

А. Смағали¹, Н.А. Сапарбаева²¹И. Жансүгіров атындағы Жетісу мемлекеттік университеті, Талдықорған, Қазақстан;²Биотехнологиялық мәселелер институты, Талдықорған, Қазақстан
(E-mail: nurzik-sna@mail.ru)**Қара жемісті шетен (*Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott.) өсімдігінің
экспланттарын *in vitro* культурасына енгізу**

Мақалада қара жемісті шетен (*Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott.) өсімдігін *in vitro* культурасына енгізудің нәтижелері берілген. Микроклонды көбейтудің биотехнологиялық регламентын жасауда негіз болатын (*Aronia melanocarpa*.) өсімдігінің тұқымдары Қазақстанның Бас ботаникалық бағынан алынды. Ылғал перлитте тұқымдарды өсіру және 50 % тіршілікке қабілетті өркендерді алуға мүмкіндік беретін 7 мин бойы 0,1 % HgCl₂ ерітіндісінде өскіндердің апекстерін залалсыздандыру жағдайлары таңдалды. Өсімдік материалын *in vitro* культурасында 523 арнайы ортасында эндофитт инфекцияға тексеру арқылы 100 % асептикалық материал алынды. (*Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott.) өсімдігінің үлгісінен жасалған *in vitro* асептикалық коллекциясы микроклонды көбейту үшін, сондай-ақ элиталы телімбактарды отырғызуда және генетикалық ресурстармен алмасуда қолданылады. Зерттеулер нәтижесінде қара жемісті шетен (*Aronia melanocarpa*) өсімдігінің жасыл өркендерді залалсыздандыру үшін екі сатылы өңдеу жүргізілді. Бірінші сатыда залалсыздандырушы агент ретінде 70 % этил спирті, екінші сатыда 3 % судың асқын тотығы пайдаланылды. Сонымен, асептикалық таза өскіндерді алу мақсатымен қара жемісті шетенді (*Aronia melanocarpa*) *in vitro* культурасына енгізу үшін залалсыздандырудың екі сатыдан тұратын екі түрлі тәсілі қолданылды.

Кілт сөздер: *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott., тұқымды өсіру, *in vitro* культурасына енгізу, өркен, телімбак, генетикалық ресурс, жеміс, коллекция, апекстер, залалсыздандыру.

Kipicne

Қазіргі таңда ғылыми-техникалық прогресс қарқынды дамуына байланысты, адамзат өмірін жақсартумен қатар, табиғатқа орасан зор орны толмас зиян тигізуде. Осыған байланысты дүниежүзі халықтарының алдына қойылған басты міндеттерінің бірі қоршаған ортаны табиғи қалпында сақтау болып табылады. Қазіргі таңда табиғатқа өте жоғары қауіп төндіруші антропогендік фактор болғандықтан, биологиялық алуантүрлілікті сақтау ең негізгі және өзекті мәселелердің бірі болып табылады. Мұның дәлелі ретінде 1992 жылы 5 шілдеде Рио-де-Жанейрода Біріккен Ұлттар Ұйымының конференциясында «Биологиялық алуантүрлілік туралы конвенция» қабылданды. Оның басты мақсаты — биологиялық алуантүрлілікті сақтау әрі адамзат қажеттіліктерін қамтамасыз ету. Аталған Конвенцияға 180 мемлекет қол қойды. Биоалуантүрліліктің қоғам үшін экономикалық, әрі ғылыми маңызы зор [1, 2]. Соңғы кездегі климаттың өзгеруі және табиғаттағы жалпы тепе-теңдіктің бұзылуы салдарынан өсімдіктер жабыны, қауымдастықтары мен құрылымының түбегейлі өзгеруі, кейбір жағдайда белгілі бір түрлердің азайып не жойылып кетуіне алып келеді. Биологиялық алуантүрлілікті сақтап қалудың басты бірнеше себептері бар. Соның бірі қазіргі таңдағы басты мақсаттың бірі — адамның күнделікті қажеттілігін өтеуге пайдаланылатын жеміс-жидекті өсімдіктерді сақтап қалу. Қазіргі кездегі биологиялық алуантүрлілікті сақтап қалудың ең тиімді әдістерінің бірі — биотехнологиялық жолмен микроклонды көбейту әдісі болып табылады [1, 3, 4].

Негізгі бөлім

Зерттеу мақсаты: Қара жемісті шетен (*Aronia melanocarpa*) өсімдігі экспланттарын *in vitro* культурасына енгізу.

Зерттеу нысаны және әдістері: Қара жемісті шетен (*Aronia melanocarpa*) өсімдігі Ботаника және фитоинтродукция институтының құрамындағы Бас ботаника бағынан алынды. Қара жемісті шетен (*Aronia melanocarpa*) өсімдігі экспланттарын *in vitro* культурасына енгізу жұмыстары қаңтар-ақпан айларында жүргізілді. Зерттеу жұмысы барысында кесіп алынған біржылдық өркендер зертханалық жағдайда өсірілді. Қара жемісті шетен (*Aronia melanocarpa*) өсімдігін *in vitro* культурасына енгізу үшін қаңтар-ақпан айларында өлшемдері шамамен 35–40 см біржылдық өркендер кесіп алынды. Біржылдық өркендер шаң-тозаңнан арылту үшін, алдымен, сабынды сумен, кейін құрамында хлоры бар «Белизнаның» 1:10 қатынасындағы ерітіндісімен 7 мин бойы өңделді.

«Белизнаның» 1:10 қатынасындағы ерітіндісімен өңделген өркендер құбыр суымен бірнеше рет шайылып, эксплант ретінде қолданылатын өскіндер пайда болуы үшін 3–4 апта бойы зертханалық жағдайда суда өсірілді. Біржылдық өркендердің сулары күнде жаңартылып отырды. Біржылдық өркендердің бүршіктері оянып, бүршік атып шығуы үшін бөлме температурасында суға салынды. Суға салмас бұрын біржылдық өркендердің кесілген жерлері жаңартылды, яғни кесілген жерден тағы 1–2 см кесіп алынды. Жасыл өркендерді алу үшін суға қойылған біржылдық өркендердің жағдайы бақыланып, суы күнде жаңартылып отырды. Өйткені зертханалық жағдайда біржылдық өркендерден жасыл өркендер, яғни экспланттар алу үшін суға салып немесе Мурасиге-Скуг қоректік ортасында өсіру кезінде стресс жағдайы туындайды [5].

Зерттеу нәтижелері және талқылау. Қара жемісті шетен (*Aronia melanocarpa*) — раушангүлділер тұқымдасына жататын көпжылдық ағашты өсімдік. Биіктігі 10–15 м (1-сур.).



1-сурет. Қара жемісті шетен (*Aronia melanocarpa*)

Қабығы — сұрғылт түсті, жылтыр. Жапырақтары қауырсын тәрізді, кезектесіп орналасқан. Жапырақ сағағының ұзындығы 1,4–3,3 см, ұсақ жапырақтары әдетте 11–15-тен бірге тұрады. Пішіні жұмыртқа тәрізді, қандауыр секілді. Үшкір, жиегі өткір ара тісті, екі беті түксіз, жапырағы солғын жасыл түсті, жылтыр, күрделі шатырша гүл шоғы қысқа бұтағының басында орналасқан, гүлдері үлкен, көп, тостағанша жапырағы, ақ түсті 5, күлте жапырақшасы 5, аталығы 20–15. Жемісі кішкене шар пішіндес, түсі қызыл. Мамыр-маусым айларында гүлдейді. Гүлі майда, ақ, күлгін, қызыл түсті болып келеді. Моншақ тәрізді, қызыл түсті жемісі қыркүйек айында пісіп-жетіледі (2-сур.) [6–8].



2-сурет. Қара жемісті шетен (*Aronia melanocarpa*)

Дәрілік мақсатта жанадан үзілген және кепкен жемістері (*fructus* — *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott) пайдаланылады. Ағаш бұтағының құрамында хиперин (Hyperin), жемісінің құрамында витамин А, Е, С және каротин кездеседі. Жемісі ағзаға дәрумен жетіспегенде, асқазан қышқылы азайғанда емдік қасиеті зор. Бауыр, өт ауруларын емдеуге, несеп, өт айдауға, бүйрекке және қуыққа байланған тасты түсіруге, іш жүргізуге пайдаланады [9, 10].

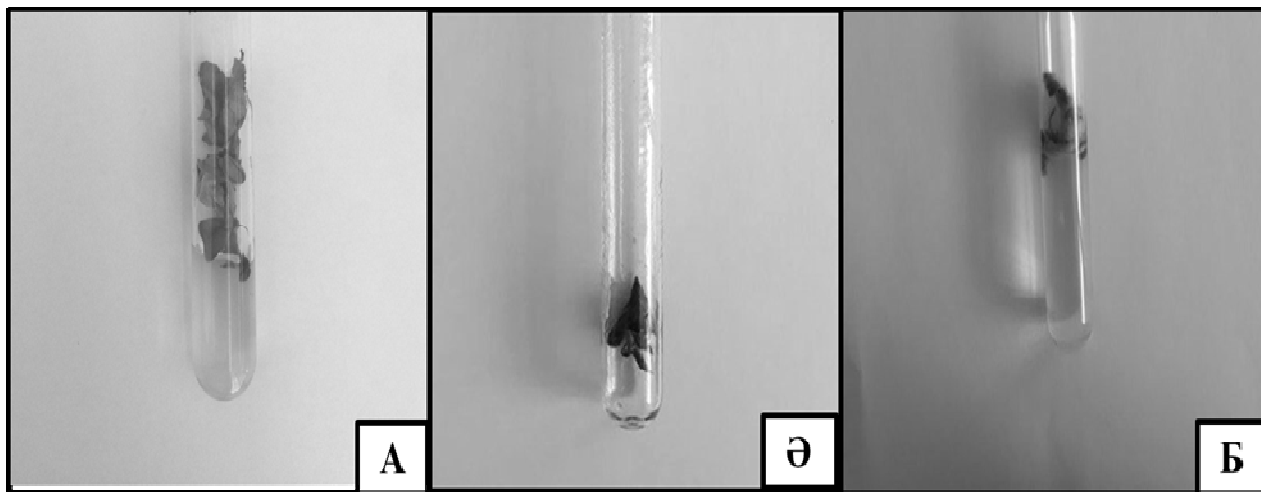
Шетеннің жапырағы, бүршігі, діңінің қабығы да дәрілік шикізат ретінде пайдаланылады. Көгалдандыру саласында шетенді шөмеле тәрізді (штамб) пішінде де өсіреді. Шетен ағашынан музыкалық аспап жасауға болады. Қабығынан әртүрлі бояулар алынады. Діңінің қабығынан қызғылт-қоңыр түсті, бұтағынан қара, ал жапырағынан қоңыр бояу алынады [11].

Зерттеулер нәтижесінде қара жемісті шетен (*Aronia melanocarpa*) өсімдігінің жасыл өркендерді залалсыздандыру үшін екі сатылы өңдеу жүргізілді. Бірінші сатыда залалсыздандырушы агент ретінде 70 % этил спирті, екінші сатыда 3 % судың асқын тотығы пайдаланылды [12–15]. Сонымен, асептикалық таза өскіндерді алу мақсатымен қара жемісті шетенді (*Aronia melanocarpa*) *in vitro* культурасына енгізу үшін залалсыздандырудың екі сатыдан тұратын екі түрлі тәсілі қолданылды:

а) I тәсіл — 70 % этил спиртіңде 35 с және 3 % судың асқын тотығында 9 мин бойы өңдеу;

б) II тәсіл — 70 % этил спиртіңде 30 с және 3 % судың асқын тотығында 9 мин бойы өңдеу.

Бірінші тәсіл — зертханалық жағдайда өсіп шыққан қара жемісті шетен (*Aronia melanocarpa*) өскіндері (өлшемі 4–5 см) кесіп алынып, сабынды сумен жуылып, құбыр суымен 3 рет қайталап шайылды. Кейіннен қара жемісті шетен (*Aronia melanocarpa*) өсімдігін 70 % этил спиртіңде 35 с және 3 % сутектің қос тотығында 9 мин бойы залалсыздандыру жүргізілді. Залалсыздандырушы агент қалдықтарын шаю үшін 3 рет залалсыздандырылған сумен шайылды. *In vitro* культурасына қара жемісті шетен (*Aronia melanocarpa*) өсімдігін енгізу мақсатымен экспланттарды 70 % этил спиртіңде 35 с және 3 % сутектің қос тотығында 9 мин бойы залалсыздандыру жүргізілді. Залалсыздандырылған экспланттар құрамында 30 г/л сахароза, 0,5 мг/л БАП, 0,01 мг/л ИМҚ, 3,6 г/л агар, 0,8 г/л джелрайт, ортаның рН мәні 5,7 деңгейінде болатын Мурасиге-Скуг қоректік ортасына отырғызылып, 3–4 апта бойы бақыланды. Бақылау нәтижесінде өскіндердің көбісінің жасыл түсі сақталды. Экспланттарға визуалды бақылау жүргізгенде инфекция жұққандары — 34 %, ал тіршілікке қабілетті экспланттар 66 % көрсетті. Некрозға ұшыраған экспланттар байқалмады (3-сур.).

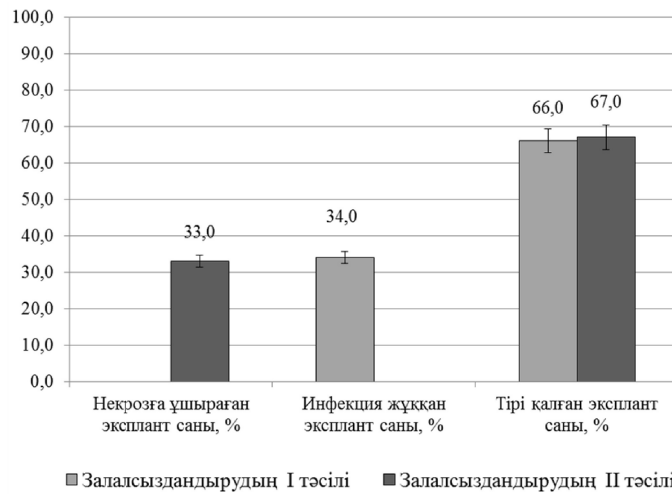


А — асептикалық таза өркен; Ә — некрозға шалдыққан эксплант;
В — саңырауқұлақты инфекция жұққан эксплант

3-сурет. Қара жемісті шетен (*Aronia melanocarpa*) өскіндерін *in vitro* культурасына енгізу

Екінші тәсіл — зертханалық жағдайда өніп шыққан қара жемісті шетен (*Aronia melanocarpa*) өскіндері (өлшемі 5–6 см) кесіп алынып, сабынды сумен жуылып, құбыр суымен 3 рет шайылды. Артынан 70 % этил спиртіңде 30 с және 3 % сутектің қос тотығында 9 мин бойы өңделіп, залалсыздандырушы агент қалдықтарын шаю үшін дистилденген сумен 3 рет шайылды. Залалсыздандырылған экспланттарды құрамында 30 г/л сахароза, 0,5 мг/л БАП, 0,01 мг/л ИМҚ, 3,6 г/л агар, 0,8 г/л джелрайт, ортаның рН мәні 5,7 деңгейінде болатын Мурасиге-Скуг қоректік ортасына

отырғызғанда, бірнеше аптада өскіндердің көбісінің жапырақтарының түсі, қоректік ортаның түсі өзгермейтіндігі анықталды. Экспланттарға визуалды бақылау жүргізгенде, қара жемісті шетен (*Aronia melanocarpa*) өсімдігінің некрозға ұшыраған экспланттары 33 % құрады (4-сур.).



4-сурет. Қара жемісті шетен (*Aronia melanocarpa*) культураны енгізу үшін қолданылған залалсыздандыру тәсілдерін салыстыру

Қорытынды

Қара жемісті шетен (*Aronia melanocarpa*) өсімдігін *in vitro* культураны енгізу үшін Мурасиге-Скуг қоректік ортасын пайдаланған қолайлы.

Зерттеулер нәтижесінде қара жемісті шетен (*Aronia melanocarpa*) өсімдігінің жасыл өркендерді залалсыздандыру үшін екі сатылы өңдеу жүргізілді. Бірінші сатыда залалсыздандырушы агент ретінде 70 % этил спирті, екінші сатыда 3 % судың асқын тотығы пайдаланылды. Сонымен, асептикалық таза өскіндерді алу мақсатымен қара жемісті шетенді (*Aronia melanocarpa*) *in vitro* культураны енгізу үшін залалсыздандырудың екі сатыдан тұратын екі түрлі тәсілі қолданылды:

I-тәсіл — экспланттарды *in vitro* культураны енгізу үшін залалсыздандырудың бірінші тәсілін пайдаланғанда инфекция жұққандары — 34 %, ал тіршілікке қабілетті экспланттар 66 % көрсетті.

II-тәсіл — *in vitro* культураны енгізу үшін залалсыздандырудың екінші тәсілін пайдаланғанда некрозға ұшырағандар — 33 %, ал тіршілікке қабілетті экспланттар 67 % көрсетті. Инфекция жұққан өскіндер байқалмады.

Жүргізілген зерттеу нәтижелерін мектеп оқушыларына биология, экология пәндерін оқытуда, өсімдіктердің биоалуантүрлілігін қандай әдіс-тәсілдермен сақталатынын түсіндіруде, экологиялық тәрбиесін қалыптастыруда пайдалануға болады.

Әдебиеттер тізімі

- 1 Конвенция о биологическом разнообразии: Декларации, конвенции, соглашения и другие правовые материалы [Электронный ресурс]. — Режим доступа: http://www.un.org/ru/documents/decl_conv/conventions/biodiv.shtml (11.06.2016).
- 2 Флора СССР. В 30-ти т. — М.: Изд-во АН СССР, 1958. — Т. 23. — С. 467–573.
- 3 Деревья и кустарники СССР. Дикорастущие, культивируемые и перспективные для интродукции. — М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1962. — Т. VI. Покрытосеменные. Семейства Розоцветные. — С. 211–299.
- 4 Романова Н.Г. Плоды боярышника и рябины — перспективный сырьевой источник для создания продуктов функционального питания / Н.Г. Романова // Достижения науки и техники АПК. — 2008. — № 9. — С. 59–62.
- 5 Турова А.Д. Лекарственные растения СССР и их применение. — 4-е изд. / А.Д. Турова. — М.: Медицина, 1974. — С. 180–251.
- 6 Девятов А.С. Плодоводство / А.С. Девятов. — Минск: Ураджай, 1986. — 280 с.
- 7 Соколов С.Я. Фитотерапия и фитотерапевтика / С.Я. Соколов. — М.: Мед. информ. агентство, 2000. — 147 с.
- 8 Турова А.Д. Лекарственные растения СССР и их применение. — 4-е изд. стереотип. / А.Д. Турова, Э.Н. Сапожникова. — М.: Медицина, 1984. — 304 с.

- 9 Машковский М.Д. Лекарственные средства / М.Д. Машковский. — М.: Новая волна, 2005. — 1200 с.
- 10 Петрова В.П. Дикорастущие плоды и ягоды / В.П. Петрова. — М.: Лесная промышленность, 1987. — 248 с.
- 11 Murashige T.A. Revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture / T.A. Murashige, F.A. Skoog // *Physiol. Plant.* — 1962. — Vol. 15. — P. 473–479.
- 12 Viss P.R. A simplified method for the control of bacterial contamination in woody plant tissue culture / P.R. Viss, E.M. Brooks, J.A. Driver // *In Vitro Cell. Dev. Biol.* — 1991. — Vol. 27. — С. 42.
- 13 Лакин Г.Ф. Биометрия. — 4-е изд. / Г.Ф. Лакин. — М.: Высш. шк., 1990. — 213 с.
- 14 Arena M.E. In vitro propagation of *Berberis buxifolia* Lam. / M.E. Arena, G.M. Pastur, G. Vater // *Biocell issn.* — 2000. — Vol. 24(1). — P. 73–80.
- 15 Азарова О.В. Перспективы использования микроклонального размножения для кустарниковых пород / О.В. Азарова, А.И. Громова // *Современная наука: теоретический и практический взгляд.* — 2015. — С. 43–46.

А. Смағали, Н.А. Сапарбаева

Введение в культуру *in vitro* черноплодной рябины (*Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott.)

В статье приведены результаты по введению в культуру *in vitro* черноплодной рябины (*Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott.). Семена были получены из Главного ботанического сада г. Алматы. Подобраны условия проращивания семян во влажном перлите и стерилизации апексов побегов в растворе 0,1 % HgCl₂ в течение 7 мин, позволяющие получать 50 % жизнеспособных побегов. Проверка растительного материала в культуре *in vitro* на наличие эндофитной инфекции на специализированной среде 523 позволила получить 100 % асептический материал. Для микроклонального размножения использовали растения, в которых инфицированность была исключена. Асептические побеги пассировали в мадженты на свежую питательную среду для размножения с интервалом 3–4 недели. Следующим этапом нашей работы будет оптимизация питательных сред для ускоренного микроклонального размножения *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott. Полученная коллекция *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott. в культуре *in vitro* послужит основой для проведения широкого спектра биологических исследований. Среди них разработка надежной методологии сохранения генетических ресурсов, особенно редких и исчезающих видов с возможной последующей их реинтродукцией в естественные места обитания.

Ключевые слова: *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott., проращивание семян, культура *in vitro*, побег, питомник, генетические ресурсы, плоды, коллекция, апексы, инфицирование.

A. Smagali, N.A. Sapparbaeva

Introduction to culture *in vitro* of Chokeberry (*Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott.)

In the article the results of the introduction to culture *in vitro* of Chokeberry (*Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott.) are presented. Seeds were obtained from the Main botanical garden in Almaty. The conditions for seed germination in wet perlite and sterilization of shoot apices in a solution of 0.1 % HgCl₂ for 7 minutes were selected, allowing 50 % of viable shoots to be obtained. Inspection of plant material *in vitro* culture for the presence of endophytic infection on a specialized medium 523 yielded 100 % aseptic material. For microclonal propagation, plants were used in which infection was excluded. Aseptic shoots were passaged in magenta on fresh nutrient medium for reproduction with an interval of 3–4 weeks. The next stage of our work will be the optimization of nutrient media for accelerated microclonal reproduction *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott. The resulting collection *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott. in an *in vitro* culture will serve as the basis for a wide range of biological research. Among them the development of a reliable methodology for the conservation of genetic resources, especially rare and endangered species with the possible subsequent reintroduction into natural habitats.

Keywords: *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott., seed germination, in vitro culture, escape, nursery, genetic resources, fruits, collection, apexes, infection.

References

- 1 Konventsiia o biologicheskom raznoobrazii: Deklaratsii, konventsii, sohlasheniia i druhie pravovye zakony [Convention on Biological Diversity: Declarations, conventions, agreements and other legal materials]. *www.un.org* Retrieved from http://www.un.org/ru/documents/decl_conv/conventions/biodiv.shtml (11.06.2016).
- 2 *Flora SSSR [Flora of the USSR]*. (1958). (Vols. 1–30; Vol. 23). Moscow: Izdatelstvo Akademii nauk SSSR [in Russian].
- 3 *Derevia i kustarniki SSSR. Dikorastushchie, kultiviruemye i perspektivnye dlia introduktsii [Trees and shrubs of the USSR, wild, cultivated and promising for introduction]*. (1962). Moscow; Leningrad: Izdatelstvo Akademii nauk SSSR [in Russian].
- 4 Romanova, N.G. (2008). Plody boiaryshnika i riabiny — perspektivnyi syrevoi istochnik dlia sozdaniia produktov funktsionalnogo pitaniia [The fruits of hawthorn and mountain ash is a promising raw material source for creation of functional food products]. *Dostizhenie nauki i tekhniki APK — Achievements of science and technology of agriculture*, 9, 59–62 [in Russian].
- 5 Turov, A.D. (1974). *Lekarstvennye rasteniia SSSR i ikh primenenie [Medicinal plants of the USSR and their application]*. Moscow: Meditsina [in Russian].
- 6 Deviatov, A.S. (1986). *Plodovodstvo [Fruit growing]*. Minsk: Uradzhai [in Russian].
- 7 Sokolov, C.Ya. (2000). *Fitoterapiia i fitofarmakolohiia [Phytotherapy and phytopharmacology]*. Moscow: Meditsinskoe informatsionnoe ahentstvo [in Russian].
- 8 Turova, A.D., & Sapozhnikova, E.N. (1984). *Lekarstvennye rasteniia SSSR i ikh primenenie [Medicinal plants of the USSR and their application]*. Moscow: Meditsina [in Russian].
- 9 Mashkovskii, M.D. (2005). *Lekarstvennye sredstva [Medicinal products]*. Moscow: Novaia volna [in Russian].
- 10 Petrova, V.P. (1987). *Dikorastushchie plody i yahody [Wild fruits and berries.]*. Moscow: Lesnaia promyshlennost [in Russian].
- 11 Murashige T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol. Plant*, 15, 473–479.
- 12 Viss, P.R., Brooks, E.M., & Driver, J.A. (1991). A simplified method for the control of bacterial contamination in woody plant tissue culture. *In Vitro Cell. Dev. Biol*, 27, 42.
- 13 Lakin, G.F. (1990). *Biometriia [Biometrics]*. Moscow: Vysshaia shkola [in Russian].
- 14 Arena, M.E., Pastur, G.M., & Vater, G. (2000). In vitro propagation of *Berberis buxifolia* Lam. *Biocell issn*, 24, 73–80.
- 15 Azarova, O.V., & Gromova, A.I. (2015). Perspektivy ispolzovaniia mikroklonalnogo razmnozheniia dlia kustarnikovykh porod [Prospects for the use of microclonal reproduction for shrub species]. *Sovremennaya nauka: teoriticheskii i prakticheskii vzgliad — Modern science: theoretical and practical view* [in Russian].