

## Сельскохозяйственные и ветеринарные науки

ӘОЖ 581.6

А.Б. Баянбек, «Биотехнология» мамандығының магистранты  
Инновациялық Еуразия университеті (Павлодар қ.),  
E-mail: bayanbek.aikumis@mail.ru

### Дәрілік өсімдіктердің каллусын зертханалық жағдайда алу мәселесі

**Аннотация.** Мақалада Қазақстанда кездесетін дәрілік өсімдіктердің каллусын зертханалық жағдайда алу мәселесі қарастырылған. Жүргізілген жұмыс барысында каллустарды алу үшін сыртқы орта факторлары мен тиімді жағдайлар анықталды.

**Түйін сөздер:** каллус, традесканция Зебрина, қан қызыл эхинацея, куллустық жасушалар культуранасы.

Қазіргі кезде медициналық практикада басты орында дәрілік өсімдіктер тұр, себебі олар кең биологиялық әсерге ие, бұл оларды көптеген ауруларға қарсы қолдануға мүмкіндік береді [1].

Жоғарғы сатыдағы өсімдіктердің культураланатын жасушалары күнделікті қолданылатын өсімдіктерден алып, олардан жаңа бізге керекті түрлерін жасап шығаруға, сонымен қатар арзан заттардан бағалы өнімді алуға болады. Осы әдістің негізгі артықшылығы бізге керекті өнімді сыртқы орта факторына, яғни климат, жер және табиғат мезгіліне қарамай кез-келген уақытта алу.

Мысалы, традесканция Зебрина (*Tradescantia zebrina*), мыңжапырақ (*Achillea millefolium*), қан қызыл эхинацея (*Echinacea purpurea*) бірқатар емдік қасиеттерге ие және олар алоэ сияқты үздік емдік өсімдіктер қатарында тұр деуге болады. Зебрина традесканциясының шырынында инсулинге ұқсас заттар болады. Олар қандағы қант мөлшерін белсенді түрде азайтады. Мұнымен қатар, традесканция өсімдігінде фитонцидтер болады, олардың өте мықты антимикробтық белсенділігі және микробтармен қоса көптеген вирустар түрлеріне де қарсы қасиеті бар. Бұл фитонцидтер ішек-қарын жолын, тыныс алу жолдарын емдеуде аса белсенді. Құрамы биологиялық белсенді заттарға толы болып келгендіктен олар ғылыми қызығушылық танытады. Осы себептермен Зебрина традесканциясы және қан қызыл эхинацеядан каллустық дақылды зертханалық жағдайда алу өте өзекті мәселе болып табылады [2].

Каллус негізгі культивирленетін өсімдік клеткасы болып табылады. Каллустық ұлпа – клеткалық дифференциацияның бір түрі болып табылады, дедифференциацияланған өсімдік мүшелерінің бытыраңқы пролиферациясы нәтижесінде түзіледі.

Зерттеуіміздің бірінші сатысында біз жасушалық культураларды алу және каллусогенез процессінің минералды құрам мен қоректік ортаға тәуелділігін зерттедік. Егу процесі құрамында 2 мг/л 2,4 – Д бар Мурасиге – Скуг және Гамборга В5 қоректік орталарында жүргізілді. Культивирлеу үшін эксплант ретінде стерилизациядан кейін қоректік ортаға еңгізілген өсімдіктердің жапырақтары мен сегменттері алынды. Жапырақтарды алдын-ала 70 %-дық этил спиртімен 30 минут және 0,1 %-дық гипохлорид натрий ерітіндісімен 15 минут жуауымыз. Кейін 3 рет 15 минуттан стерилді дистилденген сумен шайауымыз. Стерилденген жапырақтарды 0,5-1 см мөлшерде сегменттерге бөліп, үстіңгі жағымен Петри табақшаларындағы қоректік ортаға орналастырдық. Экспланттарды культивирлеу 22±2 °С температурасында, қараңғыда, 55-56 % ауаның ылғалдылығымен жүргізілді.

Каллусогенез индукциясы екі қоректік ортада да 9-10 күннен кейін басталды. Зерттелетін өсімдіктердің каллусогенез индукциясы мен каллус биомассасының өсуіне едәуір оптималды қоректік ортасы деп Мурасиге – Скуг ортасын атауға болады. Кәдімгі шайқурай мен мыңжапырақ үшін каллусогенез жиілігі осы қоректік ортада жоғары көрсеткіш көрсетті, шайқурай үшін 60 %, ал мыңжапырақ үшін 58 %.

Зерттеудің келесі кезеңі – каллусогенез процессінің қоректік ортадағы гормондардың құрамына тәуелділігін анықтау.

Фитогормондардың (ауксин және цитокинин) әртүрлі концентрацияларын біріктіру арқылы культивирлеуге керекті қажет шарттарды анықтадық. 2,4-Д гормондар концентрациясында МС ортада каллустардың өсуі және мирфогенді типті каллустар пайда болуы көбірек кездеседі. Зерттеулер нәтижесінде каллусогенез процессінің 2,4-Д гормондар концентрациясына тәуелділігі нәтижесінде, оларға оптималды концентрация 2,5 мг/л 2,4-Д болатыны анықталды. Дәрілік өсімдіктерді МС қоректік ортасында культивирлеу, кинетин фитогормонының концентрациясы – 0,01 % болғандағы каллусогенез жиілігі шайқурай үшін – 55 %, ал мыңжапырақ үшін – 45 % құрады.

Изолирленген жасушалармен жұмыс жасаудың негізгі шарты – стерильді жағдайды қатаң түрде сақтау. Өсімдіктерден изолирленген қоректік ортаға салынатын фрагменттер, яғни экспланттар микроағзалармен тез бұзылады. Сондықтан эксплантпен қатар қоректік ортаны да стерильдеу қажет.

Изолирленген жасушалармен жасалынатын барлық жұмыстар (культураға еңгізу, жаңа қоректік ортаға көшіру) асептикалық бөлмелерде (ламинар-бокс) стерильді құрал-жабдықтармен жасалынады. Изолирленген жасушаларды стерильдеу кезінде де стерильді жағдай қамтамасыз етілуі қажет. Алдын-ала қағазға немесе фольгаға оралған таза ыдысты, құрал-жабдықтарды, қағаз, мақтаны құрғатқыш шкафта 160 °С температурада 1,5-2 сағат аралығында құрғақ бумен стерильдейді. Қоректік орталарды автоклавта 120 °С температурада 0,75-1 атм қысымда 20 минут стерильдейді. Егер қоректік орта құрамына автоклавта бұзылатын заттар кіретін болса, онда оны бактериалды фильтр арқылы фильтрация жолымен стерильдеу қажет. Кейін фильтрдан өткен стерильді компоненттерді 40 °С дейін суытылған проавтоклавталған ортаға қосады.

Өсімдік тіндері өздері ауру көзі бола алады, себебі олардың үстіңгі жағында әрдайым эпифитті микрофлора бар. Сондықтан беттік стерилизация жүргізіледі. Эксплант алынатын өсімдіктің бөлігі алдын ала сабыны бар сумен жуылады, таза сумен шайылады. Кейін өсімдік материалын дезинфекциялық ерітінділерде стерильдейді. Стерилизация уақыты әртүрлі. Мысалы құрғақ тұқымдар үшін – 10-20 минут, піскен тұқымдар үшін – 6-10 минут, жапырақтар үшін – 3-5 минут.

Экспланттарды дезинфекциялық ерітінділерде ұстағаннан кейін оларды бірнеше рет дистилденген суда шайып, скальпельмен жасушаның сыртқы қабаттарын кесіп тастайды. Себебі олар стерилизация кезінде бүлініп қалуы мүмкін. Микроағзалар өсімдік тіндерінің ішінде де орналасуы мүмкін. Сондықтан беттік стерильдеуден басқа, кейде микробтарды іштей өлтіретін антибиотиктерді пайдалануға тура келеді. Бірақ дұрыс антибиотик таңдау қиынға соғады.

Өсімдік тіндерінің дұрыс өсуі мен дамуына физикалық факторлар әсер етеді – жарық, температура, аэрация, ылғалдылық.

**Жарық.** Фотосинтездік қабілетке ие болмағандықтан каллустық тіндер қатты жарқ түскенде де, мүлдем қараңғы жағдайда да өсе алады. Бірақ жарық морфогенез процесін қамтамасыз етеді және екіншілік синтез процесін жүйеге қосады. Жарық көздері ретінде люминесцентті лампаларды қолданады.

**Температура.** Көптеген каллустық культуралар үшін оптималды температура 26 °С.

**Аэрация.** Суспензиондық культураларды өсіру үшін аэрация үлкен рөл атқарады. Өсірісе үлкен көлемдегі ферментерларда культураланатын клеткаларға ауаны жеткізу маңызды. Жасушаларды аз мөлшерде (колбаларда) аэрация әрдайым араластыру нәтижесінде жүзеге асады.

**Ылғалдылық.** Культуралар өсетін ортада оптималды ылғалдылық 60-70 % құрау керек.

In vitro жағдайында өсімдіктердің жасушалық селекциясын жүргізу үшін зеттеу жұмысының материалы ретінде каллустық, суспензиялық және изолирленген протопластарды қолдануға болады. Каллустық тіндер жасушалық селекцияда кең қолданылатын қол жетімді материал болып саналады. Субкультивирлеу барасында өзінің регенерацияға қабілетін жоғалтпайттын біріншілік немесе трансплантацияланған каллустық тіндерде жүргізеді. Бірақ каллустық культуралармен жұмыс жасау барасында көптеген ғалымдар бірқатар кемшіліктерді байқады. Айта кетсек, тіндердің баяу өсуі, селективті фактор ретінде қолданылатын токсикалық заттардың клеткаларға бірдей емес әсері және регенерациялық қасиеттің жоғалуы. Әрине селекцияны жалғыз жасушамен жүргізген дұрыс. Бірақ көптеген өсімдіктердің түрлері үшін культивирлеудің ідңстері мен эффективті таехнологиялар ойлап табылған жоқ. Сондықтан жоғарыда айтылып кеткен кемшіліктерге қарамастан көптеген өсімдіктер үшін бұл тәсіл жалғыз тәсіл болып қалып тұр.

Жаңа селекционды материалды алу мақсатында каллустарды культивирлеу бойынша жұмыстардың көбі бидай, сұлы, күріш, картоп, томат, люцернада жүргізілген болатын. Қазіргі кезде бидай, күріш, картоп өсімдіктерін NaCl немесе Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-ке төзімді ету мақсатында жүргізілетін жұмыстардың жағымды нәтижелері бар. Қоректік ортаға аминқышқылдарының токсикалық аналогтарын қосу жолымен жасушалар алынды, ал сол жасушалардан 20 есе көп метионин, 30 есе – типотофан, 5 есе – лизині бар сәбіз өсімдігін аламыз. Картоп үшін айналмалы шірікке төзімді өсімдіктер алынды. Осыған байланысты селекциалық мақсатта каллустық культураларды пайдалану адамзат үшін өсімдіктердің бағалы белгілері бар жаңа формаларын шығаруға мүмкіндік береді [3].

Осыған байланысты селекцияны дәстүрлі әдіспен жүргізгенге қарағанда жасушалық деңгейде жүргізу өсімдіктердің жаңа формаларын 2-4 есе тезірек шығаруға мүмкіндік береді.

Қорыта келе, дәрілік қасиеттері бар өсімдіктерден морфогенді каллустар алу үшін қолайлы жағдайлар жасалынып, каллустық культурадандан ары қарай биологиялық белсенді заттарды алып зерттеу жүргіземіз.

## ӘДЕБИЕТТЕР

1 Дитченко Т.И. Культура клеток, тканей и органов растений: методические рекомендации к лабораторным занятиям. – Минск: БГУ, 2007.

2 Георгиевский В.П., Комиссаренко П.Ф., Дмитрук С.Е. Биологически активные вещества лекарственных растений. – Новосибирск: Наука, Сиб. отд.-ние. 1990. – 333 с.

3 Муравьева Д.А. Фармакогнозия / Д.А. Муравьева – М.: Медицина, 1987. – 656 с.

## REFERENCES

- 1 Ditchenko T.I. Kul'tura kletok, tkanei i organov rastenii: metodicheskie rekomentacii k laboratornym zanyatiyam. – Minsk: BGU, 2007.
- 2 Georgiyevsi V.P., Komissarenko P.F., Dmitruk S.E. Biologicheski aktivnyye vewestva lekarstennykh rastenii. – Novosibirsk. Nauka, Sib. Otd-nie. 1990. –333 s.
- 3 Murav'eva D.A. Farmakognosiya / D.A. Murav'eva – M.: Medicine, 1987. – 656 p.

## РЕЗЮМЕ

**А.Б. Баянбек**

*Инновационный Евразийский университет (г. Павлодар)*

### ***Каллус лекарственных растений в лабораторных условиях***

*В статье описан процесс выработки каллусных клеток из лекарственных растений, встречающихся в Казахстане. При проведении экспериментов были выявлены подходящие внешние факторы и оптимальные среды для роста каллуса.*

**Ключевые слова:** *каллус, традесканция Зебрина, эхинацея пурпурная, культура каллусных клеток.*

## RESUME

**A.B. Bayanbek**

*Innovative University of Eurasia (Pavlodar)*

### ***Callus of medicinal plants in laboratory***

*The article describes the process of producing callus cells from medicinal plants that are found in Kazakhstan. During the experiments, suitable external factors and optimal growth media for callus were identified.*

**Key words:** *Callus, tradescantia zebrina, echinacea purpurea, culture of callus cells.*