

2 Оразова С.Б., Джокебаева С.А., Алашбаева Л.Ж. Peroксидазная и полифенолоксидазная активность в моно- и смешанной культурах зеленых микроводорослей // Вестник КазНУ. Серия биологическая. -2011. - №3 (45). - С. 223-224.

3 Dhal B., Thatoi H.N., Das N.N., Pandey B.D. Chemical and microbial remediation of hexavalent chromium from contaminated soil and mining/metallurgical solid waste: A review // Journal of Hazardous Materials. - 2013. - Vol. 15. - P. 272-291.

4 Kwon-Rae K., Owens G., Naidu R., Kwon S. Influence of plant roots on rhizosphere soil solution composition of long-term contaminated soils // Geoderma. - 2010. - Vol. 155, № 1-2. - P. 86–92.

ӘОК 57.085.23: 57.044

А. Шарменова, Ш.Е. Арыстанова\*

Л. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, Астана қ., Қазақстан

\*e-mail: sholpan1607@mail.ru

### Жасушалық селекция әдісімен ауыр металдарға төзімді эспарцеттің жасушалық линиясын алу

Берілген жұмыста ауыр металдардың әсерінен эспарцеттің екі сорты Алматылық 1 және Алматылық 2 морфогенез процестері зерттелді. Эспарцеттің ауыр металдарға төзімді түрлері салыстырылып алынды. Зерттеу нәтижесінде металдардың өсімдік түрлерінің каллусогенез, эмбриодогенез процестерінің жүруін жылдамдатушы және тежеуші концентрациялары анықталды. Эспарцеттің Алматылық 1 түрі кадмийге, ал Алматылық 2 түрі қорғасынға біршама төзімділік көрсетті.

**Түйін сөз:** жасушалық селекция, эспарцет, ауыр металдар, төзімділік

A. Sharmenova, Sh.E. Arystanova

### Getting a cell line sainfoin resistant to the action of heavy metals

In this paper studied the process of morphogenesis of two cultivar esparcet Almalyk 1 and Almalyk 2. As a result of researches received sustained form of esparcet to heavy metals. Studied stimulating and inhibiting concentration of heavy metals on callusogenesis and embryogenesis. Cultivar Almalyk 1 is most resistant to high concentrations of cadmium, and Almalyk 2 - to lead.

**Keywords:** cell selection, esparcet, heavy metals, tolerance

А. Шарменова, Ш.Е. Арыстанова

### Получение клеточной линии эспарцета устойчивого к действию тяжелых металлов

В данной работе изучен процесс морфогенеза двух сортов растений эспарцета Алматылық 1 и Алматылық 2. В результате исследований получен устойчивый вид эспарцета к тяжелым металлам. Изучены стимулирующие и ингибирующие концентрации тяжелых металлов на процессы каллусогенеза и эмбриодогенеза. Сорт Алматылық 1 наиболее устойчив к высоким концентрациям кадмия, а сорт Алматылық 2 - к свинцу.

**Ключевые слова:** клеточная селекция, эспарцет, тяжелые металлы, устойчивость

Мал шаруашылық дамуы және ауыл шаруашылық малдардың өнімділігі жоғарылау үшін еліміздің барлық аудандарында мықты жемдік негізін құру қажет. Ортаның экстремалды жағдайлары – құрғақшылық, тұздану, ыстық, суық және басқа да стресстік факторлар өсімдікке теріс әсер көрсететіні белгілі. Олар ауыл шаруашылық, мәдени өсімдіктердің өнімділігін біршама төмендетеді, яғни елдің экономикасында орны толтырылмайтын зиян келтіреді [1]. Сондықтан, Қазақстанның көптеген аудандарында маңызды мәселелердің бірі болып табылатын өсімдіктердің стресстік факторларға төзімділік дәрежесін жоғарылату және эффективті диагностика жолдарын құрастыру және іздеу болып табылады.

Қазақстанның ауыл шаруашылық өсімдіктердің өнімін шектейтін факторлардың бірі құрғақшылық, тұздану және ауыр металдар болып табылады [2]. Ауыр металдар қоршаған ортаның қауіпті ластаушылары болып табылады. Олар өсімдік арқылы адам организміне жинақталып, метаболизм процестерін бұзып, әртүрлі қатерлі ауруларға алып келеді. Оның ластану шоғыры болып әртүрлі қара металлургия, уран өндірісі, целлюлоза-қағаз өнеркәсіптері және жеңіл автокөліктер табылады [3]. Ауыр металдармен ластанған топырақтарда өсімдіктерді өсіру мәселерін агротехникалық жолдарды пайдалану, яғни өсімдіктің өсуі үшін қолайлы жағдайларды тудыру және ауыр металдарға төзімділігі жоғары жаңа түрін шығару жолдары арқылы шешуге мүмкіндік бар.

Барлық жер шары бойынша топырақ қоры ауыр металдармен ластану дәрежесі өсуде. Осыны өндірістік сұрыптаудың негізгі мақсаты ретінде қазіргі заманғы биотехнологиялық әдістерді пайдалана отырып ауыр металдарға төзімді ауыл шаруашылық өсімдіктерді алу екені белгілі.

Ғалымдар токсикалық металдың әсері және жасушалық механизмдердің тұздануға төзімділігін зерттеуде жасушалық культураларды пайдалануды ұсынды [4,5]. Қазіргі таңда каллус, жасушалық суспензия және өсімдік-регенерант деңгейінде көбінесе темекі, күріш, қызанақ ауыл шаруашылық культуралардың тұздануға және құрғақшылыққа төзімділігі сияқты жасушалық селекция бойынша бірнеше жұмыстар белгілі. Сыртқы стресс кезінде гендердің экспрессиясы, стресс-индуцирлеуші ақуыздар және оларды кодтайтын гендерді зерттеуге бағытталған жұмыстар маңыздылыққа ие болып отыр [3-5].

Жасушалық селекцияның өсімдік культураларын жақсартуда стресстік жағдайларға төзімділікті жоғарылатуда жасушалық және молекулярлық-генетикалық төзімділікті зерттеу маңызды. Жасушалық селекция жеке стресстерге төзімділікті дәстүрлі селекционды-генетикалық қабылдаулы биотехнологиялық альтернатив деп қарастырып жатыр. Сыртқы ортаның стресстік факторына төзімді өсімдіктердің жаңа түрін алу мүмкіндігі селекционерлер, физиологтар, биохимиктер, генетиктер және биологтардың белсенді зерттеудің құралы болып табылады [6]. Қазақстанда физико-химиялық биология және оның негізгі бағыты – молекулярлық биологияның белсенді дамуы Республикада өсімдіктер биотехнологиясының пайда болуының негізі болды. Ауыл шаруашылық мәнге ие, мысалы жемдік культура сияқты ауыр металдарға төзімді және перспективті ауыр металдарға төзімді өсімдік түрін алу механизмдерін зерттеулер басқаларына қарағанда маңызды болып табылады. Өсімдік жасушаларының культурасы – өсімдіктердің дамуы және өсуін анықтайтын жасушалық және ұлпалық деңгейде әртүрлі механизмдерді зерттеу үшін арналған перспективті үлгі жүйесінің бірі. Берілген әдіс зерттеушілер үшін *in vitro* генотиптерінің стресске төзімді диагностикасын және сұрыптау, зерттеуде үлкен мүмкіндік береді [7]. Сондықтан зерттеу жұмысының мақсатына эспарцет өсімдігінің жасушалық селекция әдісімен ауыр металдарға төзімді линияларын алу болып табылады. Берілген жұмыстың міндетіне мыналар жатады: ауыр металдардың эспарцеттің асептикалық өркендеріне әсерін зерттеу, селективті факторы кезінде каллусогенез процессін зерттеу, жасушалық селекция әдісімен ауыр металдарға төзімді жасушалық тізбегін алу.

Францияда эспарцеттер алғаш рет 1567 жылы шалғында пайда болған. Англияда оларды жемдік өсімдіктері ретінде 17 ғасырдың ортасында, ал Германияда – 18 ғасырдың бас кезінде қолдана бастады. Ресей және Украинаның оңтүстік бөлігіне эспарцета культурасы 19 ғасырдың екінші жартысында Франциядан келді. *Onobrychis Adans* тұқымдас *Hedysarum* тұқымдасынан түзілген, ол өз кезегінде ежелгі үшіншілік уақыттың қарапайым түрі болып табылады. *Onobrychis* түрінің ареалы, оның үлкен таралуына карамастан ол *Hedysarum* тұқымдасының көлемді ареалының тек бөлігін құрайды және оның құрамына кіреді. *Onobrychis* тұқымдас *Hedysarum* тұқымдасының жас бұтағы болып табылады. *Onobrychis* тұқымдасының пайда болу жастығы оның түрлерінің көрінісі, олардың ішінде өздері арасындағы шектелген, көптеген өту формаларымен байланысқан, жақсы түрлері сирек кездесетіні Ширяев бойынша дәлелденген [8].

Құрғақшылықтың кезінде өсімдіктің сусыздануға қарсы тұратын қасиеті, ол оның плазмасымен суды ұстап тұру қасиетімен байланысты. Эспарцет үшін, сонын ішінде топырақ түрлеріне тән қасиеті – жапырақтарының су ұстап тұру қасиетінің жоғары болуы [8].

#### **Зертаты және зерттеу әдістері**

Зерттеу объектілері ретінде Қазақстандық Алматылық 1 және Алматылық 2 сұрыптауда эспарцет (*Onobrychis agenaria*) түрлері алынды. Эспарцет *Onobrychis Adans* тұқымдасына (*Papilionaceae*), бұшақтар туысына (*Leguminosae*) жатады. Жабайы жағдайда бұл түр үлкен әртүрлілікпен және түрлердің көптігімен анықталады

Эспарцет тұқымының стерильді өркендерін алу үшін 5% хлораминмен (5 мин.) және 70% этил спиртмен (1-2 мин) стерилиздеу жүргізген. Кейін тұқымды үш рет стерильді дистилденген сумен шайған және асептикалық жағдайда Мурасиге-Скуг (МС) ортасына өсу регуляторынсыз отырғызған, бұл ортада келесі ауыр металдардың улы дәрежесіне қарай әртүрлі концентрациясынан: Zn, Pb, Cd, Co құралған. Селективті факторы бар орта бақылау бола алады (Кесте 1).

### Зерттеу нәтижелері және оларды талдау

Ауыр металдарға төзімділікке байланысты жасушалық жұмысты жүргізу үшін бірінші кезеңінде эспарцеттің әртүрлі концентрациясында өсу мүмкіншілігін зерттеу қажет. Асептикалық өскіндерді алу үшін тұқымдарды әртүрлі концентрацияда металдары бар Мурасиге-Скуг қоректік ортасына отырғызды. Қоректік ортаның 4 нұсқасы зерттелді: Zn, Pb, Cd, Co, мыстың MC + 6 мг\л 2,4Д + 0,5 мг\л НСК мен Pb – 10 мг\л; MC + 6 мг\л 2,4Д + 0,5 мг\л НСК мен Zn – 1,88 г\л; MC + 6 мг\л 2,4Д + 0,5 мг\л НСК мен Cd – 5 мг\л; MC + 6 мг\л 2,4Д + 0,5 мг\л НСК мен Co – 0,72 г\л орталарында эмбриоидогенді каллус биомассасының жинақталуына әсер етуі зерттелді.

**Кесте 1** - Каллустық индукциясына ауыр металдардың оптимальды концентрациясын таңдау

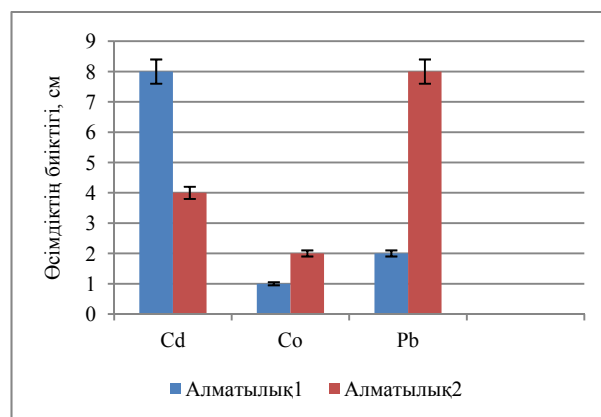
Металлдар	Концентрациялар, мг\л.			
Pb	5	7,5	10	15
Zn	1000	1420	1880	2320
Cd	2,5	5	6,5	8
Co	250	500	720	850

Эспарцеттің ауыр металға төзімділігін бірнеше көрсеткіштер бойынша бағаланды: тұқымдардың ұқсастығы, топырақүстілік бөліктің қалыптасуы, тамыр жүйесінің пішінделуі. Тұқымдардың дамуын және олардың өсуін бақылау 12 күн бойы жүргізілді. Зерттеу барысында Алматылық1 және Алматылық 2- эспарцет сорттарының салыстырмалы зертеулері жүргізілді.

Тәжірибелер нәтижесінде каллустың өсуі мен дамуына ауыр металдардың оптимальды концентрациясы келесідей концентрациядағы ауыр металдар қосылған Мурасиге – Скуг ортасы болды: Pb – 10 мг\л, Zn – 1880 мг\л, Cd – 5 мг\л, Co – 720 мг\л.



**Сурет 1** - Сұрыптаушы факторы бар ортадағы эспарцеттің Алматылық 1 сортының тамырлық жүйесінің пішінделуі



**Сурет 2** - Регенерант – өсімдіктің өсуіне ауыр металдардың әсер етуі

Жұмыстың екінші сатысының мақсаты морфогенді эмбрионді каллусты алу болды. Жасушалардың екіншілік дифференциациясын инициациясын жүргізетін негізгі фактор болып фитогормондардың тепе – теңдігі болып саналады. Ауксиндердің – индолілсірке қышқылының (ИСК); 2,4-дихлорфеноксисірке қышқылы (2,4-Д) мен цитокининдердің - 6-фурфуриламинопурина (кинетин) және 6-бензиламинопурина (БАП) қияқ ұлпаларының культурасындағы морфогенді құрылымдарының түзілуіне әсер етуі зерттелді. Бастапқы материал ретінде гетерогенді глобулярлы жасыл түсті каллус алынды. Трансплантанттар MC ортасына отырғызды және 28 °C температурада жарық жерде культивирленді. Мәліметтерді 30 тәулік культивирленге соң талдадық.

Қоректік ортаға ауксиндерді қосу негізінен тамыр мен каллустық массалардың өсуіне қолайлы жағдай жасайды. Осы тәжірибелерде 2,4-Д төмен деңгейдегі морфогенді қабілетті көрсетті. Тек 0,2 мг\л дейінгі төмен концентрацияларда тамырлардың пайда болуы байқалды. Ортадағы 2,4-Д мөлшерін арттыру каллусогенезге әкелді (Сурет 1).

Эспарцет өсімдігінің регенеранттарының өсуіне металдардың әсер етуі зерттелді. Берілген мәліметтерге сәйкес қорғасынның (5-15 мг/л) төмен концентрациялары өркендердің өсуін стимулдейді. Олардың саны бастапқы топпен салыстырғанда қорғасынның концентрациясы 5-15 мг/л болғанда 38-40% артады. Тамырлардың өсуі қорғасынның концентрациясы артқан сайын айтарлықтай тежеліп отырады, алайда олардың саны төмен концентрацияда бастапқы топпен салыстырғанда 46-71% артқан. Pb мөлшерінің артуы кезінде өркендердің өсуімен салыстырғанда регенеранттарда және сабақтық морфогенезі бар каллустарда тамырлардың өсуі күшті тежеледі. Сонан соң регенерацияға арналған орталарға индукциялық селективті орталарда түзілген каллустар мен залалсыздандырылған өскіндер пассаждалған. Пассажды ауыр металдардың оптимальды концентрациясы бар индукциялық ортасы құйылған пробиркаларда жүргізілді. Жүргізілген зерттеулер нәтижесінде тұқымдар даму деңгейінің сорттық тәуелділігі сұрыптаушы фактордың концентрациясы мен металдардың түріне байланысты екені анықталды. Берілген мәліметтерге сәйкес қорғасынның (5-15 мг/л) төмен концентрациялары өркендердің өсуін стимулдейді. Pb мөлшерінің артуы кезінде өркендердің өсуімен салыстырғанда регенеранттарда және сабақтық морфогенезі бар каллустарда тамырлардың өсуі күшті тежеледі. Алматинский 1 сорты Алматинский 2 мен салыстырғанда ауыр металдардың барлық түріне төзімдірек болып келеді. Ауыр металдардың ішінде күшті улылықты көрсеткен кадмий және қорғасын металы болды. Ол басқа әдебиеттегі мәліметтермен сәйкес келеді [9]. Мырыш және кобальт элементтері аз мөлшерде маңызды микроэлемент болғандықтан, олардың улы әсері аздау болды.

#### Әдебиеттер

- 1 Бутенко Р.Г. Биотехнология растений: Культуры клеток. - М: Агропромиздат, 1989. - 280 с.
- 2 Новиков Ю.В. Экология, окружающая среда и человек. Учебное пособие. - Москва, 1998. - 335 с.
- 3 Платонов А.П., Платонов В.А. Основы общей и инженерной экологии. Учебное пособие. - Ростов на Дону: Феникс, 2002. - 352 с.
- 4 Бутенко Р.Г., Гусев М.В., Киркин А.Ф., Коржевская Т.Г., Маркова Е.Н. Клеточная инженерия. - М.: ВШ. - 1987. - 128 с.
- 5 Сидоров В.А. Биотехнология растений: Клеточная селекция. - Киев: Наукова Думка, 1989. - 280 с.
- 6 Harris R., Wrigh M., Byrne M., Venum J., Drightwill B., Shubert K. Callus formation and plantlet regeneration from protoplasts derived from suspension culture of wheat // Plant Cell Rep. - 1988. - Vol. 7, № 7. - P. 337-341.
- 7 Глеба Ю.Ю., Сытник К.М. Клеточная инженерия растений. - К.: Наукова Думка, 1984. - 160 с.
- 8 Левенко Б. А. Применение культуры изолированных клеток, тканей и органов растений в генетике и селекции // Итоги науки и техники. Общая генетика. - М., 1978. - Т.5. - 278 с.
- 9 Моисеева Н. А. Молекулярные и клеточные механизмы морфогенеза и культуре клеток растений // Биология культивируемых клеток и биотехнология растений. - М.: Наука, 1991. - С. 166- 185.

ӘОК :663.1(574)

Г. Д Ораз\*, Г.Б. Баймаханов, К. Болатхан, М. Құмар, Б.К. Заядан  
 әл-Фараби атындағы қазақ ұлттық университеті, Алматы қ., Қазақстан  
 \*e-mail: [Gulnar373@mail.ru](mailto:Gulnar373@mail.ru)

#### Азот фиксациялаушы микроорганизмдер негізіндегі консорциумдар

Бұл мақалада Қызылорда облысының күріш алқаптарынан азотфиксациялаушы цианобактериялардың альгологиялық және бактериологиялық 2 түрлі таза дақылдары бөлініп алынып олардың морфологиялық, дақылдық қасиеттері зерттелді: *Anabaena sp.K-1*, *Nostoc sp.K-1*.

Цианобактериялар мен микробалдыр және азотобактерия дақылдарының негізінде 4 түрлі консорциумдары құрылды.

**Түйін сөздер:** Азотфиксациялаушы микробалдыр, цианобактерия, бактериялар консорциумы, биотыңайтқыш.

Г. Д Ораз, Г.Б. Баймаханов, К. Болатхан, М. Құмар, Б.К. Заядан.

#### Консорциумы на основе азотфиксирующих микроорганизмов

В статье представлены данные о выделенных штаммах цианобактерий из рисовых чеков Карауктинского опорного пункта Казахского НИИ рисоводства им. Ибрая Жахаева Кызылординской KazNU Bulletin. Biology series. №3/1 (59). 2013