

ӘОЖ 57.085.2
ҒТАМР 62.33.29

ДӘРІЛІК ӨСІМДІК *ORIGANUM VULGARE* КАЛЛУСОГЕНЕЗИНЕ ФИТОГОРМОНДАРДЫҢ ӘСЕРІ

Досымбетова С.А.¹, Амирова А.К.¹, Курбангалиева Т.А.¹
¹«Алматы технологиялық университеті» АҚ, Алматы, Қазақстан
(symbat_89@list.ru)

Аңдатпа

Қазіргі уақытта оқшауланған клеткалар, ұлпалар мен мүшелер культурасының әдісі физиология, эксперименталды ботаника, генетика, биохимия және молекулалық биология саласындағы зерттеулерде кеңінен қолданылады. Бұл әдістің клеткалық дифференциация, гисто- және морфогенез заңдылықтарын, генетикалық ақпараттардың жүзеге асырылу механизмдерін және фитогормондардың жекелеген топтарының осы процестердегі рөлін зерттеу үшін қолданылады.

Жұмыстың мақсаты *Origanum vulgare L.* өсімдігінің каллустық культурасына фитогормондардың әсерін зерттеу болып табылады. Ең алдымен өсімдік тұқымынан *in vitro*-да стерильді өсімдіктері өсіріліп, сол өсімдік экспланттары каллустық культура алу мақсатында пайдаланылды. Өсу реттегіштері ретінде коректік ортаға 2,4-Д және 6-БАП әртүрлі концентрацияда қосылған коректік орталарда (1,0 мг/л 2,4-Д және сәйкесінше 0,5 мг/л, 1,0 мг/л, 1,5 мг/л, 2,0 мг/л, 4,0 мг/л, 5,0 мг/л, 6,0 мг/л, 9,0 мг/л 6-БАП) каллус ұлпаларының өсуі бақыланып, каллусогенез индукциясы үшін ең тиімді орта МС 2 (МС+1,0 мг/л 2,4-Д + 0,5 мг/л 6-БАП) екені анықталды. Алынған каллус ұлпалары ақшыл түсті және борпылдақ болды.

Түйін сөздер: *Origanum vulgare L.*, каллус, каллусогенез, *in vitro*, 2,4-Д, БАП

ВЛИЯНИЕ ФИТОГОРМОНОВ НА КАЛЛУСОГЕНЕЗ ЛЕКАРСТВЕННОГО РАСТЕНИЯ *ORIGANUM VULGARE*

Досымбетова С.А.¹, Амирова А.К.¹, Курбангалиева Т.А.¹
АО «Алматинский технологический университет», Алматы, Казахстан

Аннотация

В настоящее время метод культивирования изолированных клеток, тканей и органов широко используется в исследованиях в области физиологии, экспериментальной ботаники, генетики, биохимии и молекулярной биологии. Метод используется для изучения закономерностей клеточной дифференцировки, гисто- и морфогенеза, механизмов реализации генетической информации и роли отдельных групп фитогормонов в этих процессах.

Целью данной работы является изучение действия фитогормонов на каллусную культуру растения *Origanum vulgare L.* Прежде всего, стерильные растения выращивали *in vitro* из семян растений, а экспланты этого же растений использовали для получения каллусных культур. Регуляторы роста - это 2,4-Д и 6-БАП в питательных средах, добавленных в различных концентрациях (1,0 мг/л 2,4-Д және сәйкесінше 0,5 мг/л, 1,0 мг/л, 1,5 мг/л, 2,0 мг/л, 4,0 мг/л, 5,0 мг/л, 6,0 мг/л, 9,0 мг/л 6-БАП) для роста каллусной ткани и индукции каллусогенеза. Наиболее эффективной средой оказалась МС 2 (МС + 1,0 мг/л 2,4- Д + 0,5 мг/л 6-БАП). Сформировались беловатые каллусные ткани рыхлой морфологии.

Ключевые слова: *Origanum vulgare L.*, каллус, каллусогенез, *in vitro*, 2.4-Д, БАП

THE EFFECT OF PHYTOHORMONES ON CALLUSOGENESIS OF THE MEDICINAL PLANT *ORIGANUM VULGARE*

Dossymbetova S.A., Amirova A.K., Kurbangaliyeva T.A.
JSC "Almaty Technological University", Almaty, Kazakhstan

Annotation

Currently, the method of culturing isolated cells, tissues, and organs is widely used in research in the fields of physiology, experimental botany, genetics, biochemistry, and molecular biology. The method is used to study the regularities of cell differentiation, histo- and morphogenesis, the mechanisms of implementation of genetic information and the role of individual groups of phytohormones in these processes.

The purpose of this work is to study the effect of phytohormones on the callus culture of the plant *Origanum vulgare L.* First of all, sterile plants were grown *in vitro* from plant seeds, and those plant explants were used to obtain callus cultures. Growth regulators are 2.4-D and 6-BAP in nutrient media added in different concentrations (1.0 mg/l 2.4-D and respectively 0.5 mg/l, 1.0 mg/l, 1.5 mg/l, 2.0 mg/l, 4.0 mg/l, 5.0 mg/l, 6.0 mg/l, 9.0 mg/l 6-BAP) for growth of callus tissue and induction of callusogenesis. The most effective medium was found to be MS 2 (MS + 1.0 mg/l 2.4-D + 0.5 mg/l 6-BAP). The resulting callus tissue was light and loose.

Кіріспе

Origanum туысының әртүрлі деректерге сәйкес Еуропа, Жерорта теңізі және Кіші Азияда өсетін 45-тен астам түрлері бар. ТМД елдері кеңістігінің территориясында ең көп таралған полиморфты өсімдік түрі – *Origanum vulgare L.* (кәдімгі киікоты) болып табылады. Систематикалық орны: *Magnoliophita* (Жабық тұқымдылар) бөлімі, *Magnoliopsida* (Қосжарнақтылар) класы, *Lamiidae* (Ламеиды) класс тармағы, *Lamiales* (Ерінгүлділер) қатары, *Lamiaceae Mart.* тұқымдасы, *Lamioideae* тұқымдас тармағы, *Origanum* (Киікоты) туысы, *Origanum vulgare L.* (Душица обыкновенная – Кәдімгі киікоты) түрі. Кәдімгі киікоты – эфирмайлы, дәрілік және татымды-хош иісті көпжылдық шөптесін өсімдік. *O. vulgare* өсімдігінің отаны Жерорта теңізі болып табылады [1]. Бұл өсімдік Еуропаның бүкіл территориясында және ТМД-ның еуропалық бөлігінде (Арктикадан басқа), сонымен қатар Сібірдің батыс және оңтүстік аудандарында, Қазақстанда, Түрікменстан, Армения, Грузия, Қырым, Кавказда, Орта және Кіші Азияның таулы аудандарында, Күнгей Кавказ, Гималай тауларында, Қытай елінің батысында, Монғолияда, Иранда, Солтүстік Америкада, Африкада кеңінен таралған. Киікоты өсімдігі орманды дала өсімдігі болып табылады, шалғынды дала немесе шалғынды орман экологиясы ценозы элементтері қатарына жатады. Жеке түрінде және топтасып өседі, бірақ та тұтас бір қопа (тоғай) түзбейді. Қазіргі уақытта эфир майының құрамындағы құнды фенолы көп мөлшерде болатын жоғарымайлы сортын жасап шығаруға бағытталған *Origanum vulgare L.* селекциясы жұмыстары жүргізілуде. Ресей Федерациясының «Пайдалануға рұқсат етілген селекциялық жетістіктің мемлекеттік тізімінде» *O. vulgare* түрінің тағамдық және салат бағытындағы 17 сорты бар [2]. Киікоты өсімдіктері 20-90 см биіктікке дейін өседі, сабақтары аздап түкті немесе жаппай жалаңаш болып келеді, монокарпты шөптесін типті қалыптастырады, сабағының көлденең кесіндісі төртқырлы және сабағының негізі тармақталған. Жапырақтары

қарама қарсы орналасқан және сағақты болып келеді. Өркеннің ортаңғы бөлігіндегі сағақтарының ұзындығы шамамен 0,4 см құрайды, ал төменгі бөлігінде 1 см-ге дейін болады. Жапырақтары ұзындығы 1-5 см, ені 1-3 см болатын жұмыртқа тәріздес, сопақша немесе сопақша жұмыртқа тәріздес, доғал немесе үшкір типті, жиегі ұсақ тісті немесе тұтас пішінді болып келеді. Маусым-тамыз айларында гүлдейді, жемісі тамыз-қыркүйек айларында пісіп жетіледі. Жемісі төрт құрғақ, дөңгелек немесе жұмыртқа тәрізді, жалаңаш, қоңыр немесе қара-қоңыр түсті жаңғақтардан құралады. 1000 тұқымның салмағы, әртүрлі дерек көздеріне сәйкес, 0,05-0,20 г аралығында ауытқиды [3]. Киікотының шикізатын жаппай гүлдеу кезеңі және гүл қауыздары толық жарылған уақытта (маусым-тамыз) жинау қажет. Одан кейін кешігіп жинаған уақытта құрамындағы эфир майы және сәйкесінше шикізаттың сапасы да төмендейді. Жақсы жабық шыны банкаларда сақтау кезінде татымды-хош иісті шикізат үш жылға дейін бағалы қасиеттерін жоғалтпайды. Гүлдеу кезеңінде өсімдіктің жерасты бөлігінің құрамында эфир майлары, аскорбин қышқылы, илік және ащы заттар кездеседі. Киікотының негізгі құндылығы эфир майының құрамына тимол және карвакрол тәрізді компоненттер кіретіндігінде болып табылады. Карвакролдың өзіндік ісері 18 танымал антибиотиктерден де әлдеқайда күштірек екендігі анықталған [4]. *Origanum vulgare L.* өсімдігі оны алудағы басты шикізат көзі болып саналады. Киікотының шикізаты және эфир майы тағам өндірісінде дәмдеуіш ретінде, ара шаруашылығында балды өсімдік ретінде, хош иісті шай өндірісінде, парфюмерлік-косметикалық, лак және бояу шығару, фармацевтикалық өнеркәсіптерінде, сонымен қатар дәстүрлі және халық медицинасында қан тоқтататын зат ретінде, бала емізетін аналарда лактацияны күшейту үшін, сондай-ақ менопауза кезінде кеңінен пайдаланылады. Құрамына киікоты шикізаты және майы қосылатын препараттар тыныштандыратын әсерге ие болып келеді, бронхтық және асқорыту бездерінің секрециясын күшейтеді, сонымен қатар ішектердің толқи жиырылуын белсендендіреді. Сонымен бірге, *Origanum vulgare* өсімдігінің құрамында ісік дамуының қаупін төмендететін заттар кездеседі [5].

Зерттеу материалдары және әдістері.

Зерттеу жұмысының нысаны ретінде *Origanum vulgare L.* тұқымы және сол тұқымдардан *in vitro* өсірілген өсімдік экспланттары (сабақ және жапырақ) пайдаланылды. *Origanum vulgare* өсімдігінің тұқымы өте ұсақ болып келеді: 0,1 г-да 1000-ға жуық тұқым болады (1-сурет).



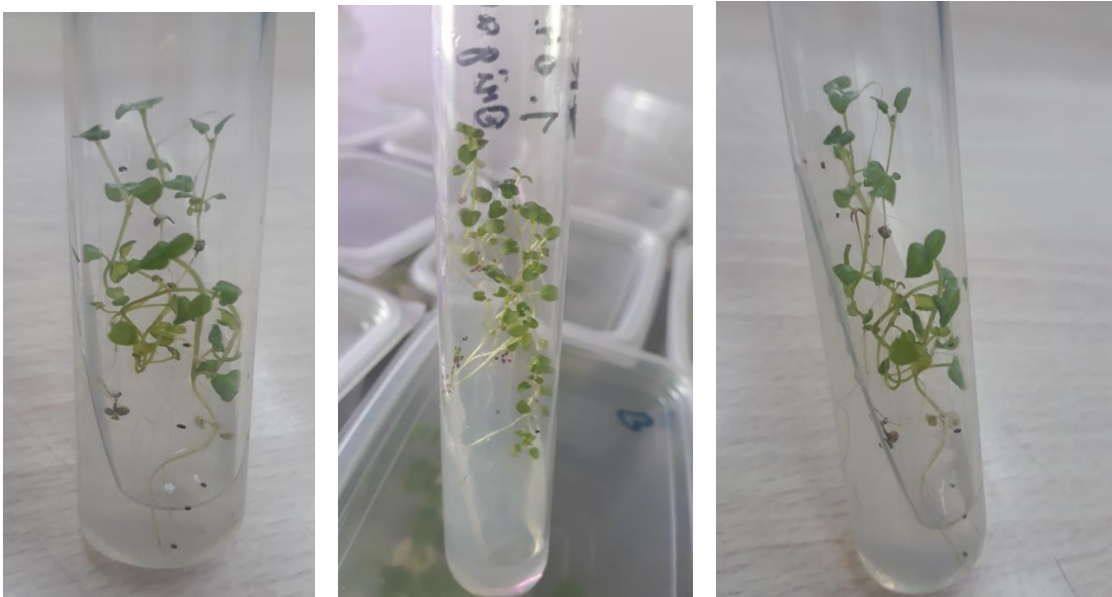
Сурет 1 - *Origanum vulgare L.* тұқымы

Өсімдік материалдарын залалсыздандыру, *in vitro*-да клетка, ұлпа және мүшелер культурасы бойынша эксперименталдық жұмыстар биотехнологияда жалпы қабылданған әдістерге сүйеніп жүргізілді [6].

Origanum vulgare L. тұқымы залалсыздандыру жұмыстары 70% этанолда 1 минут және 1% NaOCl-де 5 минут залалсыздандырылды. Залалсыздандырылған

тұқымдар гормон қосылмаған Мурасиге-Скуг қоректік ортасы бар пробиркаларға отырғызылды. Тұқымдар 3 күннен бастап өне бастады, ал 30-40 күн ішінде өсіп шықты (2-сурет). Сол пробиркада өсіп шыққан өсімдіктердің жапырақтары мен сабақтары *Origanum vulgare* каллустық культурасын алу мақсатында пайдаланылды. Каллус ұлпалары фитогормондардың (2,4-Д және 6-БАП) әртүрлі концентрациялары қосылған 9 нұсқасында өсірілді (1-кесте). Жапырақтары мен сабақтарын асептикалық жағдайда, ламинар бокстың астында 0,5-0,6 см кесінділерге бөліп, қатты қоректік ортасы бар Петри табақшаларына әрқайсысынан жеке-жеке 6 эксплантан 10 табақшаға отырғыздық. Каллусогенез құбылысын 30 күн бақыладық.

Алынған мәліметтердің статистикалық өңдеу жұмыстары Excel бағдарламасында жасалынды.



Сурет 2 – тұқымнан өсіп шыққан *Origanum vulgare* өсімдігі

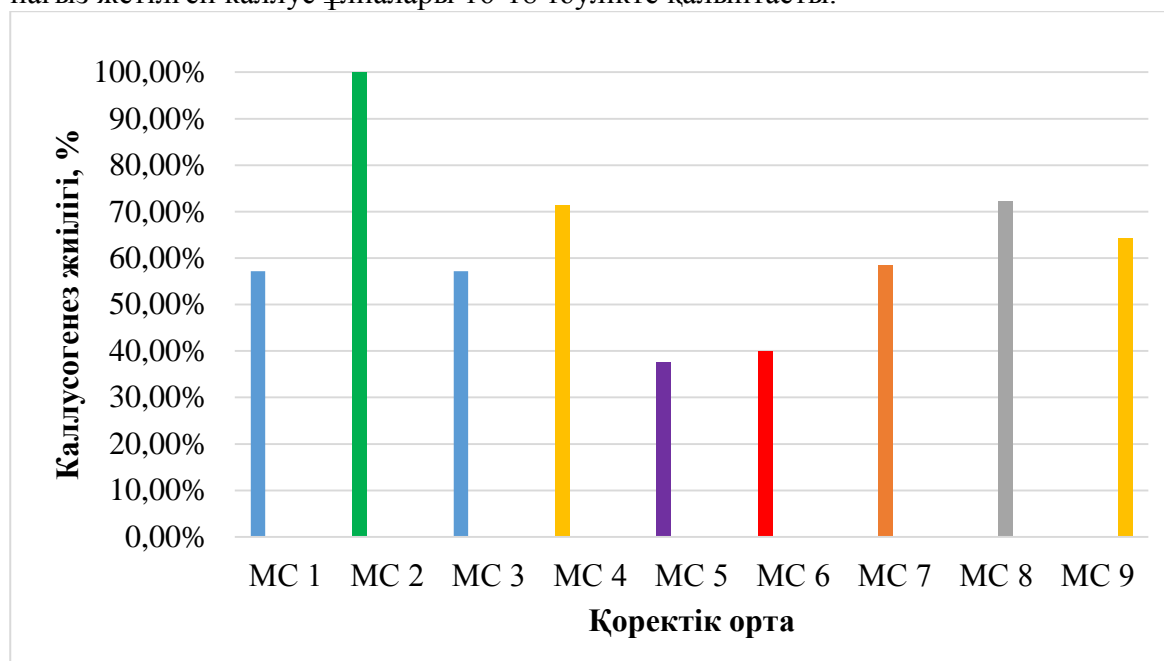
Кесте 1 - *Origanum vulgare* өсімдігінің каллустық культурасы үшін таңдап жасалынған қоректік орта түрлерінің нұсқалары (1 л):

| № | Қоректік орта ағауы | Минералдық негіз | Мезоинозит г/л | Глицин мг/л | РР мг/л | В ₆ мг/л | В ₁ мг/л | Сахароза г/л | 2,4 Д мг/л | БАП мг/л |
|---|---------------------|------------------|----------------|-------------|---------|---------------------|---------------------|--------------|------------|----------|
| 1 | МС 1 | МС (4,4 г/л) | 100 | 2 | 0,5 | 0,5 | 0,1 | 30 | - | - |
| 2 | МС 2 | МС (4,4 г/л) | 100 | 2 | 0,5 | 0,5 | 0,1 | 30 | 1 | 0,2 |
| 3 | МС 3 | МС (4,4 г/л) | 100 | 2 | 0,5 | 0,5 | 0,1 | 30 | 1 | 1,0 |
| 4 | МС 4 | МС (4,4 г/л) | 100 | 2 | 0,5 | 0,5 | 0,1 | 30 | 1 | 2,0 |
| 5 | МС 5 | МС (4,4 г/л) | 100 | 2 | 0,5 | 0,5 | 0,1 | 30 | 1 | 4,0 |
| 6 | МС 6 | МС (4,4 г/л) | 100 | 2 | 0,5 | 0,5 | 0,1 | 30 | 1 | 5,0 |

| | | | | | | | | | | |
|---|------|-----------------|-----|---|-----|-----|-----|----|---|-----|
| 7 | МС 7 | МС (4,4 г/л) | 100 | 2 | 0,5 | 0,5 | 0,1 | 30 | 1 | 1,5 |
| 8 | МС 8 | МС (4,4 г/л) | 100 | 2 | 0,5 | 0,5 | 0,1 | 30 | 1 | 6,0 |
| 9 | МС 9 | МС (4,4 г/л) | 100 | 2 | 0,5 | 0,5 | 0,1 | 30 | 1 | 9,0 |

Зерттеу нәтижелері

Origanum vulgare өсімдігі экспланттарынан каллус ұлпаларының шығуы эксплант түріне және қоректік орта құрамындағы гормондарға байланысты әртүрлі байқалды (3-сурет). Каллустың алғашқы белгілері 5 тәулікте байқала бастады, ал нағыз жетілген каллус ұлпалары 16-18 тәулікте қалыптасты.

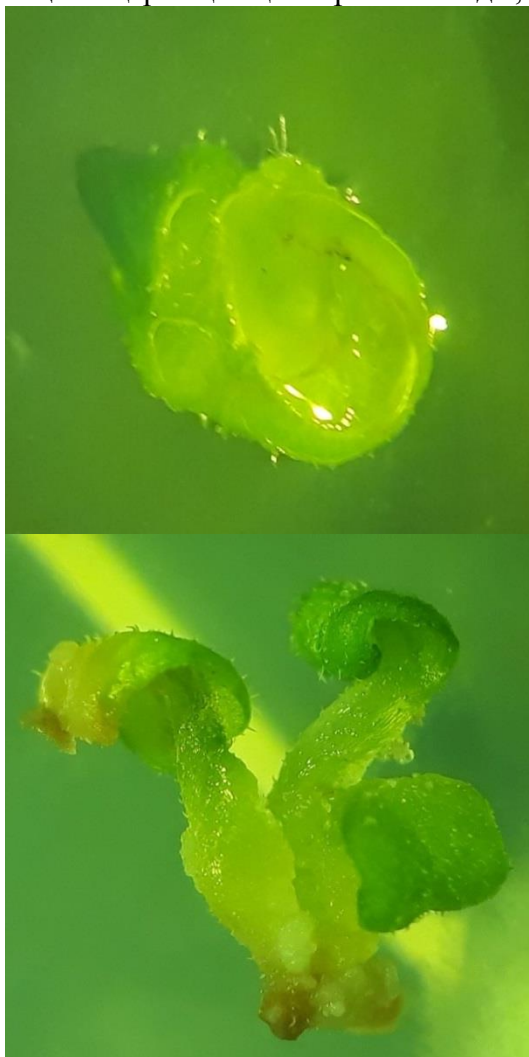


Мурасиге и Скуг қоректік орта құрамындағы гормондардың концентрациясы (мг/л):
 МС1: гормоны жоқ; МС2: 2,4-Д (1,0), 6-БАП (0,5); МС3: 2,4-Д (1,0), 6-БАП (1,0);
 МС4: 2,4-Д (1,0), 6-БАП (2,0); МС5: 2,4-Д (1,0), 6-БАП (4,0); МС6: 2,4-Д (1,0), 6-БАП
 (5,0); МС7: 2,4-Д (1,0), 6-БАП (1,5 мг/л); МС8: 2,4-Д (1,0), 6-БАП (6,0); МС9: 2,4-Д
 (1,0), 6-БАП (9,0)

Сурет 3 - *Origanum vulgare* каллусогенезіне қоректік орта құрамындағы гормондардың әсері

Алынған зерттеу нәтижелерін талдай отырып, *Origanum vulgare* өсімдігі каллусогенезінің индукциясына қоректік орта құрамына қосылған өсу гормондары тікелей әсер етті деп айта аламыз. Себебі, гормоны жоқ қоректік ортада өскен каллус ұлпаларының көлемі өте кіші болды және каллусогенезінің пайыздық көрсеткіші 57,14 % құрады. Ал, қоректік орта құрамына өсу гормондарын қосқан кезде каллусогенез процесінің индукциясы байқалды. Каллусогенез процесінің индукциясы әртүрлі шамада болды, кей нұсқаларда, яғни МС 5 және МС 6 қоректік орталарында каллусогенез процесі төмендеп (сәйкесінше 37,5 % және 40 %), каллус ұлпаларының шығуы өте баяу жүрді. *Origanum vulgare* өсімдігі каллусогенезінің максималды индукциясына (100 %) МС 2 қоректік ортасында қол жеткіздік. Өсіп шыққан каллус ұлпаларының түсі ақшыл және борпылдақ болды. Каллустық

культураны қоректік ортада 30 күннен астам уақыт культивирлеу нәтижесінде түсі соңына қарай қошқыл түске айналды, бірақ борпылдақтық қасиетін жоғалтпады.



Сурет 4 - *Origanum vulgare* жапырағынан өсіп шығып келе жатқан каллус ұлпасы



Сурет 4 - *Origanum vulgare* сабағынан өсіп шығып келе жатқан каллус ұлпасы

Қорытынды

Өсімдік ұлпаларын *in vitro* өсіру кезінде каллусогенез индукциясына қоректік орта құрамындағы фитогормондар тікелей әсер етеді. *Origanum vulgare* өсімдігі каллусогенезінің индукциясы үшін ең тиімді орта МС 2 (МС+1,0 мг/л 2,4-Д + 0,5 мг/л 6-БАП) екені анықталды. Алынған каллус ұлпалары ақшыл түсті және борпылдақ болды.

Пайдаланылған әдебиеттер

1. Егорова Н.А., Кривохатко А.Г., Ставцева И.В., Каменек Л.И. Микроразмножение эфиромасличных растений с использованием культуры изолированных тканей и органов *in vitro* // Таврійський вісн. аграр. науки. — 2013. — № 1. С. 125-132
2. Crestea T.O., Falticeanu M., Prisecaru M. Considerations regarding the effects of growth regulators over the *in vitro* morphogenetic reaction at *Origanum vulgare* L. // J. Plant Develop. – 2008. – Vol. 15. P. 46-55
3. Егорова Н.А. Некоторые аспекты биотехнологии эфиромасличных растений: микроклональное размножение, синтез продуктов вторичного метаболизма *in vitro*. // Физиология растений и генетика. – 2014. – Т 46. №3. С. 145-157
4. Зубайдова Т.М. Нейротропное действие настоя травы душицы мелкоцветковой и обыкновенной (НТДМ) и (НТДО) // Проблемы фитотерапии и фитотермакологии: Материалы 1 съезда фитотерапевтов и фитотермакологов Таджикистана. – Душанбе, - 2015. С.87-95
5. Abedaljasim M. Jasim Al-Jibouri, Ashwaq S. Abd, Duha M. Majeed, Eman N. Ismail. In fluence of abiotic elicitors on accumulation of thymol in callus cultures of *Origanum vulgare* L. // Journal of Life Sciences. – 2012. – Vol. 6. P. 89-95
6. Турашева, С.Қ., Ерназарова, Г.И. Биотехнология негіздері: жоғары және төмен сатыдағы өсімдіктер биотехнологиясы: Оқу құралы. - Алматы: Қазақ университеті, - 2016. - 402 б.