

Тақырып

Өсімдіктерді микроклондық жолмен көбейту



ЖОСПАР:

- Өсімдіктерді микроклондық жолмен көбейту;
- Өсімдіктерді микроклондық жолмен көбейтудің артықшылықтары;
- Клондық микрокөбейту әдістері

- Өсімдіктерді клондық микрокөбейту - өсімдіктерді *in vitro* жағдайында жыныссыз жолмен көбейту әдістерін айтады.
- Бұл әдіс өсімдік клеткасының тотипотенттік қабілетіне негізделген.
- “Клон” терминін 1903 жылы Уэбстер (грек тілінде klon – көбейтуге болатын өркен немесе қалемше деген мағынаны білдіреді) енгізген.

Клон – жыныссыз, вегетативті көбею жолымен пайда болған организм.

Өсімдіктерді микроклондық жолмен
көбейтудің дәстүрлі әдістерден ерекшелігі
мен артықшылықтары

➤ Генетикалық біркелкі көшеттер
(материалдар) алу мүмкіндігі;



➤ Вирустар мен патогендік
микроорганизмдерден құлан таза өсімдіктер
алу мүмкіндігі;

➤ Өсімдіктердің клондық микрокөбейту коэффициентін жоғарылату, яғни бір экспланттан жылына 10 000 - 1 000 000 өсімдік алуға мүмкіндік туады, олар өзара генетикалық бірдей болады.



шөптесін өсімдіктер

$10^5 - 10^6$

бұталар мен ағаштар

$10^4 - 10^5$

қылқан жапырақтылар

10^4

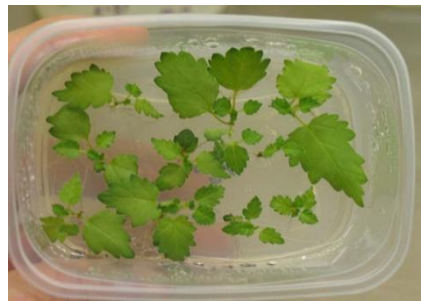
- сұрыптау процесін жылдамдату;
- өсімдіктердің даму барысында ювенильді фазадан репродуктивті фазаға өтуді жылдамдату мүмкіндігі;
- дәстүрлі әдістермен көбеюі қиынға соғатын өсімдіктерді көбейту;
- жас өсімдіктерді алу және кәрі дарақтарды жасарту;

➤ Өсімдіктердің көптеген түрлері әсіресе ағаштар (емен, карағай, шырша, жаңғақ) вегетативті жолмен нашар көбейеді.

➤ Сондай-ақ, 10-15 жастан асқан ағаштарды қалемшелеу арқылы көбейту мүмкін емес.

➤ Стандартты көшеттерді алу қиынға соғады, себебі олар инфекцияланады және өзара инфекция жұқтырады.

Ағаштарды телу жұмыстары қиын әрі көп қол күшін талап етеді.



➤ Үнемділік;

➤ өсімдіктерді қысқа мерзім ішінде көбейту;

➤ өсу процесін жыл бойы үзбей өсіру;

➤ өсімдіктерді өсіру процесін автоматтандыру.



Клондық микрокөбейту әдістері

Өсімдіктерді микроклондық жолмен көбейту
Н.В. Катаева және Р.Г. Бутенко (1983)

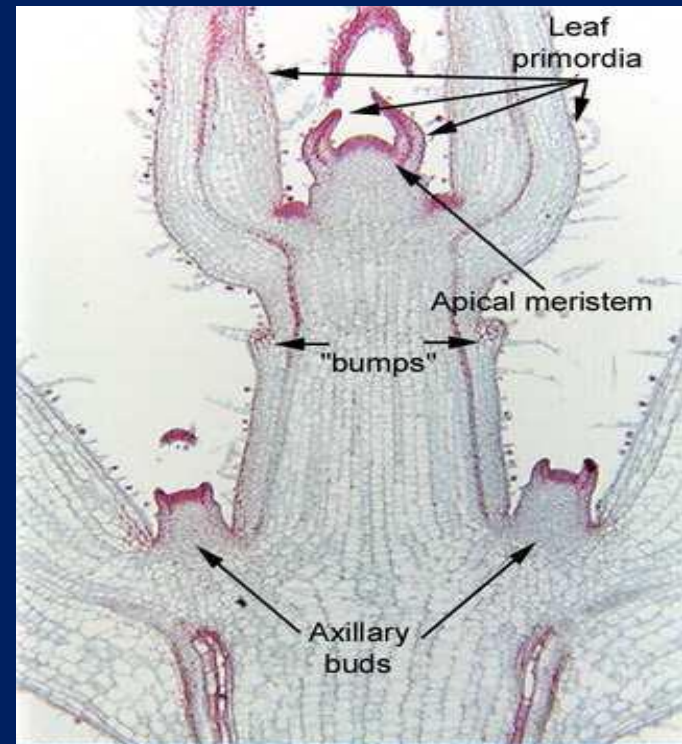
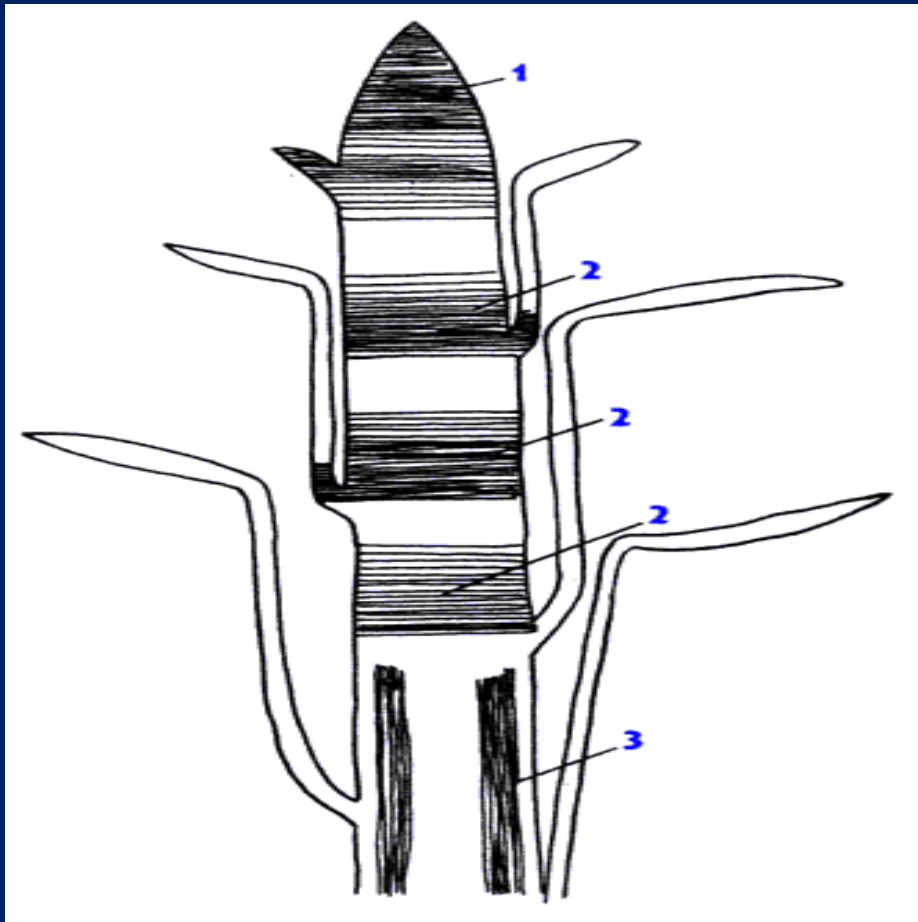


1. Өсімдіктегі бұрыннан бар меристемаларды ырықтандыру (сабақ апексі, қолтық және бұйыққын бүршіктер) арқылы өсімдіктерді өсіріп алу



2. Жаңадан пайда болған меристемалардан бүршіктер немесе эмбриондтардың пайда болуын индукциялап, өсімдіктерді өсіріп алу

1. Өсімдіктегі бұрыннан бар меристемаларды ырықтандыру арқылы өсімдіктерді өсіріп алу

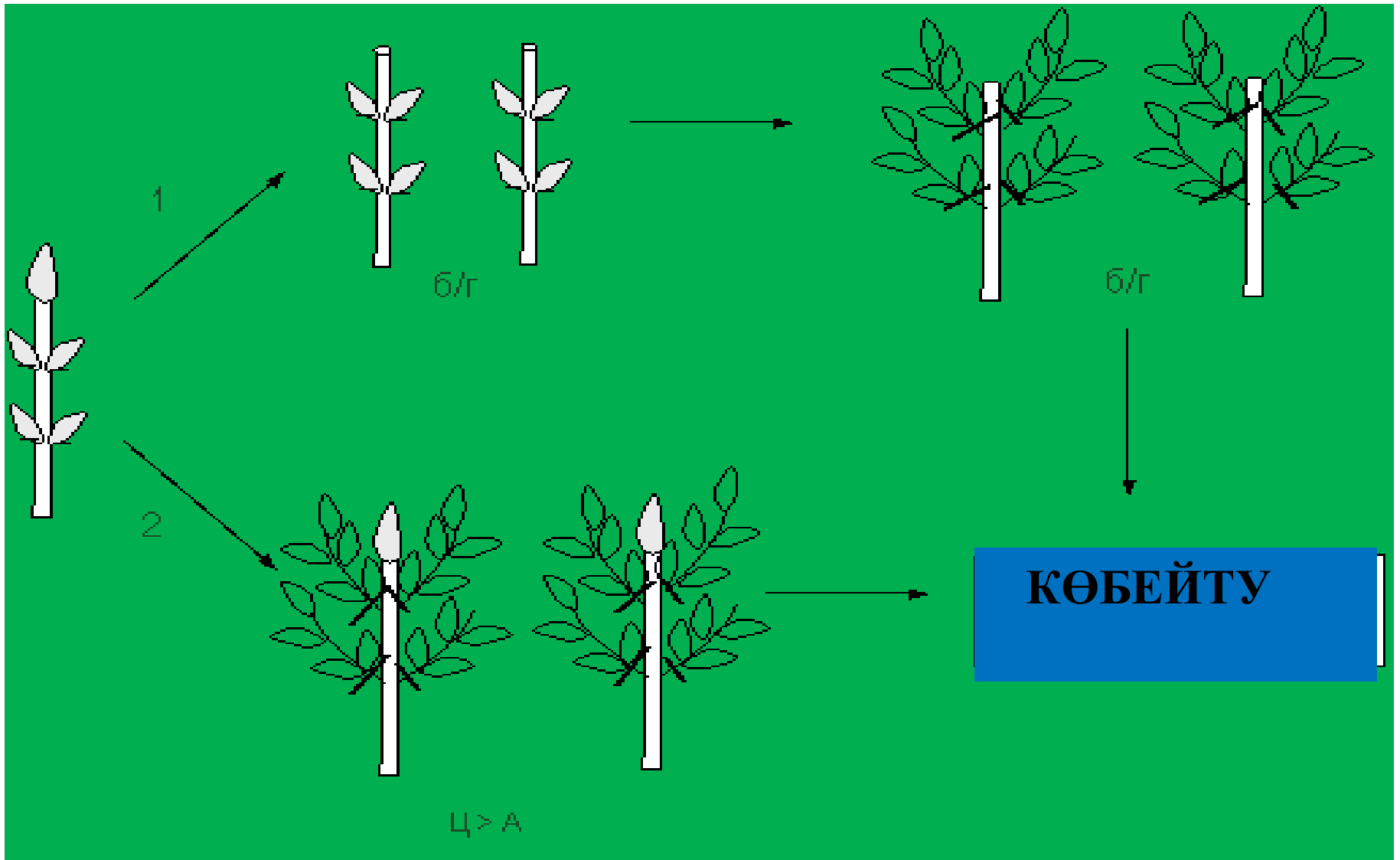


- 1 - төбелік (апикалды),
- 2 – интеркалярлы (қыстырмалы),
- 3 - қолтық (латералды)

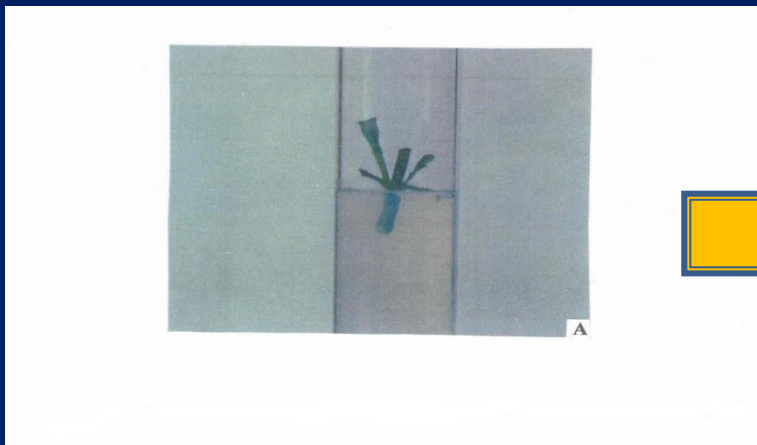
Меристемаларды индукциялау

а) сабақ ұшар басындағы меристеманы кесіп тастау және өркенді *in vitro* жағдайында гормонсыз қоректік ортада бірнеше рет микроқалемшелеу

б) қоректік ортаға табиғаты цитокининдік әсері бар заттарды қосу арқылы қолтық бүршіктердің қаулап өсуін индукциялау. Әдетте цитокилиндер ретінде *6-бензиламинопурин (БАП)* немесе *6-фурфуриламинопурин (кинетин)* мен *зеатинді* қолданады.



Өсімдіктегі бұрыннан бар меристемаларды ырықтандыру
(А. Р. Родин, Е. А. Калашников, 1993 бойынша).



Стевияны қос қолтық бүршіктер арқылы көбейту

Оқшаулап алынған
апикалды және қолтық
бүршіктерді цитокининдер
қосылған қоректік
орталарға отырғызу
меристемаларда
бүршіктердің қаулап өсуін
қоздырады



Осылай көбейтілген өркендерді алғашқы экспланттардан бөліп алып, жаңартылған қоректік ортаға қайтара қалемшелеп, **қолтық бүршіктердің пролиферациясын қоздырып** жаңа бүршіктер алады.

In vitro жағдайында бірнеше рет қайтара қалемшеленген микроқалемшелерді **ауксин қосылған** жасанды қоректік орталарға көшіріп өсіргенде, олардың **тамырлануы** жүзеге асады.



➤ Бүгінгі таңда бұл әдісті ауылшаруашылық өндірісінде вируссыз таза көшеттер алуға кеңінен қолданады.

➤ техникалық культуралар (стахис, топинамбур, темекі, қант қызылшасы т.б.);

✓ көкөністер (картоп, томат, қияр, асқабақ, бұрыш т.б.);

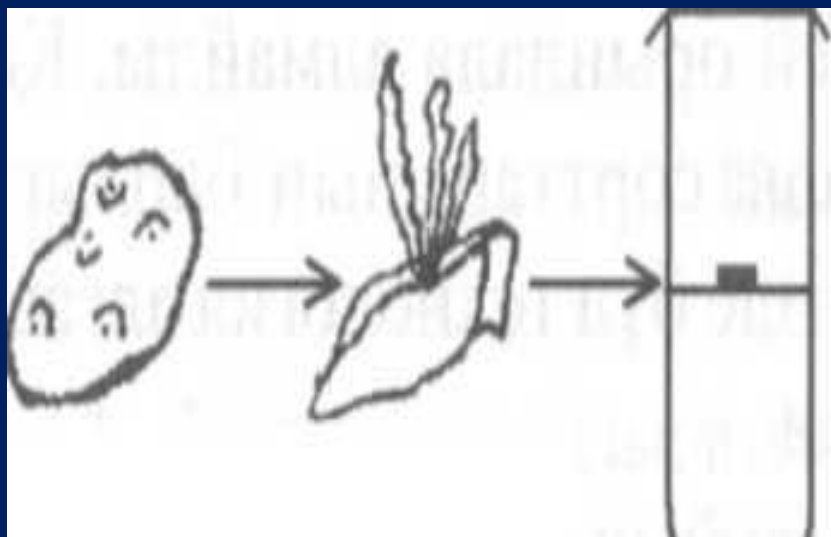
✓ әсемдік гүлдер (хризантема, раушан гүлдер, қалампыр, гербера);

✓ тропикалық және субтропикалық өсімдіктер (родендрон, азалия, камелия, шэй т.б.);

✓ жеміс жидектер (алма, шие, алмұрт, жүзім, таңқұрай, қара қарақат т.б.);

✓ ағаштар (ақтерек, қайың, тал, шетен, қандағаш, секвоя т.б.)

Клондық микрокөбейту әдісімен картоптың көбейту коэффициентін арттыру өндіріс деңгейінде дамыған. Өсімдіктегі бар меристемаларын индукциялау тәсілімен, жылына картоптың бір меристемасынан 100 000 аса өсімдік (пробиркада аса бағалы, вируссыз ұрық материалдар – микротүйіндер) алынады.



2. Жаңадан пайда болған меристемалардан бүршіктер немесе эмбриоидтардың пайда болуын индукциялап, өсімдіктер алу

а) эксплант ұлпаларынан тікелей адвентивті бүршіктер алу

б) сомалық эмбрио-генезді индукциялау

в) алғашқы немесе көшіріліп отырғызылған каллустардан адвентивті бүршіктердің дифференциясын қоздыру

а) Экспланттан тікелей адвентивті бүршіктердің пайда болуы

➤ Лайықты қоректік орталарда экспланттардың **жетіспейтін мүшелерінің қайта қалыптасып, толыққанды өсімдіктің регенерациялауы.**

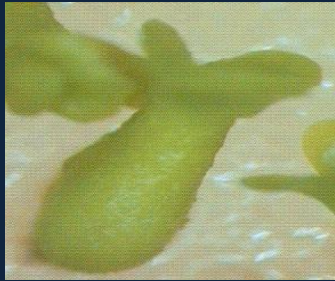
➤ Бұл процесс қоректік орта құрамында **цитокин** немесе **цитокининдер** мен **ауксиндердің 10:1** немесе **100:1** қатынасында болғанда жүзеге асады.

➤ Адвентивті бүршіктердің пайда болу қасиетіне кез келген экспланттар қабілетті.



Эксплант	Көбейтілген өсімдіктер
пиязшық қабыршақтары	баданалы (жуандаған бадана пиязшығы бар) гүлді өсімдіктер, (қызғалдақ, нарцисс, лилия, гиацинт, гладиолус)
гипокотиль, ұрық жапырақшалары, жапырақ сегменттері	Brassica туысының өкілдері (қырыққабаттың барлық түрлері), стевия
апикалды меристема- лар, пиязшық қабыршақтары	пияз, сарымсақ, стевия
апикалды меристема- лар және қолтық бүршіктерден	томат, стевия т.б.
толық пісіп жетілмеген немесе жетілген ұрықтардан	ағаш өсімдіктер т.б.

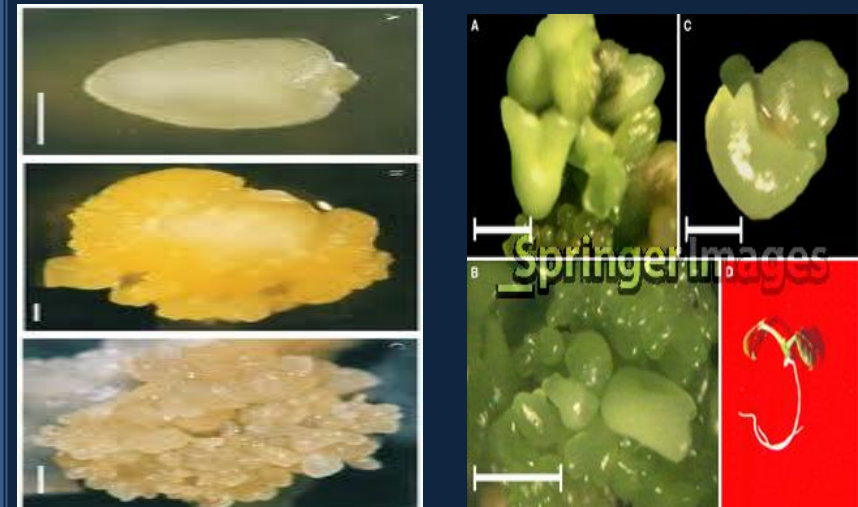
**б) Сомалық эмбриогенез - сомалық клеткалардан
ұрық тәрізді құрылымдардың
дифференциациясына негізделген**



**1. Эксплантан тура
ұрықтардың түзілуі**



**2. Аралық каллус арқылы
ұрықтардың түзілуі**



1. Тура сомалық эмбриогенез -

экспланттың бір немесе бірнеше клеткалардан
вегетативті ұрықтардың пайда болуы

Цитрустарда (Citrus)
нуцеллустан нуцеллярлы
ұрықтар түзіледі



Аналық жыныс мүшесі

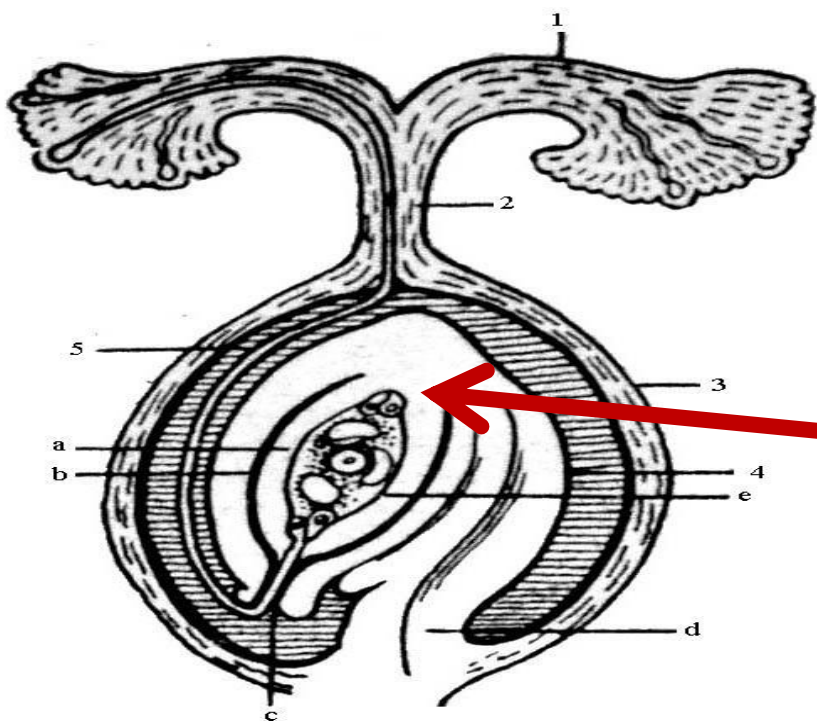
1-аналық аузы, 2-мойны, 3-түйін,
4- тұқым бүрі,

а-нуцеллус,

б-интегумент (тұқым бүрдің сыртқы
қабаты),

с-микропиле, d-тұқымсағақ,

е-ұрық қабы, 5-тозаң трубкасы



➤ Күйдіргі сарғалдақ
(*Ranunculus sceleratus*)
сабағының эпидермалық
клеткаларынан ұрықтар
түзіледі



➤ Пісіп жетілмеген ұрықтардың бүршіктенуі
кезінде эмбриоидтардың түзілуі жүзеге асады;

➤ Кейбір культуралардың тозаңдары мен
протопласттарынан тікелей
эмбриоидтардың түзіледі.

➤ Сомалық эмбриондар құрылымы жағынан **зиготалық ұрықтарға** ұқсайды.



➤ In vivo - жағдайындағы дамуымен салыстырғанда, сомалық ұрықтар жасанды ортада ұрық қабынан тыс, асексуалды дамиды.

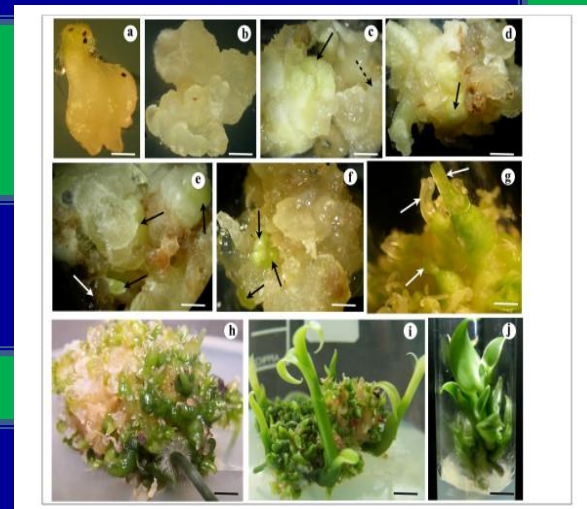
➤ биполяarly құрылымды, яғни оның бір ұшынан сабақтың, ал екінші ұшынан тамырдың меристемалары дамиды.



2. Эмбриондтардың аралық каллус арқылы түзілуі



Fig. 1. Calli (A, B) and suspension (C, D) culture induction from leaves explants of *C. arvensis* (A, C) and *C. canephora* (B, D).



Эксплантты культураға отырғызу



Эмбриогенді каллустың өсуін индукциялау
(ауксиннің концентрациясы жоғары қоректік ортада)



ЭК гормонсыз қоректік ортаға көшіріп, инициаль клеткаларынан
биполярлы ұрықтың түзілуін қоздыру



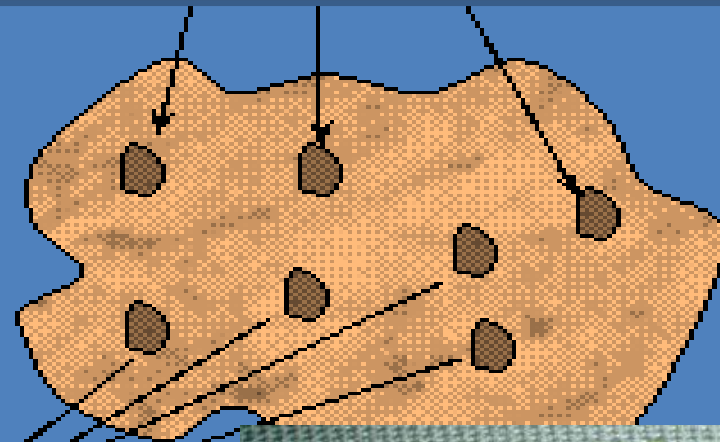
Өсімдік-регенеранттардың қалыптасуы

Эмбриогенді клеткалар ошағы

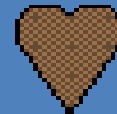
эмбриогенез



каллус



глобула



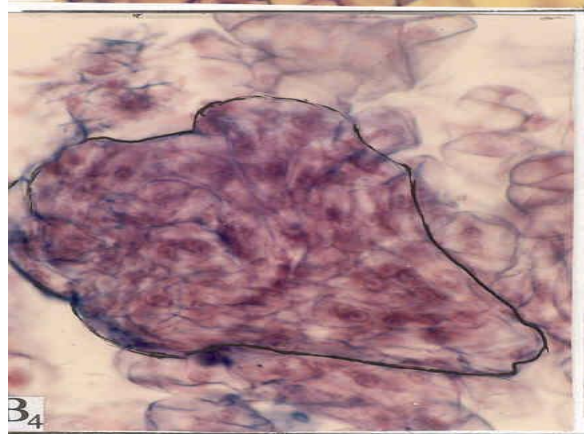
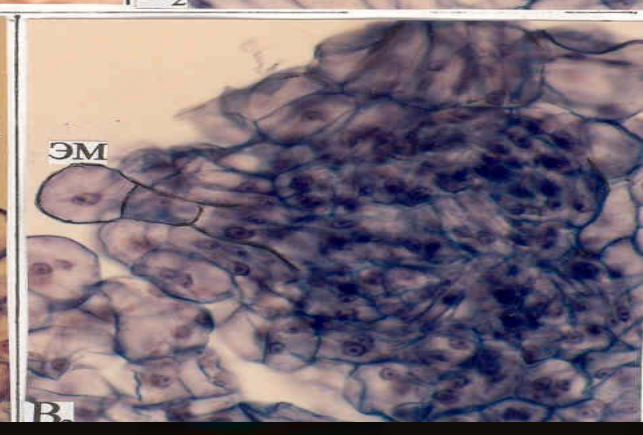
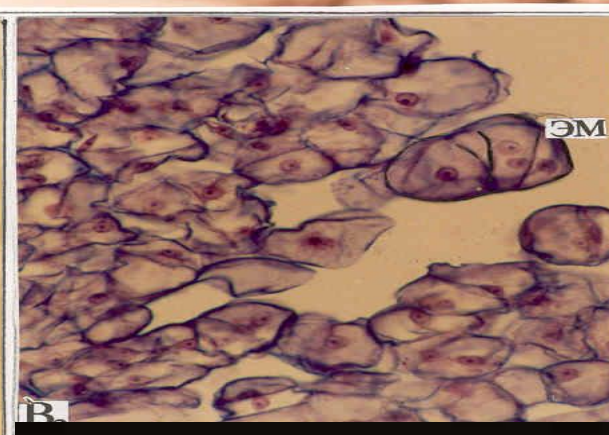
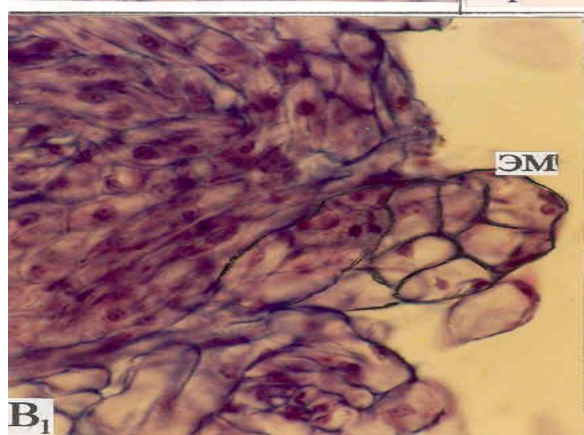
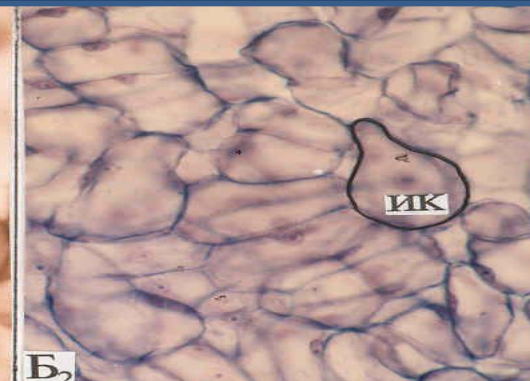
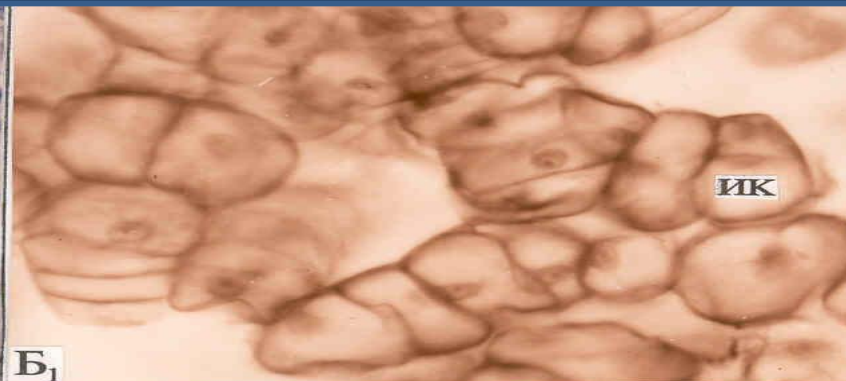
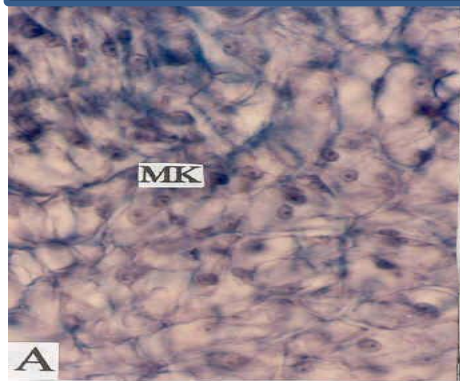
жүрекше



торпеда

Эмбриондтардың даму сатылары
(Стевард бойынша)

Стевия жапырактарынан түзілген эмбриогенді каллус



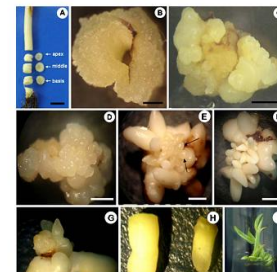
➤ **Сомалық эмбриогенез арқылы** - гвинеялық зәйтүн пальмасын (*Elaeis guineensis*) көбейтіледі.

➤ **Айқас тозаңданыптыңдан** оның ұрығынан тараған ұрпақтары өзгергіш келеді, осы себептен тұқыммен көбейту мүмкін емес;

➤ Табиғи жағдайда зәйтүн пальмада **өркендер мен жанама өркендер өспейді** (бүршік меристема арқылы көбейтілмейді);

➤ Сондықтан өсімдікті көбейту мақсатында **аралық каллус** арқылы эмбриондар өсіру қолданылады.

➤ Жылына **10** эмбриондан **500 000** өсімдік алынады.



Commercial oil palm tissue culture laboratory with two million plantlet production capacity



Сомалық ұрықтар – толық қалыптасқан ұрықтар болып табылады, оларды капсулаға салу (полимер - натрий альгинатпен өңдеу) арқылы *жасанды ұрықтар алуға болады*

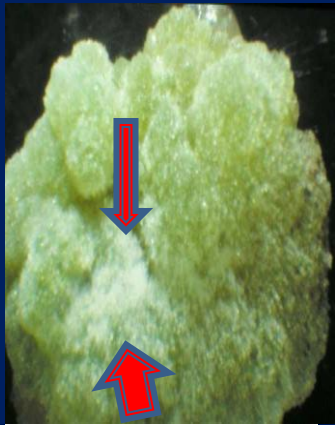
Жасанды тұқым – полимер қабығымен қапталған эмбрионидтарды атайды

Қабықша:

- *суды ұстайтын,*
- *асептикалық жағдайды қамтамасыз ететін,*
- *қоректік заттармен толтыру мүмкіндігі*



В) Алғашқы және көшірілген каллустық ұлпалардан бүршіктердің дамуы



каллус

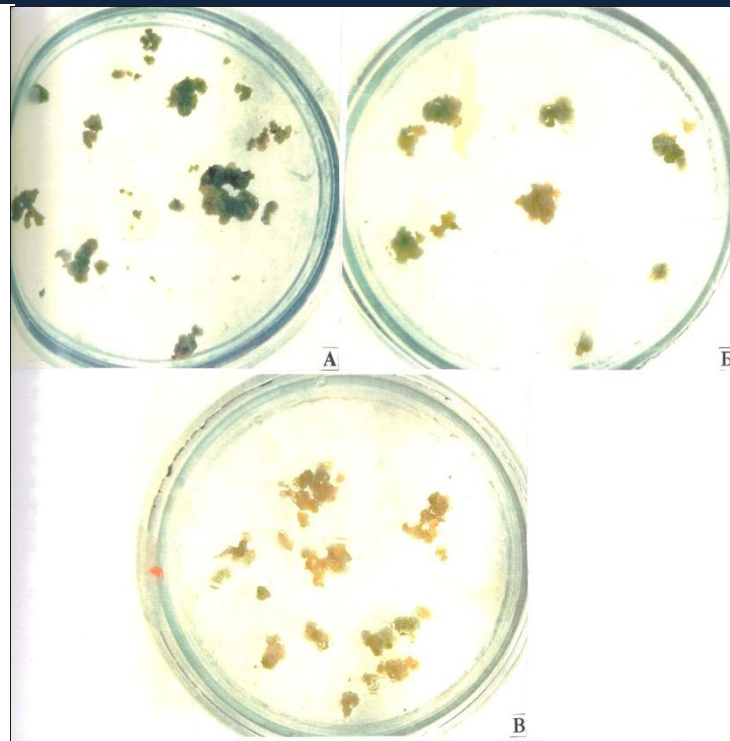
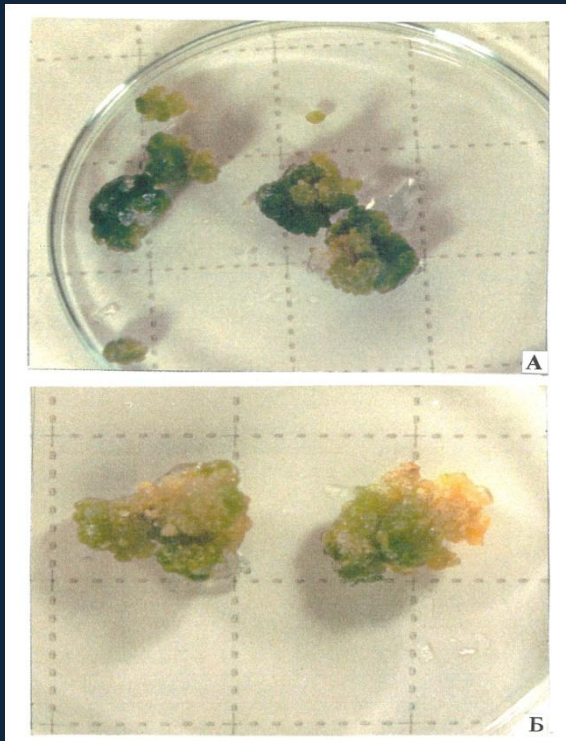


бүршіктер



Регенерант-өсімдік

Стевия экспланттарынан түзілген каллус ұлпалары



Сабақ кесінділерінен түзілген каллустар:

MS ортасы А) 5,0 мг/л НСКҚ +5,0 мг/л БАП;

В) 1,0 мг/л НСКҚ +1,0 мг/л БАП

Жапырақ кесінділерінен түзілген каллустар:

MS ортасы А) 0,5 мг/л НСКҚ +0,5 мг/л БАП; В) 1,0 мг/л НСКҚ+1,0 мг/л БАП; С) 2,0

мг/л НСКҚ+2,0 мг/л БАП

Гүл бүршіктерден түзілген каллустар: MS сұйық ортасы + 2,0 мг/л БАП

Стевияның каллустық ұлпаларындағы геммогенез процесі



А



Б



В

Жапырақ каллустарының бүршіктенуі MS ортасы А) 0,25 мг/л НСКҚ+ 2,0мг/л БАП; Б) 2,0 мг/л БАП; В) 1,0 мг/л Кинетин



Г

Сабақ каллустарының бүршіктенуі MS ортасы +1,0 мг/л НСКҚ +1,0 мг/л БАП



Жапырақ каллустарының бүршіктенуі А) MS –сұйық орта + 2,0 мг/л БАП



Гүл бүршіктерінің геммогенезі MS- сұйық орта+2,0 мг/л БАП

Әдістің кемшілігі

➤ Гендік мутациялар жоғарылайды (полиплоидтық, анеуплоидтық, клеткалар саны өседі, хромосоманың құрылымы өзгеріп аберранттық клеткалар көбейеді).

➤ Морфологиялық өзгерістерге (өсімдік қысқа, жапырақтарының жүйкеленуі бұрыс, буын аралықтары қысқа, патогенді аурулар мен зиянкестерге төзімсіз) ұшырайды.

➤ Бұл әдісті каллустары тұрақты немесе регенераттарда пайда болған өзгерістер табиғи өзгергіштіктен аспайтын өсімдіктерге ғана пайдаланылады !!!

Әдістің артықшылығы

- **Селекциялық жұмыста** маңызы зор.
- Өсімдік клеткалары мен ұлпа культураларын зерттеу арқылы бірқатар **морфофизиологиялық және биохимиялық процестердің негізін ашуға** және оларды **бақылауға** мүмкіндік туады.
- Кейбір өсімдіктер үшін - **көбейтудің жалғыз жолы** болуы мүмкін.

Қаллустық культуралар арқылы:

- ✓ қант қызылшасы,
- ✓ астық тұқымдастар,
- ✓ Brassica туысының өкілдері (қырыққабаттың барлық түрлері),
- ✓ күнбағыс т.б. культураларды алуға болады.

РАХМЕТ!!!