

«М.А. Гендельманның 110 жылдығына арналған «Сейфуллин оқулары–19» халықаралық ғылыми-практикалық конференциясының материалдары = Материалы международной научно-практической конференции «Сейфуллинские чтения – 19», посвященной 110-летию М.А. Гендельмана». - 2023.- Т.II, Ч.II.- Б. 175-178.

ӘОЖ 57.085

***IN VITRO* ӘДІСІ АРҚЫЛЫ ӨСІРІЛГЕН ҚАЙЫҢ ЖӘНЕ КӨКТЕРЕК АҒАШТАРЫНЫҢ ДАМУ ЖАҒДАЙЫ**

Төлеубаева Ш. 4-курс студенті

Ғылыми жетекшіі: Есмурзаева А.Қ. а.ш.ғ. кандидаты, доцент

*«С.Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалықзерттеу университеті» КеАҚ,
Астана қ.*

Орман шаруашылығында биотехнология саласындағы ғылымды дамытудың перспективалы бағыттарының бірі-құнды ағаш түрлерін микроклональды көбейту болып табылады. Соның ішінде, еліміздің Солтүстік Қазақстан аумағында көбейтуді қажет ететін түрлердің бірі табиғи полиплоид триплоидты көктерек және Карель қайыңы ағаштары. Триплоидты көктерек саңырауқұлақ ауруларына және ағаш өнімділігіне өте төзімді. Карелді қайың ағашы көгалдандыруда өте сәнді және тұрмыстық бұйымдар өндірісінде маңызды болып табылады[1].

Өсімдіктердің микроклональды көбейтудің негізгі артықшылықтары *in vitro* жағдайында жасанды қоректік ортада ағаш өсімдіктерінің оқшауланған жасушаларын, тіндері мен мүшелерін өсіруге негізделген микроклональды көбейту әдісі болып табылады. Микроклональды көбейту әдісі тұқымдық материалдың өнімділігі мен сапасына қарамастан отырғызу материалын алуға, сонымен қатар бастапқы материал дайындалған аналық өсімдіктердің құнды белгілері мен қасиеттерін толық сақтауға мүмкіндік береді[2-3].

Зерттеу жұмыстары Ақмола облысы, Щучинск қаласында орналасқан «Көкшетау орман селекциялық орталығы» мекемесінің биотехнология лабораториясы зертханасында жүргізілді. Зерттеу барысында қайың және көктерек ағаштарын *in vitro* (микроклондау) әдісі арқылы көбейту жұмыстары жасалынды.

Зерттеу әдістемесі тікелей орман селекциялық саласында қолданылатын ҚР БҒМ генетика және цитология институтының профессоры Е. Ж. Жұмабеков ұсынған әдістеме бойынша жүзеге асырылды[4].

In vitro мәдениеті әдісімен отырғызу материалын алу кезінде микроқұрылымдарды бейімдеу және стерильді емес жағдайларға ауыстыру процесі ең жауапты және күрделі болып табылады. Бұл *in vitro* жағдайында ауаның ылғалдылығы қаныққанға жақын, жапырақтың буланатын беті мен атмосфера арасында су потенциалының градиенті жоқ, СО₂ жетіспеушілігіне байланысты транспирация төмендейді, өсімдіктерде жұмыс істемейтін стоматалар пайда болады, осмотикалық қысым төмендейді, ағарда тамырлардың сусыздануы және су балансының бұзылуы орын алады. Бұл *in*

in vitro өсімдіктерінде бейімделгіш сипатқа ие және қарапайым өсімдіктерден анатомиялық және физиологиялық сипаттамаларымен ерекшеленетін белгілі бір мәдени фенотиптің пайда болуына әкеледі [5].

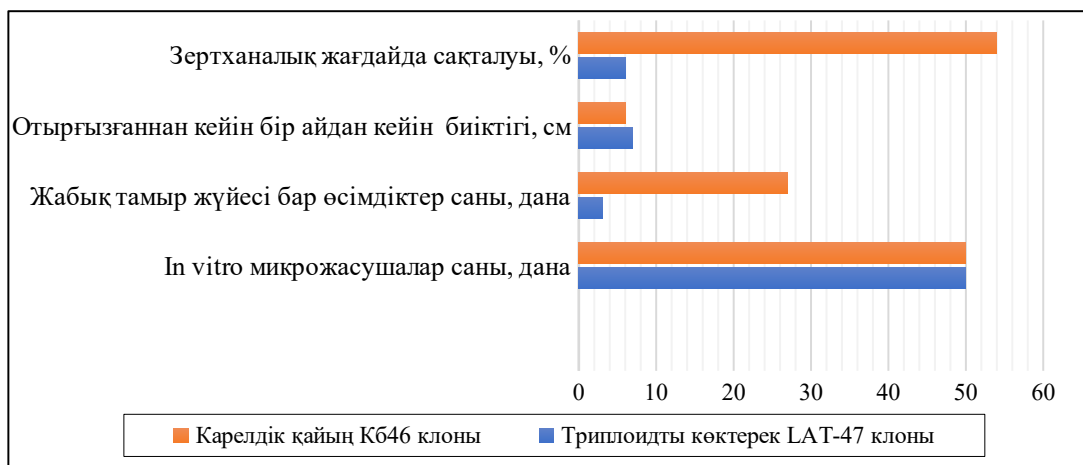
In vitro әдісі арқылы пайда болған тамырланған отырғызу материалдарын одан әрі өсіру үшін топыраққа отырғызу жұмыстары жүргізілді.

Тамырланған өсімдіктер бейімделу үшін топырақ субстратына отырғызылып, зертханада өсірілді. Топырақ субстраты 1:1:1 қатынасында питомник топырағынан, шымтезектен және перлиттен тұрды. Өсімдіктер 6-8 дана пластикалық контейнерлерге отырғызылды және бастапқы кезеңде ылғалдың жоғалуын болдырмау үшін үстіне мөлдір қақпақтармен жабылды. Топырақ субстратына отырғызу кезінде триплоидты көктерек ағаштарының биіктігі $5 \pm 1,2$ см, карелиялық қайың $4 \pm 1,5$ см болды. Өсімдіктер контейнерлері 16/8 жарық режимі сақталған зертханада орналастырылды, күндізгі және түнгі жарық қарқындылығы 3-4 мың люкс, ауа температурасы $23-24^{\circ}\text{C}$ –ты құрады. Триплоидты көктерек пен карелдік қайың көшеттерінің бейімделу көрсеткіштері келесідей 1-кестеде көрсетілген.

Кесте 1. Триплоидты көктерек LAT-47 клоны мен Карелдік қайың К646 клоны көшеттерінің бейімделу көрсеткіштері (2022 жыл)

| Көрсеткіштер | Триплоидты көктерек LAT-47 клоны | Карелдік қайың К646 клоны |
|---|----------------------------------|---------------------------|
| In vitro микрожасушалар саны | 50 | 50 |
| Жабық тамыр жүйесі бар өсімдіктер саны | 3 | 27 |
| Отырғызғаннан көшеттердің бір айдан кейінгі өсімдіктердің орташа биіктігі, см | 7.0 ± 1.3 | 6.0 ± 1.2 |
| Зертханалық жағдайда сақталуы, % | 6 | 54 |

Карелдік қайың экспланттарында бейімделу процесі өте жеңіл өтті, зертханалық жағдайда сақталу 54% деңгейінде болды (1-кесте). Триплоидты көктеректің бейімделуі нашар болды. Оған себеп, көктерек өсімдіктері топырақ субстратына отырғызған кезде ылғалдың жоғалуын азайту үшін 1:1 қатынасында глицерин және су ерітіндісімен өңделді, бірақ бұл айтарлықтай нәтиже бермеді және өсімдіктер тургорды тез жоғалтып, қурап қалды. Топырақ субстратына отырғызылған 50 өсімдіктің тек 3-і ғана сақталды. Осылайша, триплоидты көктеректің зертханалық жағдайда сақталуы 6% - ды құрады (сурет 1).



Сурет 1. Триплоидты көктерек LAT-47 клоны мен Карелдік қайың K646 клоны көшеттерінің зертханалық көрестекіштері

Барлық бейімделген өсімдіктер зертханалық жағдайда одан әрі ашық жерге отырғызу үшін өсірілді. Осылайша, *in vitro* микроклональды көбею негізінде жапырақты ағаштардың құнды түрлерін жаппай көбейтудің негізгі мүмкіндігі көрсетіліп, олардың стерильді емес ортаға бейімделуі үшін жағдайлар таңдалды.

Алдағы уақытта эксперименттік жұмыстар әлі де жалғасын табады. Бұл тәжірибелік жұмыстар өсімдіктердің микроклональды көбеюінің технологиялық параметрлерін таңдаудан, топырақ-субстрат ортасына бейімделуден, жабық тамыр жүйесі бар отырғызу материалын өсіруден, кейіннен зерттеу мақсатында ашық жерге отырғызудан тұрады[6].

Зерттеу жұмыстары барысында микроклональды әдіс арқылы алынға, көшетжай алаңында өскен триплоидты көктерек LAT-47 клоны мен Карелдік қайың K646 клоны ағаштарының фенологиялық даму кезеңдері зерттелінді. Зерттеу жұмыстары келесідей 2-кестеде көрсетілген.

Кесте 2. Карелдік қайың K646 клоны ағашының фенофазалық даму кезеңдері

| Қайыңның фенологиялық фазасы | Фено фазак үні | Тұрақты күн. ауысу, Т | Корреляция коэффициенті, r |
|------------------------------|----------------|-----------------------|----------------------------|
| 1 | 2 | 3 | 4 |

2-кестенің жалғасы

| | | | |
|--------------------------------|-------|------------------------------------|--------------|
| Шырын ағудың басталуы | 01.05 | 03.05 (>3°C) | 0.72 |
| Бүшітердің кеңеюі | 16.05 | 03.05 (>3°C) 17.05 (>5°C) | 0.81 0.53 |
| Жапырақ қалыптасуының басталуы | 26.05 | 17.05 (>5°C) | 0.68 0.92 |

| | | | |
|--|-------|--|---------------|
| | | 23.05 ($>8^{\circ}\text{C}$) | |
| Жапырақтардың толық қалыптасуы | 08.06 | 03.06 ($>10^{\circ}\text{C}$) | 0.68 |
| Алғашқы сары жапырақтар ($< 5\%$) | 26.07 | 31.07 ($<15^{\circ}\text{C}$) | -0.10 |
| Сарғаю 10-15% | 11.08 | 14.08 ($<12^{\circ}\text{C}$) | -0.11 |
| Жаппай сарғаюдың басталуы (30%) | 19.08 | 14.08 ($<12^{\circ}\text{C}$) 22.08 ($<10^{\circ}\text{C}$) | -0.07 0.03 |
| Толықтай жапырақ түстерінің боялуы ($>75\%$) | 01.09 | 04.09 ($<8^{\circ}\text{C}$) | 0.08 |
| Жаппай жапырақ түсуі ($>50\%$) | 11.09 | 04.09 ($<8^{\circ}\text{C}$) | 0.04 |
| Ағаш желегінің жаппай жапырақсыздануы($>75\%$) | 24.09 | 23.09 ($<5^{\circ}\text{C}$) | -0.28 |

Көктемде температураның тұрақты көтерілуі фенологиялық шекаралармен тығыз байланысты. Карелдік қайың К646 клоны күзгі фенофазаларына ену күндері, төмен қарай температуралық ауысудың орташа күндеріне жақын, олармен іс жүзінде ешқандай байланыс жоқ. Фенологиялық даму кезеңі мамыр айының бірінші декадасынан (01.05 03.05 ($>3^{\circ}\text{C}$)) басталып, екінші он күндікте (16.05 03.05 ($>3^{\circ}\text{C}$) 17.05 ($>5^{\circ}\text{C}$)) бүшітердің кеңейіп ісінуі жүрді. Жапырақ қалыптасуының басталуы мамыр айының соңғы он күндігінен (26.05 17.05 ($>5^{\circ}\text{C}$)), маусым айының басына (08-03.06 ($>10^{\circ}\text{C}$)) дейін жалғасты. 2022 жылы жалпы фенологиялық толық вегетациялық кезең Карелдік қайың К646 клонында орта есеппен 146 күнге созылды. Жапырақтың өмір сүру ұзақтығы гүлденудің басынан жапырақтың түсуіне дейін 122 күнді құрады (109-дан 132 күнге дейін).

Триплоидты көктерек LAT-47 клоны зертханалық жағдайда сақталу көрсеткіші өте төмен болғанымен, көшетжай аумағындағы даму кезеңі тұрақты жүрді (кесте 3).

Кесте 3. Триплоидты көктерек LAT-47 клоны көшеттерінің фенологиялық даму кезеңдері

| Түр атауы | Фенологиялық даму кезеңдері, күн | | | | | | |
|-----------|----------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | Пч1 | Пч2 | Л1 | Л2 | Л3 | Л4 | Л5 |
| Көктерек | 03.05 | 10.05 | 16.05 | 21.05 | 10.08 | 03.10 | 16.10 |

*Ескерту: Пч1-бүршіктердің ісінуі; Пч2-бүршіктердің ашылуы; Л1-жапырақтардың қалыптасуы; Л2-жапырақтары өзіне тән пішінге ие, бірақ

қалыпты мөлшерге жеткен жоқ; Л3-жапырақтардың толық дамуы; Л4-жапырақтардың сарғаюы; Л5-жапырақтардың түсуі.

6-кестеде фенологиялық дамуы кезеңінің басталуы бүршіктердің ісінуімен жүреді. Бүршіктердің ашылуы (Пч2) мамыр айынан басталды. Жапырақтардың қалыптасуы (Л1-16.05) мамыр айынан басталып, толық жапырақ қалыптасу кезеңі тамыз (Л3-10.08) айына дейін жалғасты. 2022 жылы орташа вегетациялық кезең ұзақтығы 158 күнді құрады.

Ақмола облысы, Щучинск қаласында орналасқан «Көкшетау орман селекциялық орталығы» мекемесінің биотехнология лабораториясы зертханасында қайың және көктерек ағаштарын *in vitro* (микрорклондау) әдісі арқылы көбейту жұмыстары бойынша зерттеу жұмыстар толық жүргізілді, зерттеу нәтижелері келесідей:

- Триплоидты көктерек LAT-47 клоны көшеттерінің зертханалық жағдайда сақталу көрсеткіштері – 6%, Карелдік қайың Кб46 клоны – 54%-ды құрады;

- Қайың ағаштарында табиғи жағдайда вегетациялық кезең ұзақтығы 132-ден 168 күнге дейін өзгертіндігін ескерсек Карелдік қайың Кб46 клонында даму кезеңі тұрақты жүрді;

- Триплоидты көктерек LAT-47 клоны көшеттерінің орташа вегетациялық кезеңі 158 күнді құрады;

Зерттеуге алынған екі түрдің фенологиялық даму кезеңдері қалыпты жүруде және орта жастағы ағаштармен салыстырғанда 10-12 күнге кеш жүретіндігі бақыланды.

In vitro (микрорклондау) әдісі арқылы көбейту жұмыстары барысында Карелдік қайың Кб46 клондарынан триплоидты көктерек LAT-47 клоныдарына қарағанда өміршеңдігі жоғары, сапалы көшет материалын алу болатындығы анықталынды.

Пайдаланылған әдебиеттер тізімі

1. Ветчинникова Л. В. Клональное микроразмножение селекционного материала берёзы карельской // Науч. основы селекции древесных растений Севера. — Петрозаводск: КарНЦ РАН, 1998. — С. 73—87.

2. Reed В.М. Cryopreservation of *in vitro* tissue of deciduous forest trees // PlantCryopreservation: A Practical Guide. / В. М. Reed (ed). New York: Springer, 2007. Section II. P. 365-386.

3. Белокурова В.Б., Листван Е.В., Майстров П.Д., Сикура Й.Й., Глеба Ю.Ю., Кучук Н.В. Использование методов биотехнологии растений для сохранения и изучения биоразнообразия мировой флоры // Цитология и генетика, 2005. № 1. С. 41-51.

4. Жумабеков Е.Ж., Вечёрко Н.А., Ромаданова Н.В. Клональное микроразмножение яблони Севера. Лабораторный регламент. — Алматы, 2010. - 25 с.

5. Mursalieva V.K., Nam S.V. Influence of hydrolysable tannins on rhizogenesis rose in vitro // 1st International Symposium on Secondary Metabolites Chemical, Biological and Biotechnological Properties. – Turkey, 2011. – P.132.

6. Рекомендации по сохранению и воспроизводству методами биотехнологии ценных генотипов карельской березы, осины, тополя белого и сереющего / сост. О.С. Машкина, Т.М. Табацкая. Воронеж: ВГУ, 2005. 29 с.