



ӘЛ-ФАРАБИ АТЫНДАҒЫ ҚАЗАҚ ҰЛТТЫҚ УНИВЕРСИТЕТІ

Факультет Биология және биотехнология

Курстың атауы: «Ауылшаруашылық өсімдіктердің биотехнологиясы»

Автордың аты-жөні: Асрандина Салтанат Шынтаевна
ғылыми дәрежесі, қызметі: б.ғ.к., доцент, профессор м.а.

2-модуль

Ауылшаруашылық өсімдіктерді *in vitro* жағдайында сауықтыру және көбейту технологиялары.

5 дәріс

Ауылшаруашылық өсімдіктерді *in vitro* жағдайында көбейту әдістері

Жоспар

1. Ағаштарды *in vitro* жағдайында өркен культуралары арқылы көбейту.
2. *In vitro* жағдайында ағаш өсімдіктерін көбейтуде болатын генетикалық ауытқулар.
3. *In vitro* жағдайында ағаштарды көбейту әдісін қоладну.

Негізгі әдістер

➤ Өркендерді өсіру культурасы

(жеміс, орман және декоративті ағаштар):

- ✓ Қолтық бүршіктер арқылы көбейту;
- ✓ Қосалқы бүршіктер арқылы көбейту;

➤ Каллустық культура (өте сирек қолданылатын әдіс, Citrus және гвинеялық зәтүн пальмасы):

- ✓ каллустың бүршіктенуі арқылы регенерация;
- ✓ эмбриоидогенез

- Ағаштарды дәстүрлі әдіспен және in vitro жағдайында вегетативті көбейтуге ювенильді формалаарды қолданады.
- Өскіндердің түзілуінен кейін олардың өсіп дамуын – ювенильді фазасы деп атайды.
- Бұл фазада өсімдіктің өсу қарқыны жоғары болады, жапырақтары ерекше формалы, кейде тікенектері болуы мүмкін, ал гүлдеуге қабілетсіз болады.
- Ағаштардың ювенильді күйі бірнеше жылдарға созылады.
- Ағаш гүлдеп, жеміс беріп тұқым берген соң ересек даму күйіне көшеді. Осыдан кейін ағаш вегетативті көбею қабілетіне ие болады.
- Әйтсе де ересек өсімдіктің кейбір ұлпалары жас өркендеге тән физиологиялық қасиеттерге ие болады. Мәселен, қосалқы тамырлардың пайда болуы. Осындай ұлпаларды реювенилизацияланған (қайта ювенильденген) деп атайды.

In vitro жағдайында ағаштарды бүршік культурасы арқылы көбейту

- Әдістер. Шөптесін өсімдіктерді көбейтуге арналған әдістер қолданылады.
- Бастапқы саты. Ересек ағаштан алынатын экспланттар үшін ұлпалардың физиологиялық күйіне мән беру керек. Жалпы ересек ағаштардан (егер ол ювенилизацияланған болмаса) алынған экспланттар in vitro жағдайында нашар өседі немесе мүлдем өспейді.

Реювенилизация



Табиғи жағдайда
жүзеге асады,

Кейбір ағаш түрлерінің тамырларынан жақсы дамыған, берік өрендер дамиды немесе бүршіктер (лигнификацияланған түйіндерден, *Eucalyptus spp.*) қаулап өседі.

Жасанды жолмен
жүргізіледі,

- өркендерді телу;
- өркендерді кесу;
- тыңайтқыштардың жоғары концентрациясын қолдану;
- цитокинидермен бүрку

Экспланттарды залалсыздандыруу:



Экспланттарды
микроорганизмдерден
тазарту мақсатында
натрий гипохлоридін
немесе кальций
гипохлоридін
қолданады



Декоративті
ағаштарды
(микроорганизмдер
терең ұлпа
қабаттарына
тарайтындықтан)
антибиотиктер және
фунгицидтемен
өңдейді

Қоректік орта құрамы

Қоректік ортаға: минералды тұздар, 2-3 % сахароза, витаминдер мен өсу регуляторлары қосылады (МС ортасы).

1 мг/л БАП – қолтық бүршіктерді және қосалқы бүршіктерді көбейтуге қолданылады;

ИМК, гибберелл қышқылы A_3 – өркендердің ұзарып-өсуіне әсер етеді;

Фенолды қосылыс – 150 мг/л флороглюцин (1,3,5,-тригидроксибензен) өркендердің (алма т.б. ағаштар) көбеюін жеңілдетеді.

- Активтенген көмір (2 %) – жалаңаш тұқымдастар өркендерінің дамуына қажетті қоректік ортаның маңызды компоненті.
- Активтенген көмір өсімдіктің ұлпалары бөліп шығаратын өсуді тежейтін ингибиторларды адсорбциялайды,
- Активтенген көмір құрамында монофениламин түріндегі қоспалар (өсуді ырықтандыратын) болады.
- Қоректік орта рН 5,2-5,8.
- Қоректік орта қатты немесе сұйық болады.
- Өркендерді ауксин қосылған қоректік орталарда өсіреді.
- Өсіру жағдайлары: температура 20-30 °С;
- 2000 люкс жарық, 18 сағаттық фотопериод.

Өркендердің көбеюі

➤ Ювенильді материал. Тұқым немесе өскіндерден оқшаулап алынған экспланттар. *Betula* (қайың), *Cinchona*, *Coffea*, *Eucalyptus*, *Liquidambar*, *Pinus* (қарағай), *Piceae* (шырша), *Pseudotsuga*

➤ Ересек өсімдіктер - жабық тұқымдастар.

Экспланттарды ағаштағы жас өркендерден, тікпе көшеттерден алады.

а) жеміс ағаштар, мәселен телітуші немесе телінген алма ағаштары, телінген алмурт ағашы, телітуші өрік;

б) орман және декоративті ағаштар: *Fagus* (шамшат) *Quercus* (емен), *Ulmus* (бяз), *Tectona*, *Mijgnjlia*, *Salix* (тал)

- Ересек өсімдіктер – жалаңаш тұқымдастар

Тез көбейту мақсатында
реювенилизацияланған ұлпалар қолданылады.

➤ Табиғи жағдайда реювенилизацияланған өсімдік - *Sequoia sempervirens*

➤ Жасанды жолмен реювенилизацияланған өсімдік – *Pinus pinaster* алынады.

➤ Телінген өсімдіктерден де алынады.

Тамырландыру

**жабық тұқымдастарда
70 %**



**Тамырландыруға
арналған қоректік
орталарда 4-6 апта
аралығында
тамырланады**

**Ауксин ерітіндісіне
малынған өркендер
компостта бірден
тамырлану жүзеге
асады**

- Жалаңаш тұқымдастардың тамырлануы (тіпті, тұқымнан немесе өскіндерден алынған экспланттардан пайда болған өркендердің) жабық тұқымдастарға қарағанда өте баяу, әрі қиын жүреді.
- Әйтсе де кейбір ағаш түрлері *S.sempervirens*, *R.pinaster* компостта бірден тамырланатындығы байқалған.
- Алайда, тамырланған өркендер – плагиотропты болады (әсіресе, *Pseudotsuga menziesii*), олар орман жағдайына көшіруге жарамсыз болады.

In vitro жағдайында реовенилизациялау

- Табиғи жағдайда реовенилизация қасиеті тән ағаштарды (алма ағаштарының әр түрлі сорттары) *in vitro* жағдайында жасарту жылдам жүзеге асады.
- In vitro жағдайында флороглюциннің (ФГ) алма ағашын жасартуға тигізетін әсері -алма қалемшелерінің қарқынды өсіп-дамуына және тамырлануына тек алғашқы 3 айда ғана тиімді болған. Ал кейбір алманың сорттарында ФГ ұзақ уақыт қоретік ортада болғанда ғана өсуі мен тамырлануы жүзеге асатыны дәлелденген.
- Сонымен қатар кейбір алма сорттарының *топыраққа бейімделуін арттыратыны* байқалған.

➤ Рутин, кверцестин

Каллустық культура арқылы ағаштарды көбейту

Каллус

```
graph TD; A[Каллус] --> B[Тікелей адвентивті бүршіктердің өсуі]; A --> C[эмбриогенез];
```

Тікелей
адвентивті
бүршіктердің
өсуі

эмбриогенез

Әдістер

- Қоректік орта құрамына 2,4 Д мен НСК жоғары концентрациялар қосылады. Олардың өзара қатынасы зерттеуге сай таңдалады.
- Регенерант - өсімдіктер көбінесе ювенильді материалдардан жақсы өсіріледі.
- Сондай-ақ реювенилизацияланған материалдан да жақсы өседі.
- Ал қартайған ағаштардан алынған материалдардан регенеранттар алу тиімсіз болады.

- Нуцелярлы ұлпа. Бұл ұлпаны қартайған ағаштан (Citrus) алынған қатты жасарған ұлпа ретінде қарастыруға болады. Осы жолмен алынған клондар ата аналық формадан айнымайтын таза клондар болып табылады, олардың көбею коэффициенті өте жоғары болады.
- Сонымен қатар, осы жолмен алманың нуцелярлы ұлпасынан клондар алу мүмкіндігі бар. Бірақ алманың көбею коэффициенті әлде қайда төмен болады.
- Гвинеялық зәйтүн пальмасының каллустық ұлпа арқылы көбеюі.
- жапырақтардан немесе тамырлардан алынған экспланттарынан түзілген эмбриогенді каллустардан өсімдік-регенеранттар алынады.

- **Топырақта регенеранттардың тамырлануы**

Регенеранттар

Аралық саты.

**3-4 апта ЫЛҒАЛДЫЛЫҒЫ жоғары
жылыжайларда өсіру**

**Ылғалдылықты біртіндеп азайту, бұл жағдай
да өскіндерге ерекше күтім қажет.
Өсімдіктің су режимін қадағалау керек.
(алма ағаштарына антитранспиранттар
қолданылады)**

In vitro жағдайында ағаш өсімдіктерін көбейтуде болатын генетикалық ауытқулар

- Экспланттан тікелей бүршіктердің пайда болуы кезінде (полиплоидты клеткалардан полиплоидты өсімдік қалыптасады) туындауы мүмкін;
- Каллустық культурада цитологиялық ауытқулардың нәтижесінде мутант немесе полиплоидты регенерант - өсімдіктердің (*Populus spp*) пайда болуы. Бұл каллустағы паренхиматозды клеткалардың (2,4 Д, НСК әсерінен өсетін) көп болуынан туындайды.
- Алайда *Citrus* каллустық ұлпасы меристемалық клеткалардан тұрады, сондақтан каллустан түзілген регенерант-өсімдіктер генетикалық біркелкі болады.

In vitro жағдайында ағаштарды көбейту әдісін қоладану

- Ағаштарды жаппай көбейту;
- Инфекциядан таза материалды тасымалдау және сақтау;
- Селекциялық бағдарламалар жасау

Ағаш өсімдіктерін сауықтыру

- Апикалды меристемалар + жылумен өңдеу;
- Ағаштардың өскіндерін 3⁰С депонирлеу, сауықтырылған (алма) материалын ұзақ уақыт сақтау;
- Өсімдік –регенеранттарды нуцелярлы (Citrus) каллустан алу (патогендер тұқым арқылы сирек беріледі).

Алайда осы жолмен алынған өсімдіктер теріс ювенильді сипаттамаларға (тікенеңтердің болуы, пісіп жетілу кезеңі кеш жүреді) ие болады.

Қолданылған әдебиет тізімі:

1. Назаренко Л.В., Калашникова Е.А., Загорскина Н.В. Биотехнология. Москва: Изд. Юрайт, 2020. -390 с.
2. Загоскина Н.В., Назаренко Л.В. Основы биотехнологии. Москва: Изд. Юрайт, 2018. - 162 с.
3. Калашникова Е.А Клеточная инженерия растений: учебник и практикум для вузов. Москва: Изд. Юрайт, 2020. - 333 с.
4. Лутова Л. А., Матвеева Т. В. Генная и клеточная инженерия в биотехнологии высших растений. Изд.Эко-Вектор. 2016. - 245 с.

Ғаламтор-ресурстары:

<http://elibrary.kaznu.kz/ru>; <https://www.litres.ru>; <https://studfiles.net/preview/3600804/>;
<https://www.litres.ru>; portal.tpu.ru/fond2/download_doc/63313/ .