

Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті
Силлабус

Өсімдіктер биотехнологиясы негіздері
2017-2018 оқу жылының күзгі семестрі

| Пәннің коды | Пәннің атауы | Тип | Апта бойынша сағат саны | | | Кредит саны | ECTS |
|----------------------------------|--|---------|-------------------------|-------|----------------------|-----------------------|------|
| | | | Дәріс | Практ | Зертхан алық | | |
| OBR 2415 | Өсімдіктер биотехнологиясы негіздері | ММ 2 | 1 | - | 1 | 2 | 3 |
| Пререквизиттер | өсімдік физиологиясы, биохимия, генетика, молекулалық биология, микробиология. | | | | | | |
| Дәріскер | Асрандина Салтанат Шынтаевна, б.ғ.к., доцент | | | | Офис- сағаты | Сабақ кестесі бойынша | |
| e-mail | asalтанат@yandex.ru | | | | | | |
| Телефондары | 87022182278 | | | | Аудитория 413 | 404, 408, 415 | |
| Пәннің жалпы сипаттамасы | Өсімдік клеткалары мен ұлпа культураларын in vitro жағдайында өсірудің теориялық негіздері мен әдістері қамтылған. In vitro жағдайында өсірілетін өсімдік клеткаларынан экономикалық маңызды өнімдерді шығару технологиясы, клондық микроекөбейту әдістері, гаплоидтық технология, клеткалық селекция, клеткалық және гендік инженерия технологиялары жан-жақты қарастырылады. | | | | | | |
| Курстың мақсаты | Қазіргі заманның талабына сәйкес, студенттерге in vitro жағдайында өсірілетін өсімдік клеткаларының биологиясы жөнінде білім беру және өсімдіктер биотехнологиясының барлық негізгі салаларын қамтитын ғылыми-теориялық және практикалық негіздермен таныстыру. | | | | | | |
| Оқыту нәтижелері | <ol style="list-style-type: none"> 1. Зертханалық техникалық қауіпсіздік ережелерімен танысады; Өсімдіктер биотехнологиясы саласындағы зерттеулердің негізгі принциптері мен әдістерін игереді. 2. Өсімдіктер клеткалар мен ұлпаларын in vitro жағдайында өсіруге арналған жасанды (Мурасиге - Скуг, Линсмайер - Скуг) қоректік орталарды дайындау әдістерін игереді. 3. Қоректік орта компоненттеріне қажетті тұздардың, витаминдердің, гормондардың ерітінділерін жасауды үйренеді. 4. Бастапқы өсімдік материалдарын залалсыздандыру әдістерін, одан эксплантты бөліп алу, оларды қоректік орталарға отырғызу және өсіру тәсілдерін меңгереді. 5. Зертханалық жұмыстарды орындауды дұрыс жоспарлауға, жұмыс орнын дайындауға, зерттеу объектілермен, реактивтермен және зертханалық құрал – жабдықтармен (автоклав, ламинар бокс, ультра күлгін шам, термостат, кептіргіш шкаф т.б.) жұмыс істеуге машықтанады. 6. Зертханалық сабақтарда орындалған зерттеу жұмыстары (жеке, топтық) бойынша алынған мәліметтерді статистикалық өңдеуден өткізуге, алынған нәтижелер бойынша тиісті тұжырымдар мен қорытындылар жасауға, соның нәтижесінде ғылыми есеп жазуға, оны көпшілік алдында талқыға салуға және қорғауға машықтанады. 7. Ғылыми жобаларды жоспарлауға, жобалауға және оларды орындауға, өзіндік көзқарастарын қалыптастыра білуге, өз ойларын дұрыс әрі жүйелі түрде жеткізе білуге машықтанады. 8. Студенттердің өзіндік жұмыстарын орындау барысында ТМД және шетел әдебиет көздеріне ізденіс жұмыстарын жүргізуге, жиналған материалдарды жүйелі түрде талдауға және оларды сын тұрғысынан бағалауға, әдеби шолу жүргізуге, конспекттеуге, рефераттық жұмыстар мен презентациялар жасауға, оларды қорғауға машықтанады. | | | | | | |
| Курстың ұйымдастырылуы | Студенттерге «Өсімдіктер биотехнологиясы негіздері» курсы бойынша білім беру және оқыту бағдарламасы дәрістермен, зертханалық сабақтармен, жеке дара тұлғаға арналған тапсырмалар және топтық жобалармен қамтылған. Бұл оқытудың түрлі формалары студенттерге осы пәннің теориялық және практикалық негіздерін, методологиясын терең әрі - жан жақты игеруге мүмкіндік береді. | | | | | | |
| Курсқа қойылатын талаптар | <ol style="list-style-type: none"> 1. Әрбір аудиторлық сабаққа төменде келтірілген кестеге сәйкес алдын-ала дайындықпен келу қажет. Берілген тапсырмалар аудиториялық сабаққа дейін толық орындалып, аяқталуы тиіс. 2. СӨЖ тапсырмалары (реферат, презентация, бақылау жұмыстары) семестр бойы, кестеге сәйкес беріледі. 3. Студенттер тобы белгілі бір тақырыпқа сай (жоба тақырыбы оқытушымен бірге талқыланып, таңдалады) ғылыми жобаны жоспарлап, рәсімдейді. Осы жобаны қамтитын шағын зерттеу жұмыстарын тәжірибе жүзінде орындап, зерттеу нәтижесінде алынған нәтижелердің сапасын бағалап, алынған нәтижелер бойынша тиісті тұжырымдар мен қорытындылар жасауға, соның нәтижесінде ғылыми есеп жазуға, оны көпшілік алдында талқыға салуға міндетті. | | | | | | |

Жұмыс №1. Сәбiздiң өзектiк паренхимасының каллусогенез белсендiлiгiн зерттеу

Өсiмдiк клеткасына тотипотенттiк қасиет тән. Тотипотенттiк дегенiмiз – жекешеленген клеткалардың көбейе өсiп, толыққанды бүтiн организмге айналу қабiлетi. Көп клеткалы организмдердiң әр клеткасында толық нәсiлдiк мағлұматтар жиынтығы болады. Тотипотенттiк осыған негiзделген. Кез келген өсiмдiктiң оқшауланып алынған мүшелерi мен ұлпаларын қолайлы жағдайда өсiргенде олардан маманданбаған клеткалар тобы-каллус түзiледi. Ал таби жағдайда, каллус өсiмдiктiң жарақаттанған жерiнде шорлана бiтiп қорғаныштық және бұзылған анатомиялық құрылымдарды қалпына келтiру үшiн қоректiк заттарды жинау қызметiн атқарады. Каллус деп клеткалардың пролиферациялану нәтижесiнде түзiлген ұлпаларды айтады. Пролиферация - бастапқы клеткалардың бөлiнуi жолымен жедел көбеюi. Маманданған клеткалардың пролиферациялануын дедифференциация деп айтады. Бұл процестiң негiзiнде гендердiң дифференциалды белсендiлiгi жатады. Клеткалардың құрылымы мен қызметi гендердiң ырықтығына байланысты. Организмдегi клеткалардың құрылымы мен атқаратын қызметiнiң өзгеруiне себепшi әр түрлi гендердiң экспрессиясы болып табылады. Яғни, клеткалардың мамандануы көптеген гендердiң әрекеттесуiне байланысты. Организмнiң барлық клеткалардыңда гендерi бiрдей болса да олардың бәрi бiр мезгiлде әрекеттенбейдi. Әдетте гендердiң бiразы ғана (5 %) белсендi болады.

In vitro жағдайында каллус көбiнесе алғашқы немесе қайталама меристемадан пайда болады. Сондай-ақ, меристемаға немесе өткiзгiш ұлпаларға жанасып жатқан паренхимадан да пайда болады. Каллус ұлпасы жұқа қабырғалы анатомиялық құрылысы жоқ паренхималық клеткалардан тұратын аморфты масса. Каллус ұлпаларының бәрi бiрдей, бiркелкi болмайды. Каллустар морфологиялық белгiлерi (тығыздығы, түктенуi, түсi) және өсу қарқындылығы мен көгеру қабiлетi жағынан әр алуан болады. Каллустың түсi ақшыл, сарғыш, қоңыр, қызғылт болады. Сонымен қатар, оның құрамында хлорофилл немесе антоциан пигменттерi болуы мүмкiн. Шығу тегiне және өсiру жағдайына байланысты каллустар тұтас тығыз немесе борпылдақ, шашыраңқы болып келедi. Каллус клеткаларының құрылуы, бөлiнуi және көбейiп өсуi фитогормондар табиғатына тәуелдi болады. Сонымен қатар, каллус клеткаларының түзiлуi мен өсу белсендiлiгiне қоректiк орта құрамы мен оның рН көрсеткiшi және температура, жарық және қараңғы, осмос қысымы т.б. жағдайлар әсер етедi. Сондай-ақ, өсiмдiк түрi, жасы мен физиологиялық күйi, экспланттың тегi мен оның көлемi, кейде оның қоректiк ортаға орналастыру ретiне де байланысты болады.

Сонымен, кез келген өсiмдiктiң мүшелерi мен ұлпаларынан жасанды қоректiк ортада каллус өсiрiп алуға болады. Каллус клеткаларында морфогенездiң әр түрлi процестерi өтуi мүмкiн. Оларға сомалық эмбриогенез немесе органогенез жолдары мен даму қабiлетi тән. Соның арқасында жеке – дара клеткалардан бүтiн регенерант өсiмдiк өндiрiп шығаруға болады. Бұл регенерация процесi өсiмдiк клеткаларының тотипотенттiлiгiн дәлелдейдi. Осы жолмен тез, қысқа уақыт аралығында тиiмдi морфогендi каллус алу өсiмдiктi вегетативтi жолмен көбейтуге негiз болады.

Мақсаты: сәбiздiң өзектiк паренхимасының каллусогенез белсендiлiгiне гормондардың тигiзетiн әсерiн анықтау.

Зерттеу объектiсi: сәбiздiң өзектiк паренхимасы.

Қажеттi материалдар мен құрал-жабдықтар: 1 л стакан немесе колба, 50 мл стакандар, 0,5-5 мл пипеткалар, 25 мл межеленген пробирка, цилиндрлер, шыны таяқшалар, Петри табақшалары, пинцет, скальпель, ине, мақта, алюминь фольгасы, қайшы, шпагат, крафт қағазы. Электр плитасы, рН –метр, магнит айналдырғышы, таразы, автоклав, ламинар боксы, ультракулгiн сәулелi шам, спирт шамы, сiрiңке. Тұздардың ерiтiндiлерi, мезоинозит, витаминдер, 2,4 Д ерiтiндiсi, сахароза, агар, спирт, 2,6%-натрий гипохлорид ерiтiндiсi ерiтiндiсi, б/ДН₂O.

Әдістеме. Жұмыс орнын дайындау, қажетті химиялық ыдыстарды, инструменттерді жиыстыру және оларды жуып тазалау.

Құрамында 0,7 % агар, 3 % сахароза, 2,4 Д (4 мг/л, 8 мг/л) және кинетин (1 мг/л, 2 мг/л) қосылған Мурасиге Скуг қоректік ортасын дайындау.

Зерттеу объектісін залалсыздандыру тәртібі: сәбізді ағынды сумен 20 минут жуу; KMnO_4 -әлсіз ерітіндісімен 30 минут өңдеу; дистильденген сумен 3 рет 5 минуттан шаю; 2,6 %-натрий гипохлорид ерітіндісімен 15 минут залалсыздандыру (ламинар бокстың астында); дистильденген сумен 3 рет шаю.

Залалсыздандырылған сәбізді ламинар бокстың ішінде Петри табақшасына салады. Осыдан кейін оны көлденеңнен кесіп (2,5-5 см дискідер) тұрайды. Дискілерді одан әрі жұқартып, олардағы өзектік паренхима тұсынан өте жұқа кесінділер алады. Алынған кесінділерді алып, құрамына 2,4 Д (2 мг/л, 4 мг/л) қосылған Мурасиге Скуг орталарына отырғызады. Экспланттардан каллус ұлпасы түзілгенге дейін температурасы $25 \pm 2^\circ\text{C}$, қараңғы камераға орналастырады. Ауаның ылғалдылығы 55-60 % болуы тиіс.

Бақылау жұмысын жүргізу. Бақылау жұмысы аптасына 2 рет жүргізіледі, яғни экспланттардың каллусогенез белсенділігін анықтау, каллус ұлпасына морфологиялық сипаттама (түрі, түсі, ылғалдылығы, тығыздығы) беру, каллустың өсу қарқынын анықтау (ауданы, биомассасы) жұмыстары жүргізіледі. Тәжірибе соңында алынған мәліметтерді математикалық өңдеуден өткізеді.

Тәжірибе нәтижесінде алынған мәліметтерді Н.Л.Удольскаяның (1976 ж.) Г.Ф.Лакиннің (1990 ж.) әдістемелері бойынша статистикалық өңдеуден өткізеді.

$$M = \frac{\sum V}{n} \quad (1) \quad \text{мұндағы: } M \text{ – арифметикалық орташа шама; } V \text{ - биометриялық өлшем бірліктері; } n \text{ - қайталану;}$$

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum (V - M)^2}{n - 1}} \quad (2) \quad \text{мұндағы: } \sigma \text{ – квадраттық орташа шама;}$$

$$m = \frac{\sigma}{\sqrt{n}} \quad (3) \quad \text{мұндағы: } m \text{ - ауытқу}$$

$$P = \frac{m * 100\%}{M} \quad (4) \quad \text{мұндағы: } P \text{ – тәжірибенің дәлдігі}$$

Зерттеу нәтижесінде тиісті ғылыми-теориялық қорытындылар мен тұжырымдар жасалады. Олардың негізінде есеп құрастырылады. Есепте өңдеуден өткізілген соңғы мәліметтерді кесте, сурет, қисық сызық, нұсқа т.б. түрінде көрсетеді.

Жұмыс 2. Бидайдан бөліп алған ұрықтардың каллус түзу белсенділігін анықтау

Мақсаты: бидай ұрықтарының каллус түзу белсенділігіне 2,4 Д мен кинетиннің тигізетін әсерін анықтау.

Зерттеу объектісі: бидай тұқымдары.

Қажетті материалдар мен құрал-жабдықтар: 1 л стакан немесе колба, 50 мл стакандар, 0,5-5 мл пипеткалар, 25 мл межелеген пробирка, цилиндрлер, шыны таяқшалар, Петри табақшалары, пинцет, скальпель, ине, мақта, алюминь фольгасы, қайшы, шпагат, крафт қағазы. Электр плитасы, рН –метр, магнит айналдырғышы, таразы, автоклав, ламинар боксы, ультракулгін сәулелі шам, спирт шамы, сіріңке. Тұздардың ерітінділері, мезоинозит, витаминдер, 2,4 Д ерітіндісі, кинетин ерітіндісі, сахароза, агар, спирт, 2,6%-натрий гипохлорид ерітіндісі ерітіндісі, б/ДН₂О.

Әдістеме. Жұмыс орнын дайындау, қажетті химиялық ыдыстарды, инструменттерді жиыстыру және оларды жуып тазалау.

Құрамында 0,7 % агар, 3 % сахароза, 2,4 Д (4 мг/л, 8 мг/л) және кинетин (1 мг/л, 2 мг/л) қосылған Мурасиге Скуг қоректік ортасын дайындау.

Зерттеу объектісін залалсыздандыру тәртібі: бидай тұқымдарын ағынды сумен 20 минут жуу; КМnO₄ -әлсіз ерітіндісімен 30 минут өңдеу; дистильденген сумен 3 рет 5 минуттан шаю; 2,6 %-натрий гипохлорид ерітіндісімен 10 минут залалсыздандыру (ламинар бокстың астында); дистильденген сумен 3 рет шаю.

Залалсыздандырылған бидай тұқымдарынан пісіп жетілмеген ұрығын иненің ұшымен бөліп алып, құрамына 2,4 Д (4 мг/л, 8 мг/л) және кинетин (4 мг/л, 8 мг/л) қосылған Мурасиге Скуг орталарына отырғызады. Отырғызылған ұрықтарды каллус ұлпасы түзілгенге дейін температурасы 25±2⁰С, қараңғы камераға орналастырады. Каллус ұлпаларын өсіру үшін температурасы 25±2⁰С, ауаның ылғалдылығы 55-60 %, жарық камераға ауыстырады.

Бақылау жұмысын жүргізу тәртібі №1-ші жұмыста берілген.

Зерттеу нәтижесінде тиісті қорытындылар мен тұжырмар жасалады. Олардың негізінде есеп құрастырылады. Есепте өңдеуден өткізілген соңғы мәліметтерді кесте, сурет, қисық сызық, нұсқа т.б. түрінде көрсетеді.

Жұмыс №3. Сәбіздің өзектік паренхимасынан түзілген каллус ұлпаларының морфогенез және регенерация белсенділігіне гормондардың тигізетін әсерін зерттеу

Мақсаты: каллус ұлпаларының морфогенез және регенерация белсенділіктеріне гормондардың тигізетін әсерін айқындау.

Зерттеу объектісі: сәбіздің өзектік паренхимасынан түзілген каллус ұлпалары.

Қажетті материалдар мен құрал-жабдықтар: 1 л стакан немесе колба, 50 мл стакандар, 0,5-5 мл пипеткалар, 25 мл межелеген пробирка, цилиндрлер, шыны таяқшалар, Петри табақшалары, пинцет, скальпель, ине, мақта, алюминь фольгасы, қайшы, шпагат, крафт қағазы. Электр плитасы, рН –метр, магнит айналдырғышы, таразы, автоклав, ламинар боксы, ультракулгін сәулелі шам, спирт шамы, сіріңке. Тұздардың ерітінділері, мезоинозит, витаминдер, сахароза, агар, спирт, б/ДН₂О.

Әдістеме. Каллус ұлпаларын скальпельмен біркелкі бөліктерге (30±5 мг) бөліп, құрамына әр түрлі гормондар қосылған Мурасиге Скуг орталарына отырғызады. Отырғызылған экспланттарды ауаның ылғалдылығы 55-60 %, температурасы 25±2⁰С, 16 сағаттық фотопериодтық жарық камерада өсіреді.

Бақылау жұмысы аптасына 2 рет жүргізіледі. Бақылауда каллус ұлпаларының өсу белсенділігін, каллус ұлпаларының морфологиялық сипаттамаларын, метаморфоздық қасиеттері сипатталады. Зерттеу тақырыбына сәйкес, каллус ұлпаларының морфогенез және органогенезге қабілеттілігі айқындалады. Тәжірибе соңында алынған мәліметтерді

математикалық өңдеуден өткізіп (өңдеу формулалары 1-ші жұмыста берілген), тиісті қорытындылар мен тұжырымдар жасалады. Олардың негізінде есеп құрастырылады. Есепте өңдеуден өткізілген соңғы мәліметтерді кесте, сурет, қисық сызық, нұсқа т.б. түрінде көрсетеді.

Жұмыс №4 Бидай ұрықтарынан түзілген каллус ұлпаларының морфогенез және регенерация белсенділігін зерттеу

Мақсаты: каллус ұлпаларының морфогенез және регенерация белсенділіктеріне гормондардың тигізетін әсерін айқындау.

Зерттеу объектісі: бидай ұрықтарынан түзілген каллус ұлпалары.

Қажетті материалдар мен құрал-жабдықтар: 1 л стакан немесе колба, 50 мл стакандар, 0,5-5 мл пипеткалар, 25 мл межеленген пробирка, цилиндрлер, шыны таяқшалар, Петри табақшалары, пинцет, скальпель, ине, мақта, алюминий фольгасы, қайшы, шпагат, крафт қағазы. Электр плитасы, рН –метр, магнит айналдырғышы, таразы, автоклав, ламинар боксы, ультракулгін сәулелі шам, спирт шамы, сіріңке. Тұздардың ерітінділері, мезоинозит, витаминдер, сахароза, агар, спирт, б/ДН₂O.

Әдістеме. Каллус ұлпаларын скальпельмен біркелкі бөліктерге (30±5 мг) бөліп, құрамына әр түрлі гормондар қосылған Мурасиге Скуг орталарына отырғызады. Отырғызылған экспланттарды ауаның ылғалдылығы 55-60 %, температурасы 25±2⁰С, 16 сағаттық фотопериодтық жарық камерада өсіреді.

Бақылау жұмысын жүргізу аптасына 2 рет жүргізіледі, яғни каллус ұлпаларының өсу белсенділігін, каллус ұлпаларының морфологиялық сипаттамаларын, метаморфоздық қасиеттері сипатталады. Зерттеу тақырыбына сәйкес, каллус ұлпаларының морфогенез және органогенезге қабілеттілігін айқындау жұмыстары жүргізіледі. Тәжірибе соңында алынған мәліметтерді математикалық өңдеуден өткізіп (1-ші жұмысты қараңыз), тиісті қорытындылар мен тұжырымдар жасалады. Олардың негізінде есеп құрастырылады. Есепте өңдеуден өткізілген соңғы мәліметтерді кесте, сурет, қисық сызық, нұсқа т.б. түрінде көрсетеді.

Жұмыс №5. Стевияны, қазтамақ т.б. өсімдіктерді қолтық бүршік арқылы in vitro жағдайында көбейту

Қолтық бүршіктердің дамуын қоздырып және олардан шыққан қолтық өркендерді пайдалану микрокөбейтудегі ең кең тараған әдіс. Бүгін өсімдікте қолтық бүршіктердің өсуін сабақ ұшындағы апекс тежейтіндігі белгілі. Қолтық бүршік меристемасының өсуін үдету сабақтың ұшын кесіп тастау немесе цитокининмен өңдеу нәтижесінде жүзеге асырылады. In vitro жағдайында қолтық бүршіктерін оятып өсіру әдісімен жеміс-жидектерді, әсемдік өсімдіктерді, қартопты, қырыққабатты т.б. өсімдіктерді көбейтеді.

Стевия, қазтамақ т.б. өсімдігінің әр буынында бір-біріне қарама-қарсы орналасқан екі жапырақ қалыптасады. Әр буында 2 қолтық бүршік болады. Осы қос бүршігі бар микроқалмшелерді (15 мм) жасанды қоректік ортаға отырғызып, оптималды температура мен жарықта және ылғалдылықта экспозициялайды.

Мақсаты: клондық микроқалемшелеу әдісінің негізінде стевияның көбейту коэффициентін жоғарылату.

Зерттеу объектісі: дала жағдайында өскен стевияның 10-15 см жақсы жетілген, жас сабақтары.

Қажетті материалдар мен құрал-жабдықтар: 1 л стакан немесе колба, 10-50 мл стакандар, 1-5 мл пипеткалар, 25 мл межеленген пробиркалар, цилиндрлер, шыны

таяқшалар, Петри табақшалары, пинцет, скальпель, ине, мақта, алюминь фольгасы, қайшы, шпагат, крафт қағазы. Электр плитасы, рН –метр, магнит айналдырғышы, таразы, автоклав, ламинар боксы, ультракулгін сәулелі шам, спирт шамы, сіріңке. Тұздардың ерітінділері, мезоинозит, витаминдер, сахароза, агар, спирт, 0,1%-сулема ерітіндісі, Tween-60, б/ДН₂О.

Әдістеме. Жұмыс орнын дайындау, қажетті химиялық ыдыстарды, инструменттерді жиыстыру және оларды жуып тазалау. Жасанды қоректік ортаны дайындау.

Кесте. ½ Мурасиге Скуг ортасын дайындау нұсқасы

| № | Компоненттер | Қоректік орта құрамына қосылатын мөлшері |
|----|--|--|
| | | 1000 мл МС |
| 1 | Макроэлементтер ерітіндісі | 25 мл |
| 2 | Микроэлементтер ерітіндісі | 2,5 мл |
| 3 | Хелат-Fe –ерітіндісі | 2,5 мл |
| 4 | б/ДН ₂ О | 400мл |
| 5 | Сахароза | 30гр |
| 6 | Мезоинозит | 100 мг |
| 7 | Витамин тиамин –НСІ (В ₁) | 50 мл |
| 8 | Витамин пиридоксин –НСІ (В ₆) | 10 мл |
| 9 | Витамин никотин қышқылы (РР) | 20 мл |
| 10 | СаСІ ₂ | 10 мл |
| 11 | б/ДН ₂ О | 300 мл |
| 12 | рН-5,8-ге теңестіріледі | |
| 13 | Ерітіндіні электр плиткасында 60 С ⁰ -деін жылыту | |
| 14 | Агар | 7,0 гр |
| 15 | Қоректік ортаның мөлшерін | 1000 мл-ге жеткізу |

Егер, жұмысқа 1% никотин қышқылы (РР) қолданылса, онда оның 1 ампуласын 1 литр жасанды қоректік ортаға қосады.

Зерттеу объектісін залалсыздандыру тәртібі. In vivo-жағдайында өскен стевияның ұзындығы 10-15 см жас сабақтары қиып алынады. Осы сабақтарды мына тәртіппеп залалсыздандырады: ағынды сумен 20 минут жуу; КМnО₄ -әлсіз ерітіндісімен 30 минут өндеу; дистильденген сумен 3 рет 5 минуттан шаю; 1-2 тамшы Tween-60 қосылған 0,1%-сулемамен 15 минут залалсыздандыру; дистильденген сумен 3 рет шаю. Егер зерттеу жұмысына in vitro жағдайында өсірілген өсімдіктер алынса, олар залалсыздандырылмайды.

In vivo-жағдайында немесе in vitro-жағдайында өсірілген стевия өсімдігінің жас, екінші реттік сабақтарын залалсыздандырылған ортада қалемшелейді. Қос бұршігі бар микроқалмшелерді (15 мм) ½ Мурасиге Скуг ортасына отырғызып, температурасы 25±2⁰С, ауаның ылғалдылығы 55-60 %, 16 сағаттық фотопериодтық жарық камерада өсіреді.

Бақылау жұмысы күнделікті жүргізеді. Зерттеу нәтижесінде алынған мәліметтерді өңдеп, ғылыми тұрғыда қорытындылар жасалады.

Жұмыс №6. Стевия, қазтамақ т.б. өсімдіктердің қалемшелерін *in vitro* жағдайында тамырландыру

Клондық микрокөбейту әдісінің ең негізгі сатысы - регенерант өсімдіктерді *in vitro* жағдайында тамырландыру болып табылады.

Мақсаты: стевияның, қазтамақтың т.б. өсімдіктердің микроқалемшелерін *in vitro* жағдайында тамырландыру.

Зерттеу объектісі: *in vitro* жағдайында өсірілген стевияның 1,5-2 см микроқалемшелері.

Қажетті материалдар мен құрал-жабдықтар: 1 л стакан немесе колба, 10-50 мл стакандар, 1-5 мл пипеткалар, 25 мл межеленген пробиркалар, цилиндрлер, шыны таяқшалар, Петри табақшалары, пинцет, скальпель, ине, мақта, алюминий фольгасы, қайшы, шпагат, крафт қағазы. Таразы, электр плитасы, рН –метр, магнит айналдырғышы, автоклав, ламинар боксы, ультракулгін сәуле шамы, спирт шамы, сіріңке. Тұздардың ерітінділері, мезоинозит, витаминдер, сахароза, НСК, агар, спирт, б/ДН₂O.

Әдістеме. Жұмыс орнын дайындау, қажетті химиялық ыдыстарды, инструменттерді жиыстыру және оларды жуып тазалау. Жасанды қоректік ортаны дайындау.

Кесте. ½ Мурасиге Скуг ортасын (1000 мл) дайындау реті

| № | Компоненттер | Қоректік орта құрамына қосылатын мөлшері |
|----|--|--|
| 1 | Макроэлементтер ерітіндісі | 25 |
| 2 | Микроэлементтер ерітіндісі | 2,5 мл |
| 3 | Хелат-Fe –ерітіндісі | 2,5 мл |
| 4 | б/ДН ₂ O | 400мл |
| 5 | Сахароза | 30гр |
| 6 | Мезоинозит | 100 мг |
| 7 | Витамин тиамин –HCl (B ₁) | 50 мл |
| 8 | Витамин пиридоксин –HCl (B ₆) | 10 мл |
| 9 | Витамин никотин қышқылы (PP) | 20 мл |
| 10 | Гормон нафтил сірке қышқылы (НСК) | 0,1 мг/л |
| 11 | CaCl ₂ | 10 мл |
| 12 | б/ДН ₂ O | 300 мл |
| 13 | рН-5,8 теңестіріледі | |
| 14 | Ерітіндіні электр плиткасында 60 С ⁰ -деін жылыту | |
| 15 | Агар | 7,0 гр |
| 16 | Дайын ерітіндінің мөлшерін 1000 мл дейін жеткізу | |

In vitro-жағдайында өскен стевияның екінші реттік сабақтарынан алынған 10-15 мм сабақ кесінділерін қалемшелеп, құрамында 0,1 мг/л НСК қосылған ½ Мурасиге Скуг қатты және сұйық орталарына (микроқалемшені фильтр қағазынан жасалған көпіршеге орнатады) отырғызады. Пробиркалардың қоректік орта құйылған төменгі бөліктерін қара қағазбен орайды. Микроқалемшелерді температурасы 25±2⁰С, ауаның ылғалдылығы 55-60 %, 16 сағаттық фотопериодтық жарық камерада өсіреді.

Бақылау жұмысы күнделікті жүргізеді. Зерттеу барысында *in vitro* жағдайында стевия қалемшелерінің тамырлануына қолайлы жасанды қоректік ортаны (қатты және сұйық ½ MS) айқындау қажет. Алынған мәліметтер негізінде тиісті қорытындылар мен тұжырымдар жасалады.

Жұмыс №7. Өсімдік регенеранттарын сыртқы ортаға бейімдету және топыраққа көшіру

Өсімдікті микроклондық жолмен көбейтудің соңғы кезеңі - сыртқы ортаға бейімдету және топыраққа көшіру болып табылады.

Мақсаты: жақсы дамыған стевия регенеранттарын сыртқы ортаға бейімдету және топыраққа көшіру.

Зерттеу объектісі: стевия регенеранттары.

Қажетті материалдар мен құрал-жабдықтар: 5 мл пипетка, 10-50 мл стакандар, б/ДН₂O, шыны қақпақтар немесе 500-1000 мл стакандар, тазартылған құм мен топырақ, желім ыдыстар.

Әдістеме. Тамыры жақсы жетілген, әрі өсімдік ұзындығы пробирка қақпағына тіредген регенеранттарды таңдап алып, оларды жылы микроклиматтық жағдайда бейімдету мақсатында 10-14 тәулік пробиркалардың ауыздарын ашық қалдырады. Осы мерзім аралығында агар беті зеңденбес үшін 3-4 рет сумен дымқылдандырады. Көрсетілген мерзім аяғында өсімдік 2-3 буынға ұзарып, пробирка деңгейінен асып өседі. Пробиркалардан өсімдіктерді шығарып, олардың тамырларын агар қалдықтарынан тазартып жуады. Регенерант өсімдіктерді нематадтардан тазартылған топырақ пен құмның 1:1 қатынасында араластырылған ыдыстарға көшіріледі. Топыраққа көшіру 2 әдіспен жүргізіледі. Олар: 1) өркеннің жоғарғы бөлігін 3-4 буынға қысқартып, ал қалған 1-2 буынын тамырмен қоса топыраққа көму; 2) өркеннің жоғарғы 2-3 буындарын қалдырып, төменгі және ортаңғы буындарын жапырақсыз топырақтың жоғарғы қабатына көлбеу бағытта көму.

Өсімдік регенеранттарын топыраққа көшіргеннен кейін, аздап суғарып, 2-3 аптаға шыны қақпақпен жабылады. Алғашқы күндері өсімдіктерді суғарумен қатар шыны қақпақтарды 2-3 минут ашып, өсімдіктерді желдету керек. Біраз күннен кейін, өсімдіктердің бейімделу дәрежесіне қарай желдету уақытын 20 минутқа дейін біртіндеп өсіріп, ал аяғына қарай шыны қақпақтарды аздап көтеріп ауа кіретіндей етіп саңылау қалдырады. Сыртқы ортаға біртіндеп бейімделген, жақсы дамып жетілген өсімдіктер жылы жайдағы ванналарға немесе арнайы ыдыстарға көшіріледі.

Өсімдіктерді күнделікті бақылап, тиісті мәліметтерді жұмыс дәптеріне түсіру қажет. Тәжірибе барысында өсімдіктің сыртқы ортаға бейімделуіне жоғарыда көрсетілген 2-кі әдістің қайсысы қолайлы болатынын анықтап, себебін түсіндіру керек. Тәжірибе соңында тиісті қорытындалар мен тұжырымдар қамтылған есеп құрастырылады.

Негізгі әдебиет

1. Уәлиханова Г.Ж. Өсімдік биотехнологиясы. Алматы:ЖШС «Дәурен», 2009. - 336 б.
2. Щелкунов С.Н. Генная инженерия. Новосибирск. Изд-во Новосибирского государственного университета. 2004.
3. Загоскина Н.В., Назаренко Л.В., Е.А. Калашникова, Живухина Е.А. Биотехнология: теория и практика. Учебное пособие. Москва. «Оникс». 2009, 496 с.
4. Тұрашева С.Қ. Клеткалық биотехнология: Оқулық. Алматы: ЖШС РПБК «Дәуір». 2011. – 260 бет.
5. Асрандина С.Ш. Өсімдіктер биотехнологиясы курсы бойынша тест жинағы: оқу - әдістемелік құрал. - Алматы: Қазақ университеті, 2015. – 108 бет.

Қосымша:

1. Корочкин Л.И. Биология индивидуального развития (Генетический аспект) М. МГУ, 2002, 264 с.
2. Мухамбетжанов С.К., Валиханова Г.Ж., Ережепов А.Е. Методическое руководство к лабораторным занятиям по культуре тканей и биотехнологии растений. Шымкент, 2007.

3. Мухитдинова З.Р., Мурсалиева В.К., Нам С.В., Кушнарченко С.В., Мухамбетжанов С.К., Рахимбаев И.Р. Эмбриокультура пшеницы: методические рекомендации. Алматы, 2003. – 28 с.
4. Биотехнология биологически активных веществ /под ред. Грачевой И.М. – «Элевар». – 2006. – 456 с.

Зертханалық сабақтарға арналған әдебиет:

1. Валиханова Г.Ж. Өсімдіктер физиологиясының үлкен практикумына арналған әдістемелік нұсқау. Алматы, Республикалық баспа кабинеті, 1995, -33 бет.
2. Мухамбетжанов С.К., Валиханова Г.Ж., Ережепов А.Е. Методическое руководство к лабораторным занятиям по культуре тканей и биотехнологии растений. Шымкент, 2007.
3. Калинин Ф.Л., Сарнацкая В.В., Полищук В.Е. Методы культуры тканей в физиологии и биохимии растений. Киев, Наукова думка, 1980.

| Бағалау саясаты | Өзіндік жұмыстың сипаттамасы | | |
|-----------------------|--|--|--|
| Пәннің саясаты | Семинар сабағы СӨЖ тапсырмаларды орындау 1-ші АБ тапсыру 2-ші АБ тапсыру Аралық аттестация - Емтихан | Пайыз 35 % 10 % 15 % 40 % | Оқыту нәтижелері 1,4,7, 2,3,5,6,8 1-5 6-8 |
| | Барлығы: | 100 % | 1-8 |
| | Сіздің қорытынды бағаңыз төмендегі формуламен есептеледі: $\text{пән бойынша қорытынды баға} = \frac{PK1 + PK2}{2} \cdot 0,6 + 0,$ төменде минималды бағалар пайызбен көрсетілген: 95% - 100%: A 90% - 94%: A - 85% - 89%: B + 80% - 84%: B 75% - 79%: B - 70% - 74%: C + 65% - 69% : C 60% - 64%: C - 55% - 59%: D + 50% - 54%: D - 0% -49%: F | | |
| | Жұмыстардың барлық түрін көрсетілген мерзімде жасап тапсыру керек. Кезекті тапсырманы орындамаған, немесе 50% - дан кем балл алған студенттер бұл тапсырманы қосымша кесте бойынша қайта жасап, тапсыруына болады. Себепсіз сабақтан қалған, тапсырмалардың барлық түрін өткізбеген студенттер емтиханға жіберілмейді. Қорытынды бағалау кезінде студенттің сабақтағы белсенділігі мен сабаққа қатысуы ескеріледі. Толерантты болыңыз, яғни өзгенің пікірін сыйлаңыз. Қарсылығыңызды әдепті күйде білдіріңіз. Плагиат және басқа да әділсіздіктерге тыйым салынады. СӨЖ, аралық бақылау және қорытынды емтихан тапсыру кезінде көшіру мен сыбырлауға, басқа студент үшін емтихан тапсыруға тыйым салынады. | | |

Кафедра мәжілісінде қарастырылды

№ хаттама « » _____ 2016 ж.

Кафедра меңгерушісі, б.ғ.к., доцент _____ А.Б. Кистаубаева

Дәріс оқушы б.ғ.к., доцент _____ С.Ш. Асрандина