

ҒЫЛЫМ ЖӘНЕ ЖОҒАРЫ БІЛІМ МИНИСТРЛІГІ
МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ



Л. Н. ГУМИЛЕВА АТЫНДАҒЫ
ЕУРАЗИЯ ҰЛТТЫҚ УНИВЕРСИТЕТІ

ЕВРАЗИЙСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ
УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ
Л. Н. ГУМИЛЕВА

АСТАНА, ҚАЗАҚСТАН
14 СӘУІР 2023 ЖЫЛ

АСТАНА, КАЗАХСТАН
14 АПРЕЛЯ 2023 ГОД

"ОМАРОВ ОҚУЛАРЫ: ХХІ
ҒАСЫРДЫҢ БИОЛОГИЯ ЖӘНЕ
БИОТЕХНОЛОГИЯСЫ" АТТЫ
ХАЛЫҚАРАЛЫҚ ҒЫЛЫМИ
ФОРУМНЫҢ БАЯНДАМАЛАР
ЖИНАҒЫ

СБОРНИК МАТЕРИАЛОВ
МЕЖДУНАРОДНОГО НАУЧНОГО
ФОРУМА "ОМАРОВСКИЕ ЧТЕНИЯ:
БИОЛОГИЯ И БИОТЕХНОЛОГИЯ
ХХІ ВЕКА"

УДК 57 (063)
ББК 28.0
Ж 66

Жалпы редакцияны басқарған т.ғ.д., профессор Е.Б. Сыдықов
Под редакцией д.и.н., профессора Е.Б. Сыдыкова

Редакция алқасы:
Редакционная коллегия:

Ж.К. Масалимов, А.Б. Курманбаева, А.Ж. Акбасова, С.Б. Жангазин, Н.Н. Иқсат.

«Омаров оқулары: ХХІ ғасыр биология және биотехнологиясы» халықаралық ғылыми форумының баяндамалар жинағы. – Астана: Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, 2023. – 298 б., қазақша, орысша, ағылшынша.

Сборник материалов международного научного форума «Омаровские чтения: Биология и биотехнология ХХІ века». – Астана. Евразийский национальный университет имени Л.Н. Гумилева, 2023. – 298 с., казахский, русский, английский.

ISBN 978-601-337-847-3

Жинақ «Омаров оқулары: ХХІ ғасыр биология және биотехнологиясы» атты халықаралық ғылыми форумына қатысушылардың баяндамаларымен құрастырылған. Бұл басылымда биология, биотехнология, молекулалық биология және генетиканың маңызды мәселелері қарастырылған. Жинақ ғылыми қызметкерлерге, PhD докторанттарға, магистранттарға, сәйкес мамандықтағы студенттерге арналған.

Сборник составлен по материалам, представленным участниками международного научного форума «Омаровские чтения: Биология и биотехнология ХХІ века». Издание освещает актуальные вопросы биологии, биотехнологии, молекулярной биологии и генетики. Сборник рассчитан на научных работников, PhD докторантов, магистрантов, студентов соответствующих специальностей.



УДК 57
ББК 28
О-58

©Коллектив авторов, 2023
©Евразийский национальный университет имени Л.Н. Гумилева, 2023

науч.-практ. конф. (22–23 марта 2018 г., г. Рязань). – Рязань, 2018. – С. 89–93.

4 Гончарова, Н. В. Инвентаризация и рекультивация почвенного покрова агроландшафтов, загрязненного тяжелыми металлами / Н. В. Гончарова, Е. В. Журавков // 18-я Междунар. науч. конф. «Сахаровские чтения 2018 года: экологические проблемы XXI века», 17–18 мая 2018 г., Минск. – Минск, 2018. – С. 32–33.

УДК 58.01

ОСОБЕННОСТИ ПОЛУЧЕНИЯ ВТОРИЧНЫХ МЕТАБОЛИТОВ В КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК, ТКАНЕЙ И ОРГАНОВ *CHIMAPHILA UMBELLATA IN VITRO*

Сагандықова Б.Р., Турпанова Р.М

ЕНУ им.Л.Н.Гумилева, Астана, Казахстан

Sagandykova.br@gmail.com

Культуры клеток, тканей и органов растений являются все более востребованными альтернативными источниками ценных вторичных метаболитов. Это обусловлено ограниченностью запасов лекарственного сырья, невозможностью выращивания многих видов с помощью плантационного метода, а также трудностями разработки путей химического синтеза ряда природных соединений [1].

Биотехнологический подход имеет ряд преимуществ перед традиционным использованием растительного сырья, благодаря возможности получения биомассы независимо от сезона, климатических и почвенных условий, а также простоте экстракции и очистки препаратов, усилению биосинтеза нужных веществ с помощью элиситоров, автоматизации процесса и др. Способность изолированных растительных клеток продуцировать *in vitro* широкий спектр вторичных метаболитов, синтезируемых в растениях вида *in vivo*, связана со свойством тотипотентности, т.е. с сохранением полной генетической информации о путях их биосинтеза и возможностью ее реализации [2].

В настоящее время наиболее разработаны технологии получения ценных вторичных БАВ из неорганизованных каллусов или суспензионных культур. Однако, в ряде случаев, каллусы не аккумулируют интересующие метаболиты. Известно, что пути биосинтеза вторичных метаболитов требуют кооперации между клетками, тканями и органами растений на внутри- и межмолекулярном уровне, поэтому для отдельных этапов биосинтеза дифференциация клеток является критическим фактором. В подобных ситуациях необходимо использовать более дифференцированные ткани или культуры органов, а иногда и микрорастения.

Таким образом, выбор наилучшего способа культивирования *in vitro* (каллусная культура, культура органов или микрорастения) является стратегическим моментом в биотехнологии, требующим особого внимания. При этом, для максимальной эффективности систем *in vitro*, как правило, требуется разработка подходов к усилению биосинтеза вторичных метаболитов.

Одним из объектов, востребованных для биотехнологического получения природных веществ, обладающих противовоспалительным, бактерицидным, спазмолитическим, иммунопротекторным и другими свойствами является зимолобка зонтичная (*Chimaphila umbellata*) из семейства Вересковые (*Ericaceae*). В последнее время растение активно применяется при изготовлении различных биодобавок,

большие объемы заготовки и медленная скорость возобновления ставит этот вид на грань исчезновения [3].

Целью настоящего исследования является введение *C.umbellata* в культуру *in vitro* и разработка технологии размножения этого вида: получение растений-регенерантов, каллусной культуры и их первичная оценка по содержанию вторичных метаболитов.

Материалы и методы

В работе прослежена динамика роста и биосинтез вторичных метаболитов в каллусной культуре и растениях-регенерантах *C.umbellata*. Использованы растения перспективной по продуктивности биомассы природной ценопопуляции из Центрального Казахстана. Исходным материалом для введения в культуру *in vitro* служили семена. В работе использованы питательные среды Мурасиге и Скуга (MS), дополненные регуляторами роста: 6-бензиламинопурином (БАП) 1, 5 и 20 мкМ, α -нафтилуксусной кислотой (НУК) 7, 10 и 20 мкМ, 2,4-дихлорфеноксисукусной кислотой (2,4-Д) 5 и 10 мкМ, β -индолилмасляной кислотой (ИМК) 7 мкМ. Среда дополнена гидролизатом казеина – 1 г/л., сахарозой – 30 г/л, агаром – 6 г/л. pH = 5,6–5,8. Каллусные культуры культивировали в колбах в темноте при температуре 24 ± 2 °C с интервалом 28 дней. Отбор линий *C.umbellata* проводили по признаку «темпа роста», культивируя наиболее быстрорастущие каллусы.

Установленный ранее уровень вторичных метаболитов, синтезируемых растениями исследуемой популяции [4], позволяет осуществлять их контроль в культуре клеток, тканей и органов.

Количественное определение флавонолов проводили по методике В. В. Беликова и М. С. Шрайбер [5], в которой использована реакция комплексообразования флавонолов с хлоридом алюминия. Плотность раствора измеряли при длине волны 415 нм. Концентрацию флавонолов находили по калибровочной кривой, построенной по рутину.

Количественное содержание танинов (дубильные вещества) определяли по методике, основанной на способности танинов давать желтое окрашивание с раствором аммония молибденовокислого. Интенсивность образовавшейся окраски измеряли при длине волны 420 нм.

При проведении экспериментов оценивались следующие параметры: структура каллуса, прирост сырой и сухой биомассы (г). Для определения сырой и сухой биомассы каллусов их отделяли от питательной среды и взвешивали до и после высушивания при температуре 110 °C до постоянной массы. Анализ прироста биомассы проводили через каждые три дня в течение 28 дней. Индекс роста рассчитывали по формуле: $I = (m_{\max} - m_0) / m_0$, где m_0 и m_{\max} – масса экспланта в начале и конце цикла выращивания.

Количественное определение дубильных веществ, флавонолов, катехинов и ксантонов проводили на стадии замедления роста. Содержание биологически активных веществ указано в % от абсолютно сухой массы сырья. Анализ проводился на свежем, отмытом от питательной среды, материале и затем сделан перерасчет на абсолютно сухую массу сырья.

Результаты и обсуждение

Начальный этап работы заключается в отборе наиболее перспективных генотипов для введения в культуру *in vitro*. На следующих этапах работы проводят отбор линий по продуктивности биомассы и вторичных метаболитов в культуре *in vitro* и выявляют наиболее оптимальные типы эксплантов и способы культивирования.

- Введение в культуру *in vitro*

Семена *C.umbellata* стерилизовали 20 %-м раствором дезинфицирующего средства «Domestos», содержащего гипохлорит натрия (> 5 %), с последующим трехкратным промыванием стерильной дистиллированной водой, и помещали на 0,6 % агар для проращивания. Условия культивирования семян – температура 24 ± 2 °С, темнота.

Процент прорастания семян в культуре *in vitro* оказался высоким и составил 81 % через 30 дней культивирования. После появления пары настоящих листьев проростки делили на части и помещали на среды для микроразмножения и каллусообразования.

- Микроразмножение

Для клонального микроразмножения применяли среду MS, дополненную 5 мкМ БАП, глутатионом 200 мг/л, гидролизатом казеина 200 мг/л. Для культивирования эксплантов были подобраны следующие условия: фотопериод – 16 / 8 часов свет/темнота, освещенность – 2–3 клк, температура – 24 ± 1 °С. Через месяц культивирования развивалось 3–4 побега на эксплант, высотой 7–10 см с 4–5 узлами. Массовое размножение зимолубки зонтичной проводили путем черенкования пробирочных растений на одноузловые сегменты. Хорошо развитые побеги переносили на среду для укоренения – $\frac{1}{2}$ MS, дополненную 7 мкМ НУК или 7 мкМ ИМК. На средах с ауксинами побеги *C.umbellata* укоренялись только через 3 недели культивирования. Лучшие показатели ризогенеза были получены на средах с НУК – 5–7 корней на эксплант.

- Каллусная культура

В результате исследований показано, что каллусообразование *C.umbellata* зависит от следующих факторов: состав питательной среды, тип экспланта и его положение на питательной среде. Стабильно растущую каллусную культуру удалось получить от эксплантов корневого происхождения при перевернутом положении на питательной среде BDS + НУК 20 мкМ. Использование других питательных сред (MS) с такой же концентрацией НУК вызывает только рост апекса корня и его утолщение. Прием культивирования эксплантов в перевернутом положении оказался эффективным и для эксплантов стеблевого происхождения.

Так, активный каллусогенез, который всегда сопровождается ризогенезом, наблюдали в месте среза побега и области пазушной почки на среде BDS + НУК 20 мкМ. Большая эффективность действия ауксинов в эксплантах при перевернутом положении (каллусообразование и ризогенез) возможно объясняется полярным транспортом ауксинов, который осуществляется только в одном направлении (от верхушки стебля к кончику корня), отмечено в таблице 1.

Таким образом, подобранные культуральные среды, типы эксплантов, отслеженная динамика роста обеспечили возможность получения из первичных эксплантов стабильно растущие каллусные культуры, которые в дальнейшем могут быть использованы в работе по получению высокопродуктивных штаммов суспензионной культуры зимолубки зонтичной *in vitro*, и позволят проследить динамику накопления БАВ в различные фазы роста клеточных культур.

Таблица 1 - Показатели роста каллусных культур *Chimaphila umbellata*

Питательная среда	Тип экспланта	Индекс роста	
		Сырая биомасса	Сухая биомасса
B ₅ + 2,4-Д 10 мкМ	Стебель, перев. пол.	2,5	2,5
	Корень, перев. пол.	2,6	2,7
B ₅ + НУК 10 мкМ	Стебель, перев. пол.	3,7	4,8
	Корень, перев. пол.	2,2	2,5

- Биохимический анализ

Биохимический анализ вторичных метаболитов показал, что различные типы эксплантов *C.umbellata* в культуре *in vitro* способны синтезировать биологически активные вещества, характерные как для надземной, так и для подземной частей. Максимальное содержание дубильных веществ в корнях растений-регенерантов (0,27 %) и меньше, чем в интактных растениях *C.umbellata* (0,6–5,9). Содержание флавонолов в растениях, полученных в культуре *in vitro* (2,3 %), соответствует минимальному количеству флавонолов в интактных растениях (2,30–5,63 %).

Заключение

Разработанная схема получения клеточной культуры и растений-регенерантов *C.umbellata* позволила четко обозначить основные направления исследований по получению линий-гиперпродуцентов этого ценного лекарственного растения. В результате работы получены растения-регенеранты, каллусные культуры стеблевого и корневого происхождения. Подобраны условия для массового размножения зимозюбки зонтичной. Оптимальной на этапе собственно размножения является среда MS, дополненная 5 мкМ БАП, глутатионом 200 мг/л, гидролизатом казеина 200 мг/л; на этапе укоренения – ½ MS, дополненная 7 мкМ НУК. Показано, что состав питательной среды, тип экспланта и его положение на питательной среде играют важную роль в процессе каллусообразования.

Оптимальные условия для каллусообразования – перевернутое положение экспланта, среда B5 + 2,4-Д 10 мкМ или B5 + НУК 10 мкМ. Индекс роста по сухой биомассе для эксплантов стеблевого происхождения составил 4,8, для эксплантов корневого происхождения – 2,7. Проведенный биохимический анализ вторичных метаболитов свидетельствует о возможности использования культуры клеток, тканей и органов *C.umbellata* как потенциального источника лекарственного сырья и о перспективности дальнейших исследований с целью получения линий копеечника чайного с высоким уровнем биосинтеза БАВ в культуре *in vitro*.

Список использованной литературы:

1. Dorogina O. V., Karnaukhova N. A., Agafonova M. A. Relationships between the variability of electrophoretic profiles of seed polypeptides and ecological-geographic conditions of the habitats of populations of *Hedysarum theinum* Krasnob.(Fabaceae) //Contemporary Problems of Ecology. – 2009. – Т. 2. – №. 6. – С. 506.
2. Fratini R., Ruiz M. L. A rooting procedure for lentil (*Lens culinaris* Medik.) and other hypogeous legumes (pea, chickpea and *Lathyrus*) based on explant polarity //Plant Cell Reports. – 2003. – Т. 21. – С. 726-732.
3. Кукушкина Т. А. и др. Содержание мангиферина и суммы ксантонов в растениях некоторых дикорастущих и интродуцированных видов *Hedysarum* (Fabaceae) //Растительные ресурсы. – 2011. – Т. 47. – №. 1. – С. 99-106.
4. Jeeshna M. V., Paulsamy S. Evaluation of certain flavonoids of medicinal importance in the wild and micropropagated plants of the endangered medicinal species, *Exacum bicolor* Roxb //Journal of Applied Pharmaceutical Science. – 2011. – №. Issue. – С. 99-102.

5. Беликов В. В., Шрайбер М. С. Методы анализа флавоноидных соединений //Фармация. – 1970. – Т. 19. – №. 1. – С. 66-72.

УДК 579.22.7

**ЭКОЖҮЙЕ ОБЪЕКТИЛЕРІНІҢ ПЕСТИЦИДТЕРМЕН ЛАСТАНУЫ:
ЖОЛДАРЫ МЕН САЛДАРЫ**

Урустембеков Ақылбек Бағышбекұлы, Арыстанова Шолпан Ескуатовна
Л.Н.Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, Астана, Қазақстан
akylbek110998@mail.ru

Пестицидтердің топыраққа түсуі оларды тікелей енгізуден немесе уытталған дәндермен түсуден өзге, өсімдіктерді суарумен, өсімдік бетінен жауын-шашынның ағуымен, егістіктерді, орман алқаптарын өңдеу кезінде препараттардың бұзылуымен және т. б. үрдістермен байланысты орын алады. Топырақта пестицидтердің жинақталу мүмкіндігі оларды қолдану шарттарымен (тұтыну нормалары, өңдеу жиілігі), препараттардың тұрақтылығы мен ерігіштігімен, топырақ түрімен, сондай-ақ оның рН-мен, температурасы мен ылғалдылығымен, жуу жағдайларымен, өсімдіктердің инактивациялық әрекетімен, ену тереңдігімен анықталады. Топырақта жүретін химиялық және биологиялық процестердің нәтижесінде ондағы пестицидтердің мөлшері әдетте азаяды, дегенмен олардың қалдық мөлшері 1 кг-да оннан жүздеген микрограммға дейін өзгереді. Құмды топырақтардағы пестицидтердің төзімділігі ең аз, ал саз, органикалық заттар, темір, алюминий және марганец иондары көп топырақтарда ең көп төзімді келеді. Топырақта болған кезде пестицидтер абиотикалық факторларға ұшырайды (жарық, ауа, су), олардың ыдырауында микроорганизмдер маңызды рөл атқарады. Гидролиз, тотығу, демитилизация және басқа процестерде пестицидтер ыдырайды, кейде улы өнімдер түзеді [1].

Топырақта пестицидтердің жиналуын болдырмау үшін әдетте оларды енгізу, жинау арасындағы уақыт аралығын ұлғайтуға, өңдеу жиілігін азайтуға, пестицидтерді сақтау мен тасымалдауды реттеуге жүгінеді. Мұның бәрі топырақтың ластану мүмкіндігін жоққа шығармайды [2, 3]. Су айдындарының бетінің ластануы бірнеше жолмен жүреді. Пестицидтер топырақ жамылғысы мен өсімдіктерден шайылған кезде, аэроөңдеу процесінде, бүрку және тозандандыру технологиясы дұрыс болмаған кезде, және ақырында пестицидтерді топырақтан жуу нәтижесінде суға түсуі мүмкін.

Пестицидтерді шығару ауқымы препараттарды топыраққа енгізу мөлшерімен, әдісімен және уақытымен, олардың ерігіштігімен, ыдырауға төзімділігімен, эрозия процестерінің қарқындылығымен, топырақ түрімен, рельефімен, жауын-шашынның көлемімен және т. б. анықталады. Сипатталған ластану жолдарынан басқа, негізінен реттелмейтін пестицидтер су объектілеріне мақсатты түрде — арамшөптер мен жәндіктерді жою үшін, сондай-ақ оларды өндіретін немесе пайдаланатын кәсіпорындардың, атап айтқанда жылыжай шаруашылықтарының ағынды суларымен түсуі мүмкін.

Су объектілеріне пестицидтердің түсуінің негізгі көзі ауыл шаруашылығы алқаптарынан еріген, жанбыр және жер асты суларының жер үсті ағыны, суармалы аумақтардан ағызылатын коллекторлық-дренажды сулар болып табылады. Пестицидтер су объектілеріне оларды өңдеу кезінде су өсімдіктері мен басқа да гидробионттарды жою мақсатында, улы химикаттар өндіретін өнеркәсіптік кәсіпорындардың ағынды суларымен енгізілуі мүмкін. Тұрақты пестицидтердің сулы ортаға үлкен көлемде шығарылуына қарамастан, пестицидтердің гидробионттармен