

**З.Р. Мұхитдинова, Т.Т. Турдиев, И.Ю. Ковальчук,
С.Н. Фролов, Н.К. Рымханова, А.П. Бессчетнов**

Өсімдіктер биологиясы және биотехнологиясы институты,
Қазақстан, Алматы, к., e-mail: Zinat 789@mail. ru

**ҚАЗАҚСТАНДЫҚ ТЕРЕК БУДАҢДАРЫН
КӨБЕЙТУ ӘДІСТЕРІ**

Микроклодап көбейту арқылы контейнерге көшіріп өсіру үйлесімділігі орман шаруашылығы саласын терек будандары көшеттерімен тез арада қамтамасыз етуді жылдамдатады. Зерттеу объектілеріне Қазақстанда сұрыптау арқылы шығарылған теректің “Казахстанский”, “1967”, “Превосходный”, “39/64”, “1/86” будандары алынды. *In vitro* жағдайында терек будандарының залалсыздандырылған өсімдіктерін алу үшін алдымен сабынды сумен 10 минут жуылғаннан кейін «Белизна» (1:1) ағартқышымен 10 минут, 70% этил спиртімен 5 минут және 0,1% (HgCl₂) хлорлы сынап ерітіндісімен 5 минут өңделгеннен кейін 3 рет қайтара залалсыздандырылып дистилденген сумен жуылуы аса тиімді болды. Микроклодау кезінде болатын жасырын инфекциялық микрофлора арнайы VISS ортасының көмегімен тексерілді. Экспланттарын көбейтуге Мурасиге, Скуг қоректік ортасының оңтайлы нұсқасының құрамы болып: В1 витаминін – 0,5 мг/л, БАП цитокининін – 0,1 мг/л, гибберелл қышқылын (ГК) – 0,02 мг/л және сахарозаның орнына глюкозаны 20 г/л қолдану аса ұтымдылығымен байқалып, терек будандары сабақтарының ерекше жақсы дамып, жайқалып өсуімен ерекшеленді. Ал терек сабақтарының қарқынды тамырлануы 0,2 мг/л нафтил сірке қышқылы (НСК) қосылған Woody Plant Medium қоректік ортасында байқалды. Барлық терек будандарының тамырлану көрсеткіші 95% құрады. Тамырланған өркендерді *in vivo* жағдайына ауыстыру, яғни топыраққа ауыстыру кезінде жоғары өнгіштігіне 10 % құм, 40 % торф, 50 % қара топырақ қосылған субстрат қолайлы болды.

Түйін сөздер: терек, микроклодап көбейту, бұтақтар, будандар, *in vitro*, *in vivo* жағдайына енгізу, эксплант.

Z.R. Mukhitdinova, T.T. Turdiyev, S.N. Frolov,
I.Y. Kovalchuk, N.K. Rymkhanova, A.P. Besshetnov

Institute of plant biology and biotechnology,
Kazakhstan, Almaty, e-mail: Zinat 789@mail. ru

Breeding methods of Kazakhstan poplar hybrids

The combination of clonal micropropagation method with container growing allows accelerating the provision of elite planting material of poplar hybrids for forestry needs. The object of the study was poplar hybrids obtained in Kazakhstan during hybridization: Kazakhstani, 1967, Excellent, 39/64, 1/86. To obtain aseptic plants of poplar hybrids in an *in vitro* culture, first thoroughly washed with a soap solution, then the most effective was to use as a sterilizing agent Belizna (1:1) 10 min, 70% ethyl alcohol 5 min, 0.1% mercuric chloride (HgCl₂) 5 min. Rinse thoroughly 3 times with sterile distilled water. After these procedures, 3 times were thoroughly washed with sterile distilled water. In addition to saprophytic microflora, pathogenic microflora can develop in plants, which does not die during sterilization. During cloning, the basal portion of explants, sterile from saprophytic microflora was also tested for infectious microflora using VISS medium. The Murasige and Skoog medium was optimal for intensive growth and propagation of explants of poplar shoots with a slight change: vitamin B1 0.5 mg/l, BAP cytokinin – 0.1 mg/l, gibberellic acid (GA) – 0.02 mg/l, replacement sucrose glucose 20 g/l. Intensive root (95 %) formation of shoots of poplar hybrids was noticeable on the nutrient medium Woody Plant Medium c NUC 0,2 mg/l. The shoots of all hybrids rooted 95%. The shoots showed a high survival rate when transferred *in vivo* to a soil substrate with a composition of 10% sand, 40% peat, 50% chernozem.

Key words: poplar, micropropagation, shoots, hybrids, *in vitro*, *in vivo* introduction, explant.

З.Р. Мухитдинова, Т.Т. Турдиев, И.Ю. Ковальчук,
С.Н. Фролов, Н.К. Рымханова, А.П. Бессчетнов

Институт биологии и биотехнологии растений,
Казахстан, г. Алматы, e-mail: Zinat 789@mail.ru

Методы размножения Казахских гибридов тополя

Сочетание метода клонального микроразмножения с контейнерным выращиванием позволяет ускорить обеспечение лесного хозяйства элитным посадочным материалом гибридов тополя. Объектом исследования были гибриды тополей, полученные в Казахстане при гибридизации: “Казахстанский”, “1967”, “Превосходный”, “39/64”, “1/86”. Для получения асептических растений гибридов тополя в культуре *in vitro* вначале тщательно помыли мыльным раствором, затем наиболее эффективно было использовать в качестве стерилизующего препарата «Белизну» (1:1) 10 мин., 70% этилового спирта 5 мин., 0,1% сулемы (HgCl₂) 5 мин. После этих процедур 3 раза тщательно промыли стерильной дистиллированной водой. Помимо сапрофитной микрофлоры в растениях может развиваться патогенная микрофлора, которая не погибает при стерилизации. Во время клонирования базальная часть эксплантов стерильных от сапрофитной микрофлоры также были проверены от инфекционной микрофлоры с помощью средой VISS. Оптимальной для интенсивного роста и размножения эксплантов побегов тополя была среда Мурасиге и Скуга с некоторым изменением: витамина В1 0,5 мг/л, цитокинина БАП – 0,1 мг/л, гибберелловой кислоты (ГК) – 0,02 мг/л, замена сахарозы глюкозой 20 г/л. Интенсивное корнеобразование побегов изучаемых гибридов было заметно на питательной среде Woody Plant Medium с ауксином нафтил уксусной кислотой (НУК) 0,2 мг/л. Побеги у всех гибридов укоренились 95%. Побеги проявили высокую приживаемость при переводе *in vivo*, в почвенный субстрат с составом 10% песка, 40% торфа, 50% чернозема.

Ключевые слова: тополь, клональное микроразмножение, побеги, гибриды, введение *in vitro*, *in vivo*, эксплант.

Кіріспе

Терек (лат. *Populus*) – талдар тұқымдасына жататын ағаштекес өсімдіктер тобына жатады. Терек бүкіл әлем елдерінде аса бағалы тез өсетін сұлу ағаш. Негізінде терекке деген жоғары қызығушылық әлемдік практикада оның мынадай биологиялық және шаруашылық ерекшеліктерімен түсіндіріледі: жылдам өсуі мен өндіріске қажетті ағашты 20 жыл және одан аз уақыт бойы бере алу қабілеті; ағаштекес бағалы тұқымдастарды қолдануға бағытталған көптеген өндірістік орындарда жарамдылығы; ауылшаруашылық қолданысқа жарамсыз кезкелген жерлерде өсе алу қабілетіне; әр түрлі бағыттағы көгалдандыру жұмыстарында қолдануға көптеген сорттары мен будандарының вегетативті көбеюге қабілеттілігі; ассимиляцияның жылдам жүретіндігі, соның нәтижесінде оттегінің, фитонцидтердің бөлінуі мен шанды ұстау қабілетінің жоғарылығы. Терек ағашы тез өсетін қасиетіне байланысты көгалдандыруда кеңінен қолданылады. Сондай қасиетімен қатар сәндік және биологиялық ерекшеліктерімен байқалады: жайқалып өсуі, жапырақтарының жалт-жұлт ету әсемдігі, жалпы көрінісінің пирамидаға ұқсастығы. Табиғатты сүйсіне алуан түрлі жырлаған аса көрнекті ақын, жазушы Сәкен Сейфуллин “Сұлу терек” деген

өлеңінде ” Кербезсің маңызданған сұлу терек! Орандың желбіреген жасыл желек. Тұрасың ырғатылып, тәкаппарсың, Басқа ағаш көрінбейді саған серік...” [1] деп әсем сипаттағанына сәйкес сұлу терек ағашының газ алмасу мүмкіндігінің аса жоғарылығы таңғалтады. Ғалымдардың Москва төңірегіндегі зерттеулері бойынша газ алмасу теңдігі бойынша көптеген ағаш түрлерінің ішінде терек ағашы ең жоғары көрсеткішке ие болған. Мысалы, кәдімгі шырша ағашы – 100%, поляк балқарағайы – 118%, емен ағашы 164%, үлкен жапырақты жөке 254%, емен ағашы 450% болса, берлин терегі 691%, яғни терек ағашы ең жоғары газ алмасу теңдігіне ие болған [2]. Сонымен терек ағашымен қоршаған ортаны көгалдандыру өте маңызы зор мәселе.

Теректің ағаш өндірісі жағынан әлемде Италия, Франция, Россия, Аргентина, көшбасшы болып келеді [3-6]. Терек ағашының түрлерін шығарып өсіру жайында Россия, Канада, Америка, Англия, Италия, Аргентина т.б. ел ғалымдарының айтарлықтай көңіл аударғаны белгілі. Нәтижесінде, теректің аязға, ыстыққа бейімді, ауруларға төзімді және сәндік қасиеттерімен, жоғары газ алмасу жоғарылығымен ерекшелінетін алуан сорттары шығарылған [7-12].

Қазақстан ормандар саны аз қамтылған елдер қатарына жатады. Сондықтан ел экономикасына қажетті ағаш материалдарын им-

порттауға мәжбүр. Мұндай жағдайда мемлекет өзінің орманды ағаштардың шикізат көзімен қамтамасыз етуі аса қажет. Әлемдік тәжірибелер бойынша будандастыру арқылы теректің тез өсетін көп түрлері алынған [9-12]. Кезінде Қазақстанда белгілі ғалым Бессчетнов П.П. теректі будандастыру әдісімен сұрыптау арқылы зерттеу жұмыстарын жүргізген [13]. Нәтижесінде, ауылшаруашылығы үшін бағалы белгілері бар болашағы зор терек будандары (Казахстанский, 1967, Превосходный, 39/64, 1/86 және т.б.) алынған. Алайда, ерекше бағалы қасиеттері бар бұл будан түрлерінің көпшілігін дәстүрлі қарапайым жолмен көбейту мүмкін болмады. Соңғы жылдары мұндай мәселелерді шешу үшін *in vitro* жағдайында микроклондау арқылы көбейту әдісі қолданылады [14-22]. Сонымен, микроклондап көбейту арқылы бағалы терек будандарынан техникалық маңызды ағаш көшеттерін алуға болады.

Зерттеу материалдары және әдістері

Зерттеу объектілеріне П.П. Бессчетновтың сұрыптау арқылы шығарған теректің дәстүрлі вегетативті әдіспен жақсы көбейетін Казахстанский буданы, ол әдіспен азғана көбейетін 1967 буданы және сонымен қатар вегетативті әдіспен ешбір көбеймейтін Превосходный, 39/64, 1/86 будандары бір-бірімен салыстырмалы тәжірибелер жасау үшін алынды.

In vitro жағдайында клондап көбейтуге терек сабақтары лабораториялық жылыжайда арнайы өсірілген 1 жылдық бұтақтардан алынды. Терек будандарының залалсыздандырылған өсімдіктерін алу үшін алдымен сабынды сумен жуылып, «Белизна» (1:1) ағартқышымен 10 минут, 70% этил спиртімен 5 минут және 0,1% $HgCl_2$ -мен 5 минут өңделгеннен кейін 3 рет қайтара залалсыздандырылып дистилденген сумен жуылды. Дегенмен зақымдалған өсімдіктерді қоректік ортаға енгізген кезде жасырын патогенді микрофлора дами бастайды да, өсімдіктің тіршілігін жоюға алып келетіні белгілі. Мұндай жағдай орын алмас үшін *in vitro* жағдайына енгізгеннен кейін микроклондау кезінде міндетті түрде микроөркендер жасырын инфекциялық микрофлораға арнайы Viss ортасының көмегімен тексерілді [23]. VISS қоректік ортасының құрамы: сахароза – 10,0 г/л, казеин гидролизаты – 8,0 г/л, ашытқы экстракті – 4,0 г/л, KH_2PO_4 – 2,0 г/л, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,15 г/л, джелрайт – 6,0 г/л, рН – 6,9. Терек экспланттарын ағаш өсімдіктерін көбейтуге ұсынылған Ка-

линин Ф.Л. және т.б. авторлардың әдістемелері бойынша [20,21,26-28], Мурасиге Скуг (МС) және Woody Plant Medium (WPM) қоректік ортасы құрамының витаминдері, өсуін реттегіш 6-бензиламинопурин (БАП) цитокинині, индоллил-май қышқылы (ИМК), нафтил сірке қышқылы (НСК) ауксиндері және гибберелл қышқылының әртүрлі өзгертілген нұсқалары бойынша оңтайландырылып алынды. *In vitro* жағдайында өсімдік арнайы +23-25°C бөлмеде, 40 μ mol жарықта өсірілді. Өсімдік сабағының шығуы және тамырлануы ай сайын есептелінді. Өсу қарқыны, сабақтарының және олардың тамырлануының саны есептелінді.

Сонымен, жүргізілетін тәжірибенің мақсаты – теректің буданды формаларының өсіп-өнуіне қолайлы жағдайларды іздестіріп *in vitro* жағдайына енгізу, микроклондап көбейтуге қоректік ортаның құрамын оңтайландыру. Ал міндеттеріне болса 1) «Превосходный», «1967», 39/64 және 1/86 будан формаларының экспланттарын *in vitro* жағдайына енгізіп асептикалық өсімдіктер алу, 2) асептикалық өсімдіктерді микроклондап көбейту үшін қоректік ортаны оңтайландыру, 3) теректің буданды формаларын *in vitro* жағдайында тамырландыру, 4) тамырланған будан формаларын *in vivo* жағдайына көшіру, яғни топырақта өсуіне бейімдеу жатады.

Зерттеу тәжірибелерінің теориялық және практикалық маңызына Қазақстандық сұрыптаудан алынған шектеулі көбейетін терек будандарын *in vitro* жағдайында клондап көбейту арқылы көшеттерін алып көгалдандыру үшін қолдану және орман шаруашылығын дамыту жатады.

Зерттеу нәтижелері және оны талқылау

Алдымен теректің Казахстанский, Превосходный, 1967, 39/64, және 1/86 буданды формаларын дәстүрлі жолмен көбейтумен айналыстық, яғни бұл будандар бұтақталып топыраққа отырғызылды. Терек будандарының өсімдік материалы болып біржылдық, ағаштанған және ұзындығы 2 метрге жуық бұтақтары алынды. Будан түрлерін дәстүрлі жолмен көбейту үшін 3-5 қолтық бүршіктерімен бұтақтың ұзындығы шамалы 30-35 см болатындай етіп бөлшектелінді. Тәжірибе үшін 10% құм, 50% қара топырақ пен 40% торфты араластырған контейнерге Казахстанский буданынан 250 данасы, сонымен қатар 1967, Превосходный, 39/64, және 1/86 будандарынан 150 данадан бөлшектелген шыбық сабақтары отырғызылды. Контейнерге

енгізілген бөлшектелген будан сабақтарының екі қолтық бүршігі топырақ үстінен шығып тұратындай етіп орналастырылды. Контейнерге отырғызылған өсімдіктер суғарылып 3-4 аптадай бақылауға алынды.

Істелінген тәжірибелердің нәтижесінде, 4 аптаның аралығында Қазақстанский буданының 248 контейнердегі бұтақшаларының 236 дана-

сы, яғни 95% өсті, сонымен қатар 1967 буданды формасының 27 данасы, яғни – 18% өсіп дамыды (сурет 1а,б). Ал тәжірибеге алынған Превосходный, 39/64 және 1/86 будандары дәстүрлі вегетативті жолмен ешбіреуі дамымады (сурет 2), сол себептен дамымаған терек будандарын көбейту үшін *in vitro* жағдайында микроклондап көбейту әдістері қолданылды.



а

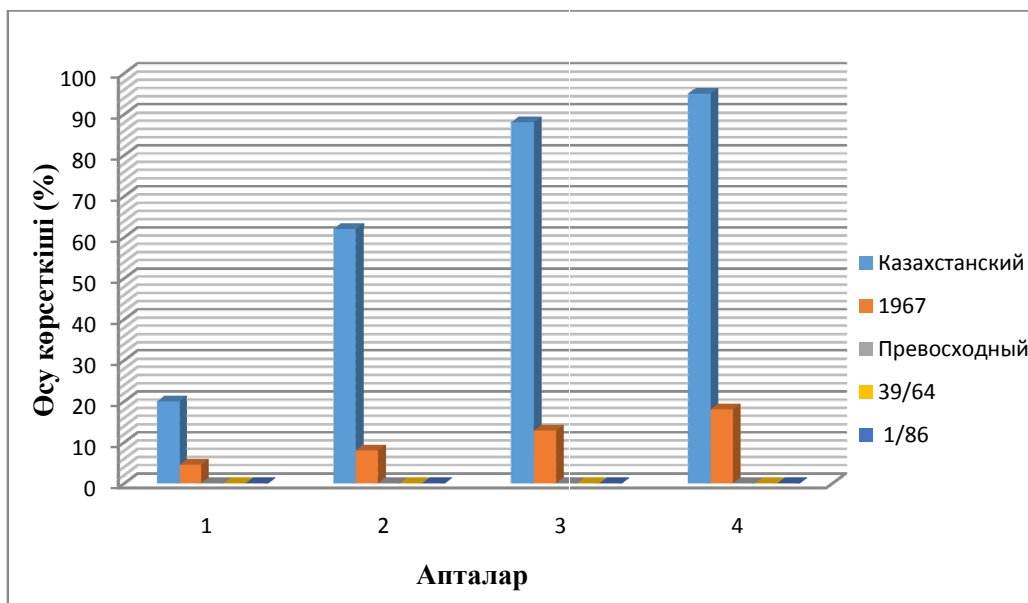


б

1а-б-сурет – «Қазақстанский» буданының вегетативті әдіспен өсіп өнуі

In vitro жағдайында өсімдік морфогенезіне әсер ететін маңызды фактордың бірі – қоректік ортаның минералды компоненттері. Калинин Ф.Л. және т.б. авторлардың еңбегінде [26] көптеген ғалымдардың зерттеулері нәтижесінде минералды заттардың құрамына байланысты әртүрлі қоректік орталар жарияланған, дегенмен көптеген зерттеулер ағаш бұтақтарын көбейту үшін Мурасиге және Скуг ортасының әртүрлі модификацияланған варианттарын қолданады. Клондап микрокөбейтудің тиімділігі көбінесе қоректік ортаның дұрыс таңдалуына байланысты. Зерттеуші ғалымдар *in vitro* жағдайында өсімдіктерді клондап көбейту үшін Мурасиге және Скуг (МС), Линсмайер және Скуг, Гамбург және Эвелег, Филлиппс, Хеллер, Уайт, Готре орталарын қолданады [20,21,26,27].

Дегенмен, зерттеушілердің тәжірибелерінің нәтижесі бойынша көптеген өсімдіктерді өсіріп көбейту үшін МС ортасының құрамындағы минералдар, витаминдер, цитокинин, ауксин құрамдарын әрқилы модификациялаған варианттары оңтайлы әсерін көрсететіні белгілі. Негізінде бұл қоректік орта каллусогенез органогенез, соматикалық эмбриогенезді реттеуші органикалық емес азоттың көп болуымен ерекшеленеді. Өсімдіктерді *in vitro* жағдайына сәтті енгізу залалсыздандырғыш заттардың түрлеріне де байланысты. Залалсыздандырғыш заттардың құрамы экспланттың ерекшелігіне сәйкес таңдалынады. Тәжірибенің бастапқы кезеңі *in vitro* жағдайына енгізер алдында өсімдік экспланттарын сапрофитті микрофлорадан босатып, олардың өсуі үшін қоректі ортаға отырғызу болып табылады.



2-сурет – Терек будандарының вегетативтік әдіспен көбеюінің өсу көрсеткіші (%)

2. Өсімдіктерді *in vitro* жағдайында микроклондап көбейту

Әлемдік зерттеуші ғалымдардың тәжірибелері бойынша микроклондап көбейту жеке сорттардың, будандардың, бастапқы материалдың ең аз санының бірегей формасын тез, әрі тиімді көбейту үшін қолданылады. Дәстүрлі вегетативтік көбейту әдісіне қарағанда микроклондап көбейтудің артықшылықтарына қажетті өсімдіктерді көбейтудің жоғарғы деңгейін жыл мезгіліне қарамастан көбейту мүмкіндігі жатады. Микроклондап көбейту әдісі сирек, жоғалып бара жатқан және ауылшаруашылығы үшін бағалы тұқымдардың, жемістердің, көкөністердің, сәндік өсімдіктердің генофондын сақтап қалу мақсатында кеңінен қолданылуда [26-28]. Терек будандарын клондап микрокөбейтуді барынша бастамас бұрын *in vitro* жағдайына енгізілген экспланттар Viss ортасының көмегімен тексерілді [23]. Viss ортасында отырғызылған экспланттардың патогенді микрофлорамен зақымдалмағаны, қоректік ортаның таза күйінде сақталғаны тексеріліп ары қарай клондап микрокөбейту тәжірибелері жалғастырылды.

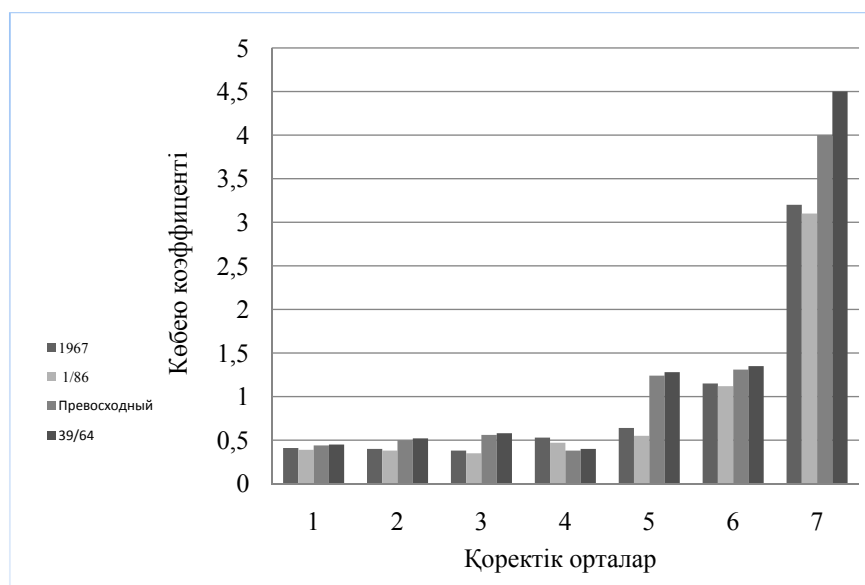
Қоректік ортаны таңдау кезінде терек будандарын көбейту үшін оның генотипі, қоректік ортаның минералды және гормоналды құрамы әсер ететіндігі де белгілі. Шаруашылыққа аса бағалы терек түрлерін клондап көбейту тәжірибелерінде белгілі ғалымдар Шабанова Е.А., Машкина О.С. [14] микроклондап көбейтудің тиімді болуы көбейтуге алынған терек

ағашының генотипіне неғұрлым байланысты екенін жете айтқан. Сонымен өсімдіктерді клондап көбейту кезінде өсімдік түрлеріне байланысты айырмашылықтар да болады. Ағаш тектес өсімдіктердің қарқынды пролиферациясы алдымен қоректік ортаның минералды құрамына байланысты. Алғашқы зерттеулерімізде терек будандарынан *in vitro* жағдайында көшеттер алу мақсатымен әр түрлі қоректік орталардың (WPM және MC) минералды құрамдарын 2 есе азайтып және витамин, цитокинин, қант мөлшерін өзгертіп салыстырмалы алуан түрлі тәжірибелер жасадық [24,25]. MC қоректік ортасының микроэлементтер құрамын 2 есе көбейтіп (H_3BO_3 – 12,4 мг, $MnSO_4$ – 48,2 мг, $ZnSO_4$ – 21,2 мг, KJ – 1,66 мг, Na_2MoO_4 – 0,5 мг, $CuSO_4$ – 0,05 мг, $CoCl_2$ – 0,05 мг), ал $CaCl_2$ и $MgSO_4$ элементтерінің құрамын 2 есе азайту ($CaCl_2$ – 166,25 мг, $MgSO_4$ – 185 мг) кезінде тәжірибеге алынған терек будандарының өсу қарқыны бастапқы кезде ұлғая бастағанмен, біртіндеп будан жапырақтарының құрғап қалып бастағаны (витрификация) орын алды. Сонымен мұндай кері өзгерістер орын алмас үшін, бұл зерттеулерімізге көптеген ізденістер енгізіп MC құрамын: витаминдердің, цитокининнің, гибберелл қышқылының және қанттың деңгейін өзгерте отырып, әр түрлі концентрацияларының *in vitro* жағдайында терек будандары өркендерінің дұрыс дамуына әсерін салыстырдық. *In vitro* жағдайында теректің будандарын көбейтуде жоғары көрсеткіш көрсеткен фитогормондар

концентрациясы БАП, ГҚ мен В1 витаминінің мөлшері әртүрлі болып алынған МС қоректік ортасының негізінде таңдалынып алынды. Тәжірибелеріміздің алғашқы варианттарында зерттеліп отырған терек будандарының *in vitro* жағдайында МС қоректік ортасында клондап көбейту барысындағы көбею коэффициенті алғашқы варианттарда орташа 10-12% арасында орын алды. Сонымен бірге өркендердің ұзарып өспегені де байқалды. Ары қарай жалғастырып істелінген тәжірибелер нәтижесінде қоректік ортада БАП-цитокинин жоғарылау көбейту (0,2 мг/л) теректің сабақ экспланттарында каллустың түзілу қарқындылығын арттыратыны байқалды, сондықтан оның мөлшері 2 есе азайтылды, ал ортада ГҚ-ның аз мөлшеріне (0,01) қарағанда көбірек мөлшері (0,02-0,03) будан өркендердің 3-4 апта мезгілінде ұзарып өсуін (2,5 -2,8 см.) байқатты. В₁ витамин құрамын 0,5мг/л қылып көбейтудің де жапырақтарының түстерінің жап-жасыл түрге қанық, жайқалып өсуіне әсері оңды болды, РР және В6 витаминдерінің құрамын өзгерту қажет болмады. Ал сахарозаны глюкозамен ауыстыру да әжептеуір жапырақтарының жайқала өсуіне оңды нәтижесін байқатты. Соңғы жасаған 7 варианттан тұратын зерттеулеріміздің нәтижесінде, МС қоректік ортасының бірнеше нұсқаларының ішінен терек будандарының жақсы дамитын керемет өсу көрсеткішіне ие болған қоректік ортаны таңдап алдық. Бұл таңдалынған ортада өсімдіктің бояуы қанық болып, сабағы мен жапырақтарының саны

көбейіп жайқала ұзарып өсті. Сонымен соңғы 7 варианттан тұратын зерттеулер нәтижесінде қоректік ортадағы цитокинин құрамын дұрыстау, витаминдердің және қант құрамының дұрыс таңдалынуы терек будандарының көбею коэффициентінің жоғарылауына және бастапқы генотиптегі генетикалық ерекшеліктер мен ауылшаруашылық бағалы белгілерді сақтауға мүмкіндік беретіні белгілі болды. Зерттеу тәжірибелеріміздің нәтижесінде, МС қоректік ортасы нұсқаларының 7-ші вариантының терек будандарының қарқынды өсуіне сәтті екенін көрсетті. Бұл ортада теректің будандарының көбею коэффициенті әр түрлі аралықта, яғни «1967» буданы үшін 3,2; 1/86 буданы үшін 3,1; «Превосходный» буданы үшін 4; ал 39/64 үшін 4,5 аралығында орын алды (сурет 3). Дегенмен бұл будан түрлерінің ішінде 1/86 буданы сабақтарының басқа түрлеріне қарағанда ұзарып өсу қарқыны төмен болғаны байқалды. Сондықтан бұл аталған буданның сабағының ұзарып өсуі үшін қоректік ортаның құрамына ГҚ мөлшерін аздап көбейттік (0,03).

Сонымен, терек будандары экспланттарын *in vitro* жағдайында көбейтуге МС қоректік ортасының 7 вариантының соңғы оңтайлы нұсқасының құрамы бойынша: В1 витамині– 0,5 мг/л, БАП – 0,1 мг/л, ГҚ – 0,02-0,03 мг/л және сахарозаның орнына глюкозаны 20 г/л қосу аса ұтымдылығымен байқалды. Бұл қоректік ортада терек будандарының жақсы дамып, жайқалып өсуімен ерекшеленді (4-сурет).



3-сурет – *In vitro* жағдайында теректің будандарын микроклондауға арналған МС қоректік ортасының нұсқалары



а



б



в



г

4-сурет – Терек будан сабақтарының МС қоректік ортасының 7 вариантында өсуі,
а- Превосходный, б- 1967, в – 39/64, г – 1/86

3. Өсімдіктерді тамырландыру мен *in vivo* жағдайына көшіру

Зерттеулердің келесі сатысы терек будандары сабақтарының тамырлану жүйесін қалыптастырып, неғұрлым қарқынды өсіру болды. Көптеген зерттеу нәтижелері бойынша ағаш өсімдіктердің сабағынан *in vitro* жағдайында тамыр жүйесін (ризогенез) қалыптастыру аса күрделі екені белгілі. Бұл жағдайда асептикалық өсімдіктердің тамыр жүйесінің дамуына қолайлы жағдай туғызатын және тамырдың

өсуін белсендендіретін арнайы қажетті қоректік орта тандап алынады. Негізінде, біраз ғалымдардың зерттеулерінде қоректік ортаның минералды тұздары, көбінесе аммоний тұздары және қант құрамы азайтылған ИМҚ, НСҚ және ИУҚ ауксиндері (0,1-0,5мг/л) қосылған қоректік орталарда ағаш тектес өсімдіктердің тамырлануы 70-95% артатыны белгілі [26-28].

Терек будандары сабақтарының тамырлануына қажет тәжірибелер жасалынып, тамырлану жүйесі үшін оңтайлы орта болып ауксин-

дерден НСҚ 0,2мг/л қосылған WPM қоректік ортасы таңдалынып алынды. WPM ортасының құрамында аммоний қосылған минералдардың МС қоректік ортаның аммоний қосылған минералдарымен (NH_4NO_3 -1650мг/л, KNO_3 -1900мг/л) салыстырғанда әлдеқайда аздығы (NH_4NO_3 -400мг/л, $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ -556мг/л), керісінше күкіртті калий тұзының көптігі (K_2SO_4 -990мг/л) және темір хелатының 2 есе көбейтілуі ризогенез процесіне оңдәсерететіні белгілі болды. Тамырланудың алғашқы белгілері терек сабақтарын

WPM ортасына отырғызылғаннан соң 2 аптадан кейін көріне бастады. Терек будандарының WPM қоректік ортасында тамырлану көрсеткіші 3 аптаның ішінде 95% құрады. Қоректік ортада терек будандарының тамырлануы үшін, 24°C температурада арнайы жарық бөлмеде өсіру аса сәттілігін көрсетті.

Нәтижесінде, 4 апта бойы ризогенезге арналған ортада өсімдіктің тамыр жүйесінің дамуы күшейіп, *in vivo* жағдайға, яғни топыраққа өсімдікті отырғызу кезеңіне дейін жетті (5-сурет).



а



б



в



г

5-сурет – Терек будандарының НУК 0,2мг/л қосылған WPM ортасында тамырлануы, а- 1967, б- Превосходный, в – 39/64, г-1/86



а



б



в



г



д



е



ж



з

6-сурет – Терек будандарының қара топырақ, торф, құм қосылған тапырақта өсуі,
а-б –1/86, в-г–39/64, д-е – Превосходный, ж-з 1967

Топырақ салынған контейнерлерге енгізбес бұрын өсімдіктерді арнайы калий перманганатының (K_4MnO_4) ерітіндісіне (1г/л) батырып залалсыздандыру арқылы топыраққа бейімдеп, арнайы дайындалған субстратқа (50% кара топырақ, 40% торф және 10% құм) отырғызылды. Тамырланған өркендерді контейнерлерге енгізген соң 5 рет сұйытылған МС қоректік ортасымен нәрлендірілді. Білгалды сақтау және өсімдіктің бейімделуі үшін пластикалық стақандармен жабылды.

Өсімдік аптасына 3 рет суды шашырату арқылы суғарылды. Аптасына 1 рет 5 есе сұйытылған МС қоректік ортасы құйылды. *In vitro* жағдайына сәйкес (23-25С температура, жарық 5,9-6,5 lx, 16 сағаттық фотопериод) орта қалыптастырылып, өсімдіктер жарық жылы жайда өсірілді. Күн сайын өсімдіктерге фенологиялық бақылау жасалынып, контейнерлерде тіршілік ету нәтижелері суретке түсірілді (сурет 6).

Қорытынды

Сонымен Қазақстандық дәстүрлі жолмен көбеймейтін терек будандарының көбейту мәселесіне арналған саналуан зерттеу тәжірибелеріміздің нәтижесін қорыта айтсақ алдымызға қойылған міндеттерді орындап мақсатымызға қол жеткіздік.

Теректің Қазақстанский, Превосходный, 1967, 39/64 және 1/86 будандарын дәстүрлі вегетативті жолмен көбейту нәтижесінде «Қазақстанский» буданының көбею көрсеткіші – 95 %, 1967 – 18% болса, Превосходный, 39/64 және 1/86 будандарының ешбіреуі өспеді. Сондықтан жоғарыда аталған дәстүрлі жолмен нашар және ешбіреуі өспеген будандарды көбейту үшін микроклондау арқылы көбейту биотехнология әдісі қолданылды. 1). Терек будандарын сапрофитті микрофлорадан айырып асептикалық өсімдігін алу үшін залалсыздандырғыш қосылыстарға «Белизна» (1:1) ағартқышымен 10 минут, 70% этил спиртімен 5 минут және 0,1% $HgCl_2$ -мен 5 минут өңдеу аса тиімділігін көрсетті. 2). *In vitro* жағдайында терек будандары өскіндерін Viss ортасына тексерудің нәтижесінде жасырын инфекциялық микрофлорамен зақымдануы байқалмады. 3). Көптеген зерттеу тәжірибелерінің

нәтижесінде теректің Превосходный, 1967, 39/64 және 1/86 будандарын *in vitro* жағдайында микроклондап көбейту үшін оңтайлы орта болып құрамында темір хелаты – 5-7 мг/л, В1 витамині – 0,5 мг/л, БАП цитокинині – 0,1 мг/л, гибберел қышқылы – 0,02-0,03 мг/л, глюкоза – 20 г/л бар МС қоректік ортасы болды. 4). Зерттеулердің нәтижесінде Превосходный, 1967, 39/64 және 1/86 будан формаларының экспланттарын *in vitro* жағдайына енгізіп асептикалық өсімдіктер алынды. 5). Терек сабақтарының тамырлануына ең қолайлы орта болып құрамында 0,2 нафтилсірке қышқылы (НСК) бар Woody Plant Medium (WPM) қоректік ортасы екені анықталды. Теректің будандарының WPM қоректік ортасында тамырлану көрсеткіші де 95% құрады. 6). Тамыр жүйесі дамыған өсімдіктер 50% кара топырақ пен 40% торф және 10% құмнан тұратын контейнерлерге отырғызылып, *in vivo* жағдайына ауыстырылды. 7). Нәтижесінде, теректің Превосходный 1967 39/64 және 1/86 будандары толықтай *in vivo* жағдайына бейімделіп арнайы дайындалған топырақта жайқалып өсті.

Өзірше осы көбейтілген будан көшеттерінен аса сұранысқа ие: Превосходный буданынан – 180 дана, 1967 буданынан – 140 дана және Қазақстанский буданынан 130 дана келешекте ауыл, қала көшелерін көгалдандыру үшін және орман шаруашылығын дамытуға көшеттер питомнигіне (ТОО Каз НИИЗ “ҚР”) тапсырылды.

Терек будандарын Алматы облысы Еңбекші қазақ районы Лавар селосының төңірегінде орналасқан “Лесной питомник” селекциялық питомнигінен біздердің зерттеу жұмысымызға ұсынғаны үшін сол мекеменің ғылыми қызметкері П.П. Бессчетновқа алғысымыз зор.

Зерттеу жұмысы 170-17-ГК “Тораңғы теректерін және Қазақстандық сұрыптаудан алынған терек будандарын биотехнологиялық әдістерді қолдану негізінде микроклондап көбейту және интегралды жүйемен зиянкестерден, аурулардан қорғау агротехникалық өсіру әдісімен өндірісін ұйымдастыру және элитті отырғызылатын *көшеттерін* сату” ҚР БҒМ коммерциялық жоба аясында жүргізілді.

Бұл коммерциялық жобаның ғылыми жетекшілері ҚР ҰҒА академиктері А.О.Сағитовқа, И.Р. Рахимбаевқа және А.М. Успановқа алғысымыз зор.

Әдебиеттер

- 1 Сәкен Сейфуллин. Шығармалары, үшінші том. Өлеңдер мен поэмалар, Астана, 2013, 96 б.
- 2 Васильев П.В. Лес и древесина в будущем. М., 1973. 160с.
- 3 Букштынов А.Д., Грошев Б.И., Крылов Г.В. Леса: (Природа мира). М., 1981. 316с.
- 4 Bele I. Svetove zkusenosti se zavadenim intensivnich metod pestovam rychlerostoucich drevin – topolu. Praha, 1968, 82 s.
- 5 Sekawin M. Priznati Klonovi topola u Italigi.– Topola, 1974, g. 28, br. 100-101, s. 17-19
- 6 Богданов П.Л. Тополя и их культура. М., 1965, 104с.
- 7 Вересин М.М. Новый гибридный тополь для лесных культур и озеленения. – Лесохоз. информация, 1974. №6, с. 14-15.
- 8 Коновалов Н. А. Уральские пирамидальные тополя. Свердловск, 1959, 22с.
- 9 Машкина, О. С. Генетико-селекционное улучшение тополя [Текст] / О. С. Машкина, Ю. Н. Исаков // Лесоведение. – 2002. – № 3. – С. 68-73. 24
- 10 Hibrīdapšu (Populus tremuloides x Populus tremula) klonu salīdzināšana un atlase [Text] / M. Zeps [et al.] // Mezzinatne. – 2009. – № 18 (51). – Pp. 19-34.
- 11 Царев А. П. Сортоведение тополя. Воронеж: Изд-во ВГУ, 1985. -152с.
- 12 Comparison and selection of hybrid aspen (Populus tremuloides x Populus tremclones [Text] / M. Zeps [et al.] // Mezzinatne. – 2009. – #18 (51). –P. 19-34
- 13 Бессчетнов П.П. Принципы селекции тополей методом гибридизации / Автореф. Докт. Дис. Алма-Ата. 1969
- 14 Шабанова Е.А., Машкина О.С. Клональное микроразмножение хозяйственно-ценных форм тополя. – Лесная генетика и селекция. 2015. №4, с.74-81
- 15 Yasodha, R. Micropropagation for quality propagule production in plantation forestry [Text] /R. Yasodha, R. Sumathi, K. Gurumuthi // Indian J. Biotechnol. – 2004. – Vol. 3. – Pp. 159-170.
- 16 Innovational Mechanisms of Biotechnologies Support in Forest Sector for Providing Economic Security of the State Asian Social Science [Text] / S. S. Morkovina, M. V. Drapalyuk, P. M. Evlakov, N. A. Safonova // Asian Social Science. – 2015. – Vol. 11. – No. 20. – Pp. 41-48.
- 17 Жигунов, А. В. Применение биотехнологии в лесном хозяйстве России [Текст] / А. В. Жигунов // Лесной журнал. – 2013. – № 2. – С. 27-35.
- 18 Шабунин, Д. А. Исследования по микрклональному размножению лесных пород в Санкт-Петербургском научно-исследовательском институте лесного хозяйства [Текст] / Д. А. Шабунин // Труды Санкт-Петербургского НИИ лесного хозяйства. – 2014. – № 2. – С. 32-36.
- 19 Шестибратов, К. А. Лесная биотехнология: методы, технологии, перспективы [Текст] / К. А. Шестибратов, В. Г. Лебедев, А. И. Мирошников // Биотехнология. – 2008. – № 5. – С. 3-22.
- 20 Hasnain, S. Tissue culture in forestry: economic and genetic potencial [Text] / S. Hasnain, W. Cheliak // The forestry chronicle. – 1986. – Vol. 62. – No. 4. – Pp. 219-225.
- 21 Wollenweber E., Asarawa U., Scnillo D. A novel caffeic acid derivatives and other constituents of Populus buds excretion and propolis (bee-glue) // Z. Naturforschung. 1987. V. 42, №9/10. P. 1030–1034.
- 22 Reed B.M., Wada S., DeNoma J., Niedz R.P. Improving in vitro mineral nutrition for diverse pear germplasm // In vitro Cell. Dev. Biol. Plant. – 2013. – V. 49 – С. 343-355.;
- 23 Viss P.R., Brooks E.M., Driver J.A. A simplified method for the control of bacterial contamination in woody plant tissue culture // In Vitro Cell. Dev. Biol. – 1991. – V. 27. – P. 42.
- 24 Турдиев Т.Т., Серадж Н.А., Мухитдинова З.Р., Фролов С.Н., Ковальчук И.Ю. Оптимизация условий клонального микроразмножения тополя (POPULUS L.) Издeнiстер, нeтижелер – Исследования, результаты. №3 (75) 2017. – С.122-128
- 25 Патент на полезную модель № 3104 от 25.08.2018. Казахстан. Питательная среда для микрклонального размножения тополя, яблони, груши / Турдиев Т.Т., Ковальчук И.Ю., Кабылбекова Б.Ж., Фролов С.Н., Мухитдинова З.Р.
- 26 Калинин Ф.Л., Сарнацкая В.В., Полищук В.Е. Методы культуры тканей в физиологии и биохимии растений, Киев. Наука думка, 1980
- 27 Калинин Ф.Л., Кушнир Г.П., Сарнацкая В.В. Технология микрклонального размножения растений, Киев. Наука думка, 1992
- 28 Calupa V. // Plant tissue and cell culture application to crop improvement. – Prague: Czechosl. Acad. Sci. – 1984. – P. 545-546

References

- 1 Saken Seifullin, Works, 3 volume. Songs and poems, Astana – (2013). – P. 96
- 2 Vasiliev P.V. Forest and wood in the future. – M. – (1973). – P. 16
- 3 Buktshytynov A.D., Groshev B.I., Krylov G.V. Forests: (Nature of the world). – M. – (1981). – P. 316
- 4 Bele I. World-wide experience with the introduction of intensive methods of fast- growing tree species – poplar. – Prague – (1968). – P. 82
- 5 Sekawin M. Priznati Klonovi topola u Italigi.– Topola, 1974, g. 28, br. 100-101, s. 17-19
- 6 Bogdanov P.L. Poplars and their culture. – M. – (1965). – P. 104
- 7 Veresin M.M. New hybrid poplar for forestry and landscaping. – Lesohoz. Information. – (1974). – №6. – P. 14-15
- 8 Konovalov N.A. Ural pyramidal poplars. Sverdlovsk. – (1959). – P. 22

- 9 Mashkina O.S. Genetic-selective improvement of poplar [Text] / Mashkina O.S, Isakov Y.N // Forest science. – (2002). – №3. – P. 68-73
- 10 Hibrīdapšu (Populus tremuloides x Populus tremula) klonu salīdzināšana un atlase [Text] / M. Zeps [et al.] // Mezzinatne. – (2009). – № 18 (51). – Pp. 19-34.
- 11 Tsarev A.P. Variety science of poplar. Voronezh: VSU Publishing House. – (1985). – P.152
- 12 Comparison and selection of hybrid aspen (Populus tremuloides x Populus tremula) clones [Text] / M. Zeps [et al.] // Mezzinatne. – (2009). – №18 (51). –P. 19-34
- 13 Besshetnov P.P. Principles of selection of poplars by hybridization / Abstract. Doct. Dis. Alma-Ata. (1969)
- 14 Shabanova E. A., Mashkina O. S. Microclonal inflorescence of economically valuable poplar types. Forest Genetics and Breeding. – (2015). №4. – P. 74-81
- 15 Yasodha R. Micropropagation for quality propagule production in plantation forestry [Text] / R. Yasodha, R. Sumathi, K. Gurumuthi // Indian J Biotechnol. – (2004). – Vol. 3. – P. 159-170
- 16 Innovational Mechanisms of Biotechnologies Support in Forest Sector for Providing Economic Security of the State Asian Social Science [Text] / S. S. Morkovina, M. V. Drapalyuk, P. M. Evlakov, N. A. Safonova // Asian Social Science. – (2015). – Vol. 11. – №. 20. – P. 41-48.
- 17 Zhigunov, A. V. Application of biotechnology in the forestry of Russia [Text] / A. V. Zhigunov // Forest Journal. – (2013). – № 2. – P. 27-35
- 18 Shabunin D. A. Research on the microclonal propagation of forest species at the St. Petersburg Forestry Research Institute [Text] / D. A. Shabunin // Transactions of the St. Petersburg Forestry Research Institute. – (2014). – №2 – P. 32-36
- 19 Shestibratov K. A. Forest biotechnology: methods, technologies, prospects [Text] / K. A. Shestibratov, V. G. Lebedev, A. I. Miroshnikov // Biotechnology. – (2008). – №5 – P. 3-27
- 20 Hasnain S. Tissue culture in forestry: economic and genetic potencial [Text] / Hasnain S., Cheliak W. // The forestry chronicle. – (1986). – Vol. 62. – №4. – P. 219-225
- 21 Wollenweber E., Asarawa U., Scnillo D. A novel caffeic acid derivatives and other constituents of Populus buds excretion and propolis (bee-glue) // Z. Naturforschung. (1987). V. 42, №9/10. P. 1030–1034.
- 22 Reed B.M., Wada S., DeNoma J., Niedz R.P. Improving in vitro mineral nutrition for diverse pear germplasm // In vitro Cell. Dev. Biol. Plant. – (2013). – V. 49 – P. 343-355
- 23 Viss P.R., Brooks E.M., Driver J.A.A simplified method for the control of bacterial contamination in woody plant tissue culture // In Vitro Cell. Dev. Biol. – (1991). – V. 27. – P. 42
- 24 Turdiyev T.T., Seraj N.A., Mukhitdinova Z.R., Kovalchuk I.Y. Optimization of poplar (POPULUS L.) micropropagation conditions. Research, results. No. 3 (75). (2017). – S.122-127
- 25 Utility model patent №3104 dated 25. 08. (2018). Kazakhstan. Nutrient medium for microclonal reproduction of poplar, apple, pear / Turdiyev T.T., Kovalchuk I.Y., Kabyzbekova B.Zh., Frolov S.N., Mukhitdinova Z.R.
- 26 Kalinin F.L., Sarnatskaya V.V., Polishchuk V.E. Methods of tissue culture in the physiology and biochemistry of plants, Kiev. Science Dumka, (1980)
- 27 Kalinin F.L., Kushnir G.P., Sarnatskaya V.V. Technology of microclonal propagation of plants, Kiev. Science Dumka, (1992)
- 28 Chalupa V. // Plant tissue and cell culture application to crop improvement. – Prague: Czech. Acad. Sci. – (1984). – P. 545-546