

ӘОЖ: 634.8.03:60(574.2)(045)

K57

Ж.Д. Коптлеуова, А.М. Әбдіхалық, С.С.Бекқожина  
С.Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық университеті, Қазақстан, г. Астана  
e-mail: agun.katu@gmail.com

### Жүзім дақылын *in vitro* жағдайына енгізу мәселелері

Солтүстік Қазақстанда жүзім дақылын өсіру мақсатында Ресей селекционерлерінің суыққа төзімді сорттарынан микрокалемшелер алу бойынша жұмыстар жүргізілді.

Сувенир Васьковского, Каринка Русская және Краса Севера сорттарынан 100% таза өсінді алынды. *In vitro* жағдайында 0,1% бензиламинопурин қосылған MS қоректік ортасында жүзім дақылынан адвентивті бүршіктердің түзілуі қоздырылды. Әрі қарай пассаждау барысында бүршіктер конгломераты мен эмбрионд құрылымдарының түзілуін байқадық.

Алынған нәтижелер әрі қарай цитогэмбриологиялық жұмыстарын жүргізуді жоспарлауға септігін тигізді.

**Түйін сөздер:** жүзім, *in vitro*, микроклоналды көбейту, сорт, регенерация.

Ж.Д. Коптлеуова, А.М. Әбдіхалық, С.С.Бекқожина  
**Проблемы введения культуры винограда в условия *in vitro***

С целью выращивания культуры винограда на Севере Казахстана проведены экспериментальные работы по получению микрочеренков из холодоустойчивых сортов Российских селекционеров.

100% стерильная культура получена для сортов Сувенир Васьковского, Каринка Русская и Краса Севера. В условиях *in vitro* у культуры винограда индуцировано образование адвентивных почек на питательной среде MS с 0,1% бензиламинопурином. При дальнейшем пассировании наблюдали образование конгломерата почек, а также эмбриондов.

Полученные результаты обнадеживают и планируется проведение цитогэмбриологического исследования.

**Ключевые слова:** виноград, *in vitro*, микроклональное размножение, сорт, регенерация.

Z.D.Koptleuova, A.M. Abdihalyk, S.S.Bekkuzhina  
**The problems of implantation of vine by *in vitro***

For the purpose of vine's growth cultivation in the North of Kazakhstan were prosecuted experimental works for obtaining micro grape stalks from frigostable sorts, bred by Russian selectionists.

Fully sterile growth obtained for following sorts: Vaskovsky's Souvenir, Russian Currant and Beauty of the North. Vine's growth adventitious buds initiation in culture medium MS with 0.1% of benzylaminopurine was induced by *in vitro*. In further passaging forming of buds and embryoids conglomeration was observed.

Findings are encouraging and conducting of cytoembryologically research is planning.

**Key words:** vine, *in vitro*, microclonal multiplication, kind of, regeneration.

Жүзім – әлем ауылшаруашылығының тәжірибе-бесіндегі ежелгі және экономикалық маңызға ие көпжылдық жеміс-жидек дақылдарының бірі. *Vitis vinifera* L.-ның жерортатеңіздік және ортаазиялық тегі бар [1].

Қазақстанның ауыл шаруашылық өндірісінің тиімді салаларының бірі жүзім шаруашылығы. Алайда республикамызда жүзім егістіктерінің

аумағы өткен ғасырдың 80-ші жылдарымен салыстырғанда екі есе қысқарды [2].

Оңтүстік Қазақстан, Жамбыл, Алматы және Қызылорда облыстарының агро-климаттық жағдайлары жүзім дақылын өсіріп баптауға қолайлы. Қазақстанның жүзім шаруашылығы өнімдерінің отандық нарығы күмәнді сапасы бар шетелдік шикізат пен шарапқа алмастырылды [3].

Үкімет қабылдаған «Қазақстанда жүзім шаруашылығын қайта қалпына келтіру және дамыту бағдарламасы» (2001 жылдың 12 желтоқсанынан №1621 Үкімет қарауы) жалпы өндіріс деңгейін 200-220 мың тоннаға жеткізу үшін жүзім шаруашылығы егістерін 70-80 жылдар көлеміне дейін қайта қалпына келтіруді қарастырған.

Шетелден үлкен көлемде отырғызылатын материал сатып алу мол қаржы салуды қажет етеді, сондықтан Қазақстанда бұл саланы қайта қалпына келтіру мәселесін шешу үшін бірнеше бағыттарды дамыту қажет. Оның ішінде – микроклоналды көбейту әдісін пайдалану. Микроклоналды көбейту жаңа бағалы клондарды және пайдалы белгілерге ие сорттарды жылдам клондау, алғашқы материал шектеулі болғанда, отырғызылатын материалды патогенді инфекциядан сауықтыру үшін қолданылуы мүмкін.

Микрокөбейтудің негізгі мақсаты генетикалық тұрақты өсімдіктерді өндіру болып табылады, ол – клондық тазалықты сақтаудың маңызды шарты [4]. Бұл әдіске көбеюдің жоғары коэффициенті, қадағаланып отыратын жағдайда өсімдікті жыл бойы өсіру, өндірісті жоспарлау және нарықтың құбылмалы сұранысына лезде жауап беру мүмкіндіктерінің арқасында тең келетіні жоқ.

Зерттеуіміздің негізгі мақсаты жүзім дақылын микроклоналды көбейту әдісі көмегімен қысқа мерзім ішінде көптеп микроқалемшелер алу.

Жаңалығы – Солтүстік Қазақстан аймағына жүзім дақылдарын тарту барысында *in vitro* жағдайында тез арада көбейту және селекция жұмыстарын жеңілдететін технологияларды жетілдіру.

#### **Зерттеу материалдары мен әдістері**

Жұмысымыздың жүзімді *in vitro* жағдайында көбейтудің жалпы технологиясына келесі кезеңдер кіреді: бастапқы экспланттарды сұрыптап алып, залалсыздандыру; экспланттарды *in vitro* өсіндісіне енгізу; бүршік пролиферациясы және өркендер дамуының индукциясы.

Соңғы онжылдықтар бойы микроклоналды көбейту үшін әр түрлі эксплант типтерінен өсімдік регенерациясын тудыратын эмбриогенді каллустар алынды, өркен түйіндерінен, жапырақтардан және жапырақ қалемшелерінен және т.б. органогенез қоздырылды [5; 6].

Микроклоналды көбейту әдісін жетілдіру бойынша Р.Г.Бутенконың ғылыми зерттеу еңбектері әлемге белгілі [9].

Ал Қазақстанда Н.А. Рябушкина жүзім өсіндісін өсіру барысында MS қоректік ортасына қосылған гормондар қанықпасы оңтайландырылған [10].

Осы және тағы басқа зерттеу жұмыстарын салыстыра отырып, экспланттарды отырғызуға құрамында 0,1%  $\mu\text{M}$  бензиламинопурина (БАП), 30 г/л сахароза, 0,6% агар бар Мурасиге Скуга (МС) қоректік ортасы қолданылды.

Біздің зерттеу жұмысымызда суыққа төзімді Ресей сорттары пайдаланылды: тағамдық – Краса Севера; әмбебап бағытта пайдаланылатын – Сувенир Васьковского, Каринка Русская.

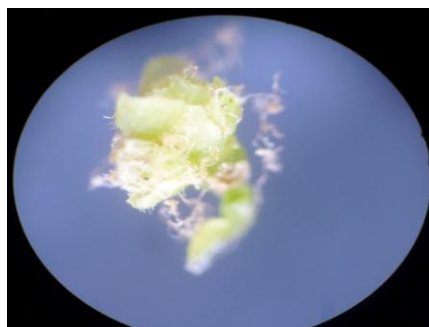
Бастапқы өсімдігінің белгілерін сақтап қалу үшін микроклоналды көбейтуді меристемалық ұлпа немесе меристемасы бар өркен апекстерін, бүршіктерін пайдалану қажет. Эксплант ретінде бүршіктер пайдаланылады. 1-суретте көрсетілгендей 0,9-1 мм көлемді меристемалар бүршіктен асептикалық жағдайда бөлініп алынды.

Залалсыздандыру барысында экспланттар 70% этил спиртімен сүртіліп, тұмсық жапырақшалары бар төбелік меристемаға дейін сыртқы қабықшаларынан тазартылды. Кейін 50:50 бидистильденген су мен натрий гипохлориді ерітіндісінде 5' залалсыздандырылып, бірнеше рет залалсыз суда шайылды. Залалсыздандырылған экспланттар БАП қосылған қоректік ортаға енгізілді.

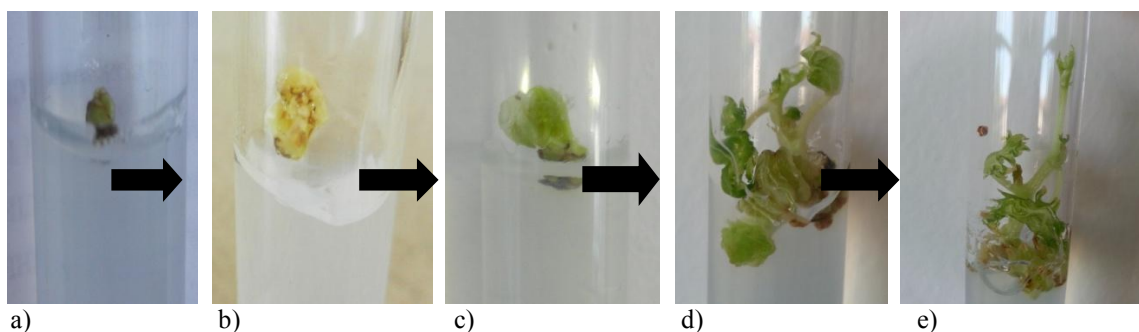
#### **Зерттеу нәтижелері және оларды талқылау**

Жүзім бүршіктерін *in vitro* жағдайына енгізу кезінде таза өсінді алу мәселесі өте маңызды болды. *In vitro* жағдайына енгізу кезінде жүзім сорттарының ішінен Сувенир Васьковского сорты 100%, Каринка Русская сорты 67%, Краса Севера 97% таза өсінді берді. Бастапқы кезеңде экспланттардың барлығы да өркен болып дамыды.

Отырғызылған эксплант алғашқы екі апта қараңғыда 28°C температурада өсірілді, сондықтан ақшыл түсті (2-сурет, b)). 3 аптадан бастап жасанды жарықта өсірілді, осы кезде өсінді жасыл бола бастайды (2-сурет, c)). 4 аптада жапырақшалары пайда болып, өркенге айналады (2-сурет, d)). 5-6 апталарда өркен созылып өседі. Жүзім бүршігінің өркен болып дамуына бір айдан артық уақыт қажет болды.



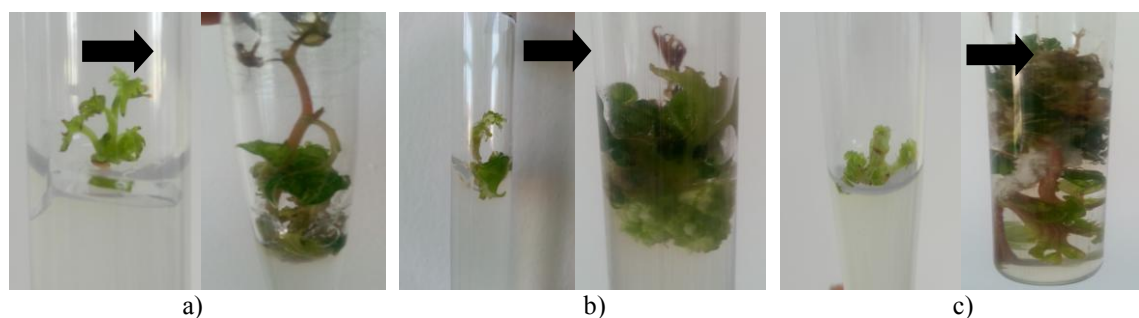
1 сурет – Бастапқы отырғызуға алынған жүзім дақылының меристемасы.



2 сурет – Жүзім бүршіктерінің өркен болып дамуы:  
а) 1 апта; б) 2 апта; с) 3 апта; d) 4 апта; е) 5 апта.

1 кесте – Жүзім дақылын микроклоналды көбейтудің 1-ші пассажының нәтижесі.

Сорт	Пассаждалған өркендер саны	Өркен саны/%		Конгломерат саны/%		Эмбрионд құрылымының саны/%	
Сувенир Васьковского	24	12	50	12	50	0	0
Каринка Русская	13	6	46	0	0	0	0
Краса Севера	61	20	33	39	64	2	3



3 сурет – Алғашқы пассаж нәтижесінде: а) өркеннің дамуы; б) бүршік конгломератының микроөркендер болып дамуы; с) эмбриондық құрылымның дамуы.



**4 сурет** – Жүзім дақылының көшірілген эмбрионд құрылымы. 4апта.



**5 сурет** – Жүзім дақылында микроөркендердің түзілуі.

Біріншілік пассаж нәтижесінде жүзім өсіндісінің дамуында өркенмен қатар бүршік конгломератының түзілуін байқадық. Сувенир Васьковского сортын қалемшелеу нәтижесінде тең мөлшерде өркен және бүршік конгломераты түзілді. Каринка Русская сортында тек өркен дамыды. Краса Севера дақылында бүршік конгломератының түзілуі жоғары болды (1-кесте).

Краса Севера сортының өсінділері микроөркендерді түзіп дамыды, сол себепті олардың микроөркендері қалемше арқылы көбейтілді. Микроөркендер аталмыш МС қоректік ортасына көшірілді.

3-суретте көрсетілгендей бірінші пассаж нәтижесінде жасанды жарықтандыру жағдайында 30-35 күн ішінде жүзім өсіндісінің өркені дамыды (3-сурет, а)).

25-30 күн ішінде жүзім өсіндісінен эмбриондық құрылым (3-сурет, с)) түзілді. Эмбриондық түзілуі барысында өсіндінің жапырақшалары мен сабағы шіриді.

Көшірілген транспланттан бүршік конгломераты пайда болу үрдісі байқалды. 35-40 күн

ішінде олардың микроөркендер болып дамуы көрініс тапты (3-сурет, б)).

Эмбриондық құрылым жаңа гормонсыз МС қоректік ортасына көшірілді. Ол алғашқы екі апта қараңғыда 28 °С температурасында өсірілсе, соңғы екі апта жасанды жарықтандыру жағдайында өсірілді. 4 аптадан кейін эмбриондық құрылым бойынан қалың сабаққа ұқсас және сол сабақтың ұшында жапырақшалары бар бүршіктер көріне бастады (4-сурет).

5-суретте жүзім дақылы өсіндісінің бірінші пассажынан кейін бүршік конгломераты мериклондарының дамуы көрсетілген. Алайда барлық мериклондар бірдей өспейді, кейбіреулері баяу дамып, өсуі тежеледі. Қорытындылай келе, жүзім дақылынан *in vitro* жағдайында өркен, эмбриондық құрылымы және бүршік конгломератының түзілуі қоздырылды. Бастапқы материал шектеулі болғандықтан, қойылған мақсатымыз толық орындалған жоқ. Алайда зерттеу жұмыстары жалғастырылуда және цитоэмбриологиялық зерттеулер жүргізу жоспарланады.

#### Әдебиеттер

1 Рябушкина Н.А., Галиакпаров Н.Н. Перспективы генетической трансформации винограда (*Vitis vinifera* L.) с целью улучшения полезных признаков культуры // Биотехнология. Теория и практика. – 2006. – №3. – С. 16-26.;

2 Маденов Э.Д. Состояние и перспективы развития виноградарства в Казахстане/ Э.Д.Маденов, Л.В.Береснева // Аграрная наука – сельскохозяйственному производству Республики Казахстан, Сибири, Монголии и Кыргызстана. – Алматы: Бастау, 2005.-С.103-106.;

3 Дудикова Г.Н., Орлюк Т.М., Мамлеева И.П. Перспективы использования плодово-ягодного сырья для производства натуральных пищевых добавок // Биотехнология. Теория и практика. – 2008. – №3. – С. 18-27.;

4 Franks T., Botta R., Thomas MR. Chimerism in grapevines: implications for cultivar identity, ancestry and genetic improvement. *Theor. Appl. Genet.* 104:192-199; 2002.;

5 Практикум по сельскохозяйственной биотехнологии. – М.: КолосС, 2006. – 144с.: ил. – (Учебники и учеб.пособия для студентов высш.учеб.заведений). Калашникова Е.А., Кочиева Е.З., Миронова О.Ю.;

6 Stamp J.A., Colby Sh.M., Meredith C.P. Direct shoot organogenesis and plant regeneration from leaves of grape(*Vitis* spp.)// *Plant Cell, Tissue and Organ Culture.*–1990.–V.22–P.127-133;

7 Микроклональное размножение винограда. Б. Бургутин институт физиологии растений им. К. А. Тимирязева АН СССР, Москва Биология культивируемых клеток и биотехнология растений: Сборник статей под ред. Р.Г.Бутенко, М.: Наука, 1991. 216-220с.;

8 Микроклональное размножение сортов винограда, созданных в Казахстане. Авторы Рябушкина Н.А., Жунусова Ж.С., Ерболова Л.С., Берестенолва Л.В., ГалиакпароваН. Институт биологии и биотехнологии растений, г. Алматы // Биотехнология. Теория и практика. – 2012. – №1. С.41-49.;

9 Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture // *Physiol. plant.* 1962. Vol. 15. R. 473 497.

#### Reference

1 Rjabushkina N.A., Galiakparov N.N. Perspektivy geneticheskoy transformacii vinograda (*Vitis vinifera* L.) s cel'ju uluchsheniya poleznykh priznakov kul'tury // *Biotehnologija. Teorija i praktika.* – 2006. – №3. – С. 16-26.;

2 Madenov Je.D. Sostojanie i perspektivy razvitija vinogradarstva v Kazahstane/ Je.D.Madenov, L.V.Beresneva // *Agrarnaja nauka – sel'skohozjajstvennomu proizvodstvu Respubliki Kazahstan, Sibiri, Mongolii i Kyrgyzstana.* – Алматы: Bastau, 2005.-S.103-106.;

3 Dudikova G.N., Orljuk T.M., Mamleeva I.P. Perspektivy ispol'zovanija plodovo-jagodnogo syr'ja dlja proizvodstva natural'nyh pishhevnykh dobavok // *Biotehnologija. Teorija i praktika.* – 2008. – №3. – С. 18-27.;

4 Franks T., Botta R., Thomas MR. Chimerism in grapevines: implications for cultivar identity, ancestry and genetic improvement. *Theor. Appl. Genet.* 104:192-199; 2002.;

5 *Praktikum po sel'skohozjajstvennoj biotehnologii.* – М.: KolosS, 2006. – 144s.: il. – (Uchebniki i ucheb.posobija dlja studentov vyssh.ucheb.zavedenij). Kalashnikova E.A., Kochieva E.Z., Mironova O.Ju.;

6 Stamp J.A., Colby Sh.M., Meredith C.P. Direct shoot organogenesis and plant regeneration from leaves of grape(*Vitis* spp.)// *Plant Cell, Tissue and Organ Culture.* –1990.–V.22–P.127-133;

7 Микроклональное размножение винограда. Б. Бургутин институт физиологии растений им. К. А. Тимирязева АН СССР, Москва Биология культивируемых клеток и биотехнология растений: Сборник статей под ред. Р.Г.Бутенко, М.: Наука, 1991. 216-220с.;

8 Микроклональное размножение сортов винограда, созданных в Казахстане. Авторы Рябушкина Н.А., Жунусова Ж.С., Ерболова Л.С., Берестенолва Л.В., ГалиакпароваН. Институт биологии и биотехнологии растений, г. Алматы // Биотехнология. Теория и практика. – 2012. – №1. С.41-49.;

9 Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture // *Physiol. plant.* 1962. Vol. 15. R. 473 497.