерітіндісін пайдалана отырып мұқият жуамыз. Жуылған ыдысты тазартылған сумен шаямыз және кептіру шкафында кептіреміз. Ауадан зиянды заттарды жұқтырмау үшін стерилдеу алдында оларды арнайы қағазға ораймыз (стақандар мен колбаларда алюми – ний фольгамен тек мойнын ғана ораған жеткілікті болады). Содан кейін ыдысты кептіру шкафына салып, 160°C – қа 2 сағат бойы қыздырамыз (қажетті температураны орнатқан сәттен бастап). Осы уақыт ішінде бактериялар ғана емес, олардың споралары да өмірін тоқтатады. Одан да қатаң стерилизацияға автоклавтың қысымымен қол жеткізуге болады, себебі ыстық бу микроорга – низмдер мен спораларды ерітіп жібереді. Автоклаптау 25 – 30 мин ішінде 2 атм қысыммен жүргізіледі.

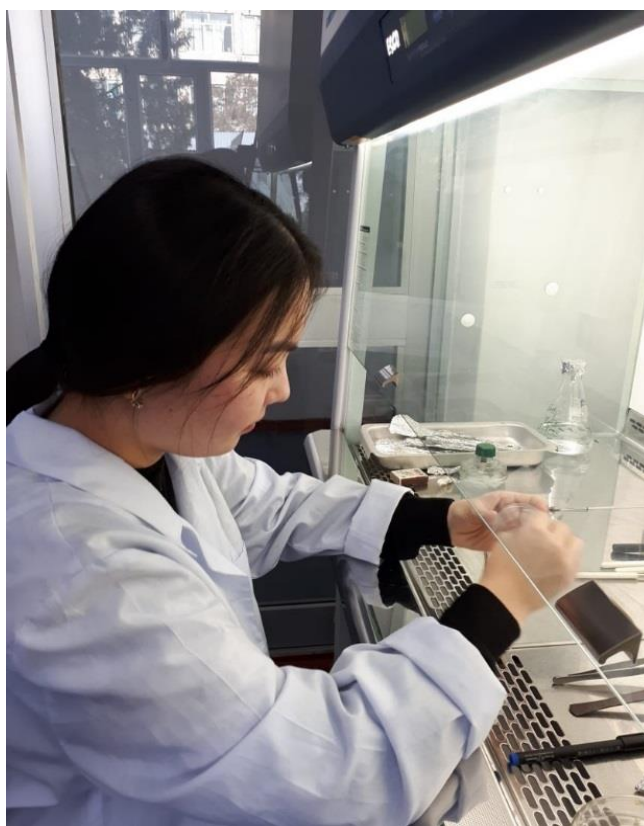
Құрал – жабдықтарды стерилизациялау. Құрал – жабдықтарды алдын ала стерилдеу (скальпельдер, пинцеттер, инелер және т. б.) 2 сағат аралығында кептіргіш шкафта құрғақ ыстық бумен 140°C қыздырамыз. Металл заттарды автоклаптауға болмайды: олар будың әсерінен тот басады. Жұмыс алдында және оның процесінде құрал - саймандар (пинцеттер, скальпельдер, микро – биологиялық ілмектер) тағы да ламинар - бокста стерильдейді, оларды 96% – этил спирті бар фарфор стаканға орналастырады және спиртовканың жалы – нында күйдіреді. Стерильді құрал тек бір реттік манипуляция үшін қолданылады. Қайта қолданар алдында оны қайтадан спиртпен залалсыздан – дыру және күйдіру керек.

Қоректік орталарды стерилизациялау. Құрамында термолабильді компоненттері жоқ қоректік ортаны стерильдеу яғни автоклаптау арқылы жүреді немесе бірнеше сағат аралықта екі рет қайнату жолымен стерильдейді. Қыздыруды шығармайтын органикалық сұйықтықтар бактериялардан боса – тылады, стерильді ұсақ кеуекті бактериялық жолмен өткізу кезінде сүзгілердің диаметрі 0,45 мкм болады.

Материалдар мен құрал - жабдықтар. Бидай тұқымы, ламинар - бокс, кептіру шкафы, МС қоректік ортасы бар пробиркалар, пинцеттер, скальпель – дер, 96% – дық және 70% – дық этил спирті, спиртовка, стерильді мақта, көлемі

200 – 300 мл колбалар, Петри табақшалары, 100 мл стақандар, дистилденген су, натрий гипохлориті, хлорамин және дезинфекциялық құралдар.

Өсімдік материалын стерилизациялау. Стерильді өсімдік материалын алу процесі (эпифитті және ризосфералық микроорганизмдерден тыс) бірнеше кезеңнен тұрады. Бірінші кезең – алдын ала зарарсыздандыру. Өңдеу шарт – тары материал объектіге байланысты өзгереді. Сабақтардың, тамырдың немесе табақтың фрагменттері ағынды су құбырымен жуылады және спиртке орналастырылады (1 минутқа 70%-дық ерітінді). Тұқымды алдын ала зарарсыздандыру – олардың ластану дәрежесіне байланысты ұзақ процедура. Тұқымның үш тобын бөледі: 1 – беткі қабатының микроорганизмдермен өте аз залалдануы, 2 – тек залалдануы, 3 – тұқымдардың сыртқы бетінде микроорганизмдер бар ұрықтың беті мен іші.



4 Сурет – Тозаңқаптарымен жұмыс барысы

Бірінші топты кез келген зарарсыздандыру арқылы стерилдеген оңай. Көбінесе бұл бидай, құмай, қырыққабат тұқымдары. Екінші топ мұқият тазартуды талап етеді. Тұқымды сабынды суда, KMnO_4 ерітіндісінде, 70% спиртте жуады; кейбір тұқымдарды натрий немесе кальций гипохлоритімен өңдейді, кейіннен стерильді сумен жуады. Бұл топ латук, шпинат, шалғам, қызанақ, жүгері, сәбіз және т.б. қамтиды. Бұл күріш, күнбағыс, соя бұршағы, қарағай және басқалары. Микроорганизмдермен ішкі залалданған тұқымның пайызы өсімдік түріне, тұқымдардың сақталу ұзақтығы мен шарттарына байланысты өзгереді.

Екінші кезең – стерилизация. Алдын ала стерилденген тіндерді немесе мүшелерді стерильдеу ерітіндісіне салады. Барлық жұмыстар, стерильдейтін заттарды пайдалануға байланысты асептикалық жағдайларда (ламинар-бокста) жүргізіледі. Стерилдеуші агент және оның әсер ету ұзақтығы объектіге байланысты іріктеледі. Бұл ретте өсімдік материалының жеткілікті тазалық деңгейін қамтамасыз ету ғана емес, оның өміршеңдігін сақтау да маңызды. Тиімді және зиянсыз агенттердің бірі – гипохлорит кальций немесе натрий (әдетте белсенді хлордың концентрациясы 0,5 – 1% құрайтын ерітінділерді пайдаланады).

Үшінші кезең – объектіні стерильдеу ерітіндісінен жуу (постстерилизация). Бұл ретте өсімдік материалы стерильденген дистилденген судың үлестерімен, оны әрбір 10 – 15 мин ішінде 3 – 4 жуылады.

Өсімдіктердің оқшауланған жасушалары мен ұлпаларының өсінділері – мен жұмыс жүргізу кезінде асептиканы ұстау ережелерін меңгеру, стерильді тұқым алу және олардан асептикалық өскіндерді өсіру.[16]

2.2 Бидайдың дигаплоидтарын алудың сызба - нұсқасы

1 саты: Қоректік орта дайындау

2 саты: Оқшауланған масақтарды төменгі температурада өңдеу

3 саты: Өсімдіктерді алу және қоректік ортаға оқшауланған тозаңдарды отырғызу

4 саты: Оқшауланған тозаңдарды қоректік ортада өсіру және олардан өсімдіктерді алу



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

Егер практикада қажет алуды тездету керек болса, гаплоидтық техноло – гияға донор ретінде F1 гибридтер линияларын алуға болады. F1-F2 гибридті линияларын константты линиялар алуда да қолданады, маркерлі белгілердің қатысуымен (қысқа сабақтылық, суыққа төзімді т.б.).

Андрогенез үшін донор өсімдіктер қолданылады. Олар егістікте және жылыжайларда өсіріледі. Фитотрон жағдайында қалыпты температура 16 сағаттық фотопериод болып табылады, жарығы 20 мың лк, температурасы 15 – 18°C және ылғалдылығы 70 – 75% болады.

2.3 Қоректік орта дайындау

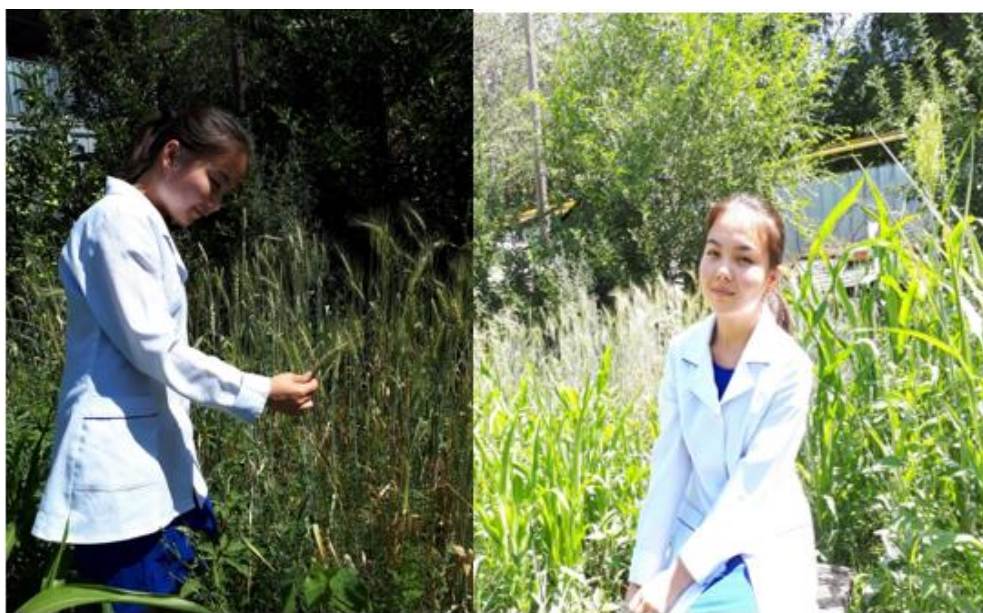
Бидай тозаңдарын көбінесе мына қоректік орталарда өсіреді: MC, N₆, MCC, MCR, Blaydes, Гамбург В₅. Қоректік орта құрамында: макро, микро тұздар, витаминдер, гармондар, көмірсулар, агар, органикалық қосылыстар және т.б. болады.

Қоректік орта дайындау үшін бірінші макро және микро тұздардан ерітінді дайындалады. Бұл ерітінділерді екі жолмен дайындайды:

1. Барлық макротұздардың концентрациясын он есе арттырады және 500 мл. дистилденген суда ерітеді (D.H₂O), макротұздардың концентрациясын 100 – ге көбейтеді және 500 мл. D.H₂O ерітеді.

2. Жеке дайындалатын сульфаттарды, хлоридтерді, нитраттарды, фосфаттарды, йодидтерді, макротұздарды және 200мл. D.H₂O ерітеді.

Темірдің хелат ерітіндісін былай дайындайды: темір сульфатын (FeSO₄·7H₂O) 100 мл. D.H₂O ерітеді, трилон (Na ЭДТА) 100 мл. D.H₂O ерітеді, содан соң екі ерітіндіні біріктіреді. Жұмыс біткеннен соң міндетті түрде тұнбаның жоқтығына көз жеткіземіз.



6 Сурет –Бидай (*Triticum aestivum* L.) дақылын тексеру барысы

Витамины ампулада шығарылады, В₆ витаминдердің ерітіндісін дайындау үшін (перидоксин HCl) ампуланың ішіндегі (5%) 100 мл D.H₂O суда ерітеді, PP витамині никотин қышқылы да осылай дайындалады, В₁ витамин тиамин HCl дайындау үшін екі ампуланың ішіндегі 100 мл. D.H₂O ерітеді.

Гармондардың ерітіндісін келесі әдіспен дайындайды: 2,4Д – 20 мг. 2-3 тамшы этил спиртінде ерітеді және 100 мл. D.H₂O дейін жеткізеді және кинетинді, ИСК, зеатин және HCK 2 – 3 тамшы 1HNOH-та ерітеді, еріген 20 мг. 100мл. D.H₂O дейін жеткізді. Мезоинозит және глицин қоректік ортаны дайындау барысында қосылады. Агар плитkada дайындалады, 1 литр жеке колбада 500 мл. D.H₂O бар. Судың температурасы 60°C жеткенде, агар ұнта – ғын, ақырындап араластырып тұрып қосады. Дайын ыстық қоректік ортаны пробиркаларға (40мл.) әр қайсысына 5мл. құяды да, фольгамен немесе мақта – лы тығынмен жабады.

Жұмыстың орындалу барысы:

1. 1 л сұйық ортаны дайындау үшін көлемі 1 л стаканға 30 г сахарозалар салынады, шамамен 400 мл – ге дейін дистелденген су құйылады.
2. Сахароза ерігеннен кейін қажетті мөлшерде макротүздар, микротүз – дар, мезоинозиттің, глициннің, витаминдер қосылады.
3. Дистилденген су көлемін 950 мл дейін жеткізеді.
4. Ерітіндінің рН көрсеткішін 0,1 н NaOH және HCL өлшейміз және рН 5,8 – 6,0 – ге дейін бақылаймыз.
5. Қоректік ортаның 1 л көлемді өлшеуіш цилиндрге немесе колбаға ауыстырамыз және дистилденген судың таңбаланған жеріне дейін жеткізеді.
6. Қоректік ортаны (100 – 250 мл) бөліктермен таза конустық колбаларға құяды, агарды қосады, жоғарыдан алюминий фольгамен жабамыз және автоклавтайды.



7 Сурет – Лаборатория, жұмыс барысы

3 Зерттеу нәтижесі

3.1 Бидай (*Triticum aestivum* L.) гибридтерінің оқшауланған тозандары дақылының құрғақшылыққа төзімділік белгілері бар жаздық себу

Соңғы уақытта қоршаған ортаның биотикалық және абиотикалық факторларын имитациялайтын әртүрлі стресстерге төзімділікке *in vitro* жасу – шалық селекциясы бойынша зерттеулер қарқынды жүргізілуде. Дәнді дақыл – дардың соматикалық каллус және суспензиялық жасушаларының құрғақшы – лыққа төзімділігіне жасушалық селекция туралы бірқатар мақалалар бар, оның ішінде бидай да, ПЭГ қолдану арқылы. Суды сіңіру қасиетіне ие ПЭГ пайдалану арқылы су тапшылығы имитацияланады. Алайда, біз әдебиетте тұқымдастардың гаплоидті жасушалары деңгейінде қоректік орта құрамында полиэтиленгли – кольді (ПЭГ) қолдана отырып, құрғақшылыққа төзімді жасушалық селекция туралы ескертулерді кездестірген жоқпыз. Осмотикалық стресске клеткалық бейімделу ағзаны дегидратацияның өлу әсерлерінен қорғайтын түбегейлі биологиялық процесс болып табылады. Бұл жұмыста біз ПЭГ 6000 құрамында қоректік МС *in vitro* жұмсақ бидайдың микроспорасы мәдениетінде эмбрионд – тардың шығуына әсерін байқадық.

Оқшауланған тозаңнан гаплоидті өсімдіктерді алу екі жолмен өтуі мүмкін: соматикалық ұрықтардың тікелей регенерациясы (эмбриондогенез) және каллу – согенез арқылы. Эмбриондтардың қалыптасу тиімділігі генотипті тәуелділік процесс болып табылады және 0-ден 98%-ға дейін түрленеді.

2 – 4 аптадан кейін тозаңдар культурасында сұйық ортада көрінетін микроспордан алынған алғашқы эмбрион тәріздес құрылымдар байқалды. Әр апта сайын цитологиялық бақылаулардан, микроспоралар бөлінуін және кал – лустар мен эмбрионқұрылымдардың дамуын есепке ала отырып жүргізілді.

2 Кесте – Бидай гибридтерінің оқшауланған тозандары дақылының құр – ғақшылыққа төзімділік белгілері бар жаздық себу

Генотип	Культивирленген пыльниктер саны	Алынған эмбриондтар саны	%
№ 205/96	667	34	5,09
№ 23/96	882	31	3,51
№ 6/96	450	10	2,22
№ 2/96	459	15	3,26

Біздің эксперименттерімізде сыналған құрғақшылыққа төзімді генотип – терде эмбриондтердің ең жоғары шығуы №205/96 (5,09%) яғни культивирленген тозаңқаптар саны 667 болды. Одан кейінгі 2 – ші орынды №23/96 гибриді:

эмбриондтар саны 31 (3,51%) ал, тозаңқаптар саны 882 деген көрсеткішке ие болып отыр. Кезекті 3 – ші орынды №2/96 гибриді: түзілген эмбриондтар саны 15, пайыздық көрсеткішпен (3,26%) болса, тозаңқаптар саны 15. (2 – кесте).

Сондай - ақ, ең төменгі мән № 6/96 (2,22%) гибридіде байқалды, оның көрсеткіштері келесідей болды: эмбриондтар саны 10, тозаңқаптар саны 450 болды. Жалпы, кестелік мәліметтер бойынша, МС ортасындағы эмбриондтардың шығуы бидай тозаңдарының мәдениетімен жұмыс істеу кезінде неғұрлым тиімді болып табылады деген қорытынды жасауға болады. [21]

Зерттеу жұмыстары жүргізілген орындар

Донорлық өсімдіктерді өсіру бойынша ғылыми зерттеу тәжірбие жұмыстары Алматы қаласы, Қарасай ауданы, Алмалыбақ ауылында орналасқан АҚ «КазАгроИнновация» қарасты ЖШС «Қазақ егіншілік және өсімдік шаруашылығы ғылыми институты» тәжірбиелік егіс алқабында жүргізілді. Зертханалық жұмыстар Алматы қаласында орналасқан «Технопарк корпусының 103 - лабораториясында» жүргізілді.



8 Сурет – Бидай (*Triticum aestivum* L.) эмбриондарының микроскоптағы көрінісі

3.2 LR 24. генінің негізгі көзі бар сорттар мен гибридтердің оқшау – ланған микроспораларының жаздық жұмсақ бидай дақылы

Тозаңдарды өсірудің барысында морфологиялық өзгерген микроспора – лардың дамуы зерттелді. Микроспораның эмбриогенді бөліну жиілігі жаздық бидайдың *Изогенная линия Lr. 24* генотипінде жоғары көрсеткіште, ал төмен көрсеткішті *АДГ 1034* генотипі көрсетті. Бидайдың *Изогенная линия Lr.24* генотипі МС қоректік ортасында 459 тозаңдарды культивирлеу барысында эмбриондтер түзілу жиілігі бойынша 1,52% көрсетті. Ал бидайдың *АДГ 1034* генотипінен 1292 тозаңдар культивирлеу барысында, эмбриондте түзу жиілігі

небәрі 1,39% көрсетті. Бұл зерттеу барысында, зерттеу объектісі ретінде алынған барлық 9 жаздық бидайдың генотиптерінің ішіндегі эмбрионидтер түзілу жиілігі бойынша ең төмен көрсеткіш көрсеткен генотип болып табылады.

Сонымен жаздық бидайдың *Казахстанская 17* сортынан қоректік ортада культивирленген тозаңдар саны 510 болды, нәтижесінде 5 эмбриоқұрылымдар алынды, алайда эмбриоқұрылымдар түзілу жиілігі 0,98% көрсетті. Сонымен қатар *Казахстанская 17* сортынан кейінгі эмбриоқұрылымдардың түзілу жиілігі бойынша жоғары көрсеткіш көрсеткен АДГ 1053 сорты болып табылады, культивирленген тозаңдар саны 1462, ал эмбриодтар түзілу жиілігі 1,03%-ды көрсетті. Және тағы бір жоғары көрсеткішті көрсеткен жаздық бидай сорты АДГ 1054 пен *Лютесценс 70* эмбриодтар түзілу жиілігі 1,34 пен 0,70% нәтижені көрсетті. Қалған *Лютесценс 70 x Lr. 24, F3* (0,73%), *Казахстанская 17 x Lr. 24, F3* (0,78%), АДГ 1027 (1,39%) сорттары эмбриод түзу жиілігі төмен көрсеткіште болды.

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

3 Кесте – *LR 24*. генінің негізгі көзі бар сорттар мен гибридтердің оқшау – ланған микроспораларының жаздық жұмсақ бидай дақылы

Генотип	Культивирленген пыльниктер саны	Алынған эмбриодтар саны	%
Казахстанская 17	510	5	0,98
Лютесценс 70	374	5	1,34
Изогенная линия Lr. 24	459	7	1,52
Лютесценс 70 x Lr. 24, F3	136	1	0,73
Казахстанская 17 x Lr. 24, F3	255	2	0,78
АДГ 1027	935	13	1,39
АДГ 1034	1292	5	0,38
АДГ 1053	1462	15	1,03
АДГ 1054	1003	7	0,70

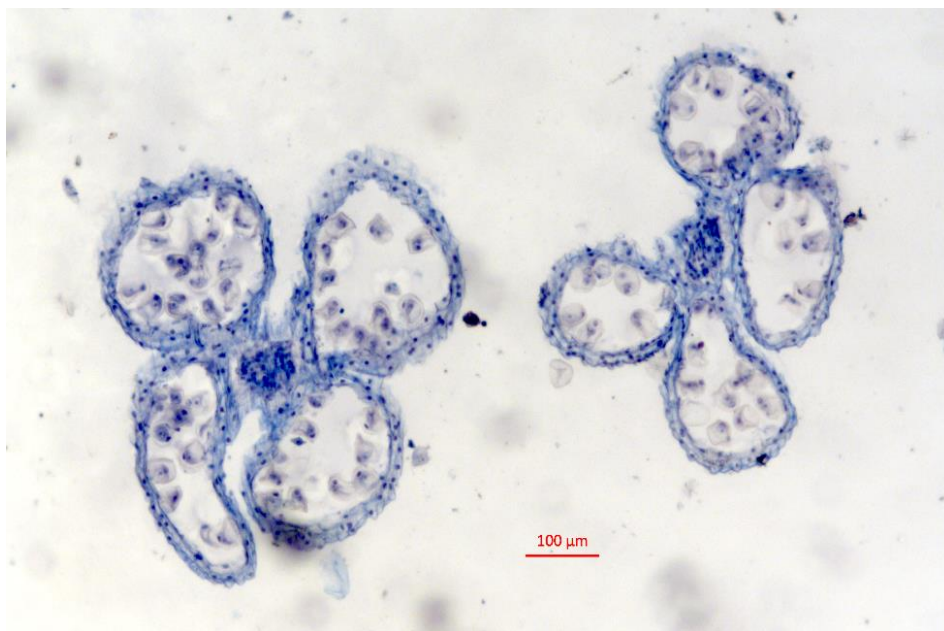
Эмбрионидтар МС қоректік ортасында эмбрионидтар түзу жиілігі бойынша жаздық бидайдың *Изогенная линия Lr. 24* 1,52% көрсетті. Ал *Лютесценс 70* сортының эмбрионидтар түзу жиілігі 1,34 % болды.

Сонымен қатар жаздық бидай будандары № 205/96 (5,09%) және №23/96 (3,51%) эмбрионидтар түзу жиілігі бойынша жоғары көрсеткіш көрсетті.[22]

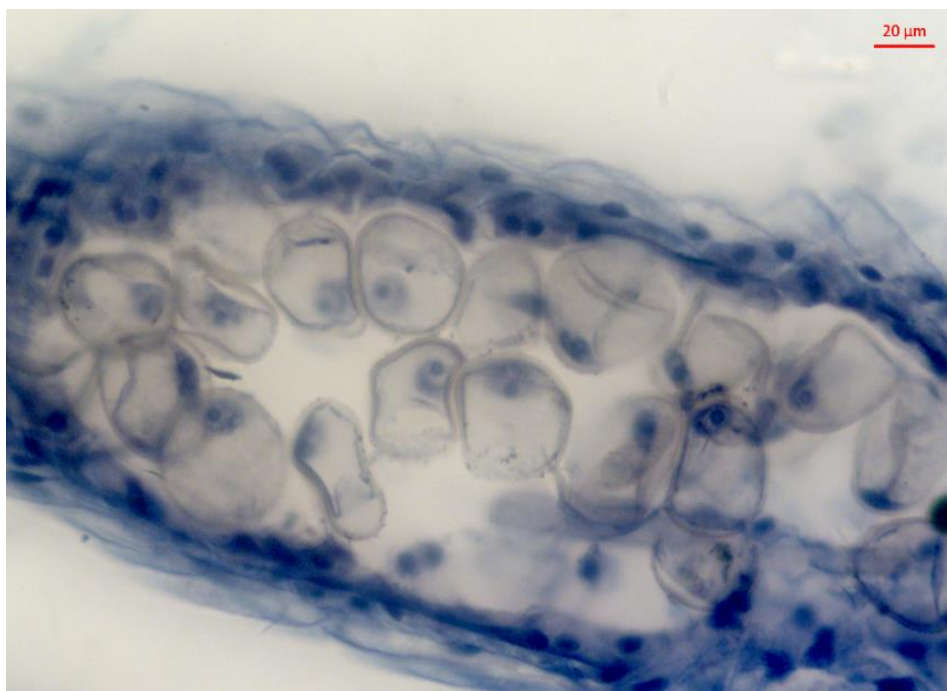
Бидай микроспорасының дамуын микроскоп арқылы зерттеу

Қоректік ортаға бидайдың аталық мүшелерін отырғызып *in vitro* өсіргенде микроспоралар гаметофиттің даму жолынан спорофиттік даму

жолына ауысады. Сонымен қатар аталық клеткаларды жасанды коректік ортаға отырғызу, олардың метаболизмінде және микроспоралардың аталық камера ішінде орналасу қалыпын өзгертеді. Біз микроскоп арқылы бидайдың аталық клеткаларын *in vitro* өсіріп зерттегенде, микроспоралардың аталық тозаңқап мүшесінің қабығымен байланысы үзіліп, олар камера ішінде әртүрлі қалыпта орналасатыны анықталды. (9 – 10 сурет).

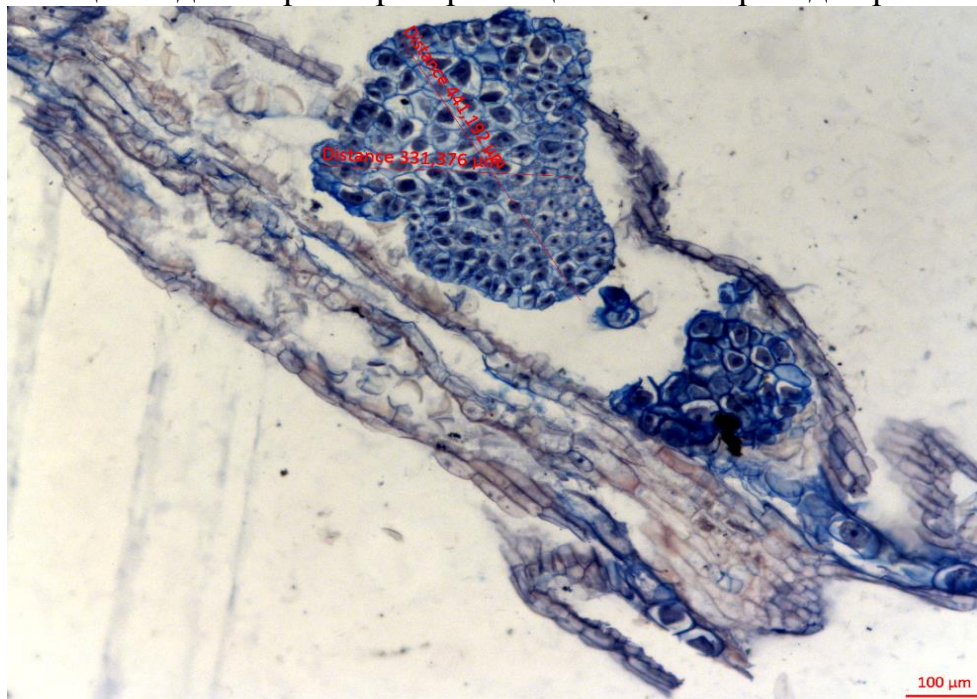


9 Сурет – Жаздық жұмсақ бидайдың (*Triticum aestivum* L.) тозаңқап мүшесінің микросуреті



10 Сурет – Жаздық жұмсақ бидайдың (*Triticum aestivum* L.) тозаңқап

мүшесінің ішінде микроспораларының *in vitro* өсіргенде орналасуы



11 Сурет – Жаздық жұмсақ бидайдың (*Triticum aestivum* L.) тозаңқап мүшесінің ішінде көпклеткалық комплекстен эмбриондтардың пайда болуы

Жаздық жұмсақ бидайдың (*Triticum aestivum* L.) микроспораларын *in vitro* өсіргенде көпклеткалы клеткалық комплекс түзіліп, олар өсе келе тозаңқап мүшесінің камерасының ішінен сыртына шығады (11 – сурет). Бұл сатыда олардың проэмбрио және эмбриондтар түзуге қабілеті жоғары болады.

Жаздық жұмсақ бидайдың микроспораларын МС қоректік ортасында эөсіргенде мбриондтар түзу жиілігі бойынша жаздық бидайдың *Изогенная линия Lr. 24* 1,52% көрсетті. Сонымен қатар Лютесценс 70 сортының эмб – риондтар түзу жиілігі 1,34 % болды.

Сорттармен салыстырғанда будандардың эмбрионд түзу жиілігі жоғары болды. Біздің зерттеулерімізде жаздық жұмсақ бидайдың будандарының №205/96, № 23/96 және №2/96 МС қоректік ортасында эмбриондтар түзі жиілігі 5,09 %, 3,51 % және 3,26 % құрады.

ҚОРЫТЫНДЫ

Бидайдың (*Triticum aestivum* L.) оқшауланған микроспора культурасында эмбриоидогенез процессінің жиілігіне әсер ететін факторлар зерттелінді.

Бидайдың (*Triticum aestivum* L.) оқшауланған микроспора культурасында андроклиндік құрылымдар алынды.

Бидайдың оқшауланған микроспора культурасында эмбриондардың түзілу жиілігіне генотиптің әсері зерттелінді.

Эмбриондар МС қоректік ортасында эмбриондар түзу жиілігі бойынша жаздық бидайдың Изогенная линия Lr. 24 1,52% көрсетті. Ал Лютесценс 70 сортының эмбриондар түзу жиілігі 1,34 % болды.

Сонымен қатар жаздық бидай будандары № 205/96 (5,09%) және №23/96 (3,51%) эмбриондар түзу жиілігі бойынша жоғары көрсеткіш көрсетті.

ПАЙДАЛАНЫЛҒАН ӘДЕБИЕТТЕР ТІЗІМІ

- 1 И.Р. Рахимбаев, Ш. Тивари, Н.К. Бишимбаева и др. Биотехнология зерновых культур// Алма - Ата; ғылым, 1992. 55 – 65с.
- 2 Глеба Ю.Ю. Слияние протопластов и парасексуальная (соматическая) гибридизация высших растений // Биотехнология. Наука, 1984. 248 – 254 с.
- 3 Г.Ж. Валиханова / Биотехнология растений: учебное пособие. Павлодар: Кереку, 2009. 272 с.
- 4 Бутенко Р.Г Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнологии на их основе. М. ФБК - ПРЕСС, 1999. 125 с.
- 5 Бутенко Р.Г. Культура изолированных тканей и физиология морфогенеза: Автореф. дисс. ... д – ра биол. наук. М., 1964. 40 с.
- 6 <http://greendeer.ru/stati/vidi-trav/pshenica-mygkaya-ozimaya.html>
- 7 Қодаров Б.Р., Ә.Е. Ережепов / Дәнді, жарма және техникалық дақылдар биохимиясы: (Техникалық биохимия). Алматы. 2015. 298 б.
- 8 Анапияев Б.Б., Сатыбалдиев Д.Д., Богданова Е.Д., и др. Использование гаплоидной технологии в селекции пшеницы на засухоустойчивость // Известия МОИ РК, НАН РК. Серия биологическая и медицинская – 1999. № 5 – 6 –116 – 120 с.
- 9 Турашева С.К. Основы биотехнологии/биотехнология высших и низших растений/учебник. Алматы: Қазақ университеті: 2016. 270 с.
- 10 Глеба Ю.Ю., Сытник К.М. Клеточная инженерия растений – Киев: Наукова думка, – 1984. 159 с.
- 11 Бутенко Р.Г. Клеточные технологии в селекционном процессе// Состояние и развитие сельскохозяйственной биотехнологии: материалы Всесоюзной конференции, Москва, июнь 1986. 29 – 98 с.
- 12 Долгих Ю.И. Принципы скрининга клеток *in vitro* с целью получения устойчивых к абиотическим стрессам форм растений// тез.докл. – Пущино, – 1993. 103 – 337 с.
- 13 Тимофеева О.А., Румянцева Н.И./КУЛЬТУРА КЛЕТОК И ТКАНЕЙ РАСТЕНИЙ: Учебное пособие. КАЗАНЬ 2012. 91 с.
- 14 Биотехнология растения: культура клеток/Г.П. Болвел и др., пер. С англ. Под ред. Р.Г. Бутенко. М.: Агропромиздат, 1989. 280 с.
- 15 Тоцкий В.Н., Беломыльцева Е.В. Получение солеустойчивых к клеточных линий ячменя/сб.научн.то. СГИ – 1992. 59 – 62 с.
- 16 Хозлов С.С., Тырнов В.С., Гришина Е.В. и др. Гаплоидия и селекция. М.Наука, 1976. 221 с.
- 17 Анапияев Б.Б. Культура микроспор и гаплоидная биотехнология пшеницы/под ред. Рахимбаева И.Р. – Алматы: Казахстан, 2001. 220 с.
- 18 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. 25 с.

19 Тарасенко Н.Д., Скварцов Е.П., Методы получения гаплоидных растений у картофеля//Проблемы апомиксиса у растений и животных. Н.: «Наука», 1972. 105 – 116 с.

20 Бутенко Р.Г. Культура изолированных тканей и физиология морфогенеза растений – М., наука, 1964. 384 с.

21 Анапияев Б.Б., Сатыбалдиев Д.Д., Богданова Е.Д. и др. Использование гаплоидной технологии в селекции пшеницы на засухоустойчивость // Известия МОИ РК, НАН РК. Серия биологическая и медицинская. - 1999. №5 – 6 - 116 – 120 с.

22 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. №4 116 – 120 с.

Краткий отчет



Университет:

Satbayev University

Название:

Бидай (*Triticum aestivum* L.) дақылының
гаплоидтық биотехнологиясы

Автор:

Маханова Салтанат Успановна

Координатор:

Бакытжан Анапияев

Дата отчета:

2019-04-22 07:14:38

Коэффициент подоби́я № 1: ?

24,2%

Коэффициент подоби́я № 2: ?

5,7%

Длина фразы для коэффициента подоби́я
№ 2: ?

25

Количество слов:

7 594

Число знаков:

59 269

Адреса пропущенные при проверке:

Количество завершенных проверок: ?

7



К вашему сведению, некоторые слова в этом документе содержат буквы из других алфавитов. Возможно - это попытка скрыть позаимствованный текст. Документ был проверен путем замещения этих букв латинским эквивалентом. Пожалуйста, уделите особое внимание этим частям отчета. Они выделены соответственно.

Количество выделенных слов 3