

Рамазанов Алибек Кайриденовичтің
«*Chamomilla recutita* сорттарының тұқымдарын криогенді сақтау және қысқа, ұзақ мерзімді сақтау әдістерін өңдеу» тақырыбындағы

6D060700 – Биология мамандығы бойынша философия докторы (PhD)
дәрежесін алу үшін дайындалған диссертациясының

АННОТАЦИЯСЫ

Жұмыстың жалпы сипаттамасы. Диссертациялық жұмыс *Chamomilla recutita* сұрыптарының тұқымдық материалын криоконсервациялау шарттарын зерттеуге және ұзақ мерзімді және қысқа мерзімді сақтау алгоритмдерін жасауға арналған.

Тақырыптың өзектілігі. Ресми медицинада да, халық медицинасында да кеңінен қолданылатын өсімдіктер, әсіресе дәрілік өсімдіктер анағұрлым құнды және алмастырылмайтын табиғи ресурс болып табылады. Қазіргі уақытта заманауи медицинада әртүрлі дәрілік өсімдіктерден жасалған дәрілерге ерекше көңіл бөлінеді. Дәрілік өсімдіктерге деген жоғары қызығушылық олардың жоғары фармакологиялық белсенділігімен түсіндіріледі. Дәрілік шөптер негізіндегі препараттар онай сіңіріледі, ағзада шоғырламайды және жеңіл шығарылады, синтетикалық текті препараттармен салыстырғанда іс жүзінде уытты әсерлері болмайды.

Қазақстанда фармацевтика саласын жергілікті шикізатпен қамтамасыз ету тұрғысынан дәрілік шикізат өндірісін дамыту өзекті болып табылады.

Қазақстан Республиканың флорасында түтікті өсімдіктердің 6000-ға жуық түрі өседі, олардың төрттен бірі дәрілік қасиеттерге ие келеді. ҚР МҚ-ға 132 таксон енгізілген, алайда шамамен 30% - ы жергілікті флорада кездеспейді. Айта кету керек, Қазақстанда дәрілік өсімдіктердің бірнеше түрі бойынша шағын қорлар бар, бірақ шикізатпен толық қамтамасыз ету үшін олар жеткіліксіз.

Дәрілік өсімдік шаруашылығында тұқым шаруашылығы және өсімдік тұқымдарының тұрақты қорын құру маңызды бағыттардың бірі болып табылады. Көптеген дәрілік өсімдіктердің тұқымдары 2-5 жыл ішінде өну қабілетін тез жоғалтып, шектеулі мерзімде ғана сақталатыны барлығына мәлім. Тұқымдарды 0-+5-тен -15°C-қа дейінгі температура шамасында сақтаудың дәстүрлі әдістері олардың толық өміршеңдігін ұзақ уақыт бойы сақтауға толықтай қабілетті емес. Себебі сақтау кезінде физикалық және физиологиялық өзгерістер (ылғалды жоғалту, саңырауқұлақтармен, бактериялармен, зиянкестермен зақымдануы, ыдырау өнімдерінің жиналуы және т.б.). болады. Сондықтан сұйытылған азот температурасында (-196°C) сақтау тәсілін қолдану дәрілік өсімдіктердің тұқым шаруашылығы және олардың генетикалық ресурстарын сақтау үшін анағұрлым перспективалы бағыт болып табылады.

Криогенді сақтау тіршілік үдерістерін сақтай отырып қана емес, сонымен қатар өміршендігін жоғарылату арқылы өсімдіктердің тұқым материалдарын ұзақ уақыт сақтауға мүмкіндік береді. Болашақта тұқымдар уақыт мерзімі бойынша шектеусіз сақталуы мүмкін.

Қазақстанда дәрілік дақылдардың тұқымдарын сұйық азотта сақтау әдісі аз сыналған, негізінен зерттеулер меристемаларды, тозаң дәндерін, бүршіктерді, калемшелерді және т.б. мұздатуға бағытталған.

Алдында атап кеткендей, тұқымдарды криоконсервациялау үдерісі ұзақ уақыт зерттелуде, бірақ бұл әдісті қолдану аз ғана дәрілік дақылдарда сынақтан өткізілді, сондықтан біздің алдымызға *Chamomilla recutita* сұрыптарының тұқымдық материалын криоконсервациялау шарттарын анықтау, сонымен қатар ұзақ мерзімді және қысқа мерзімді сақтау алгоритмін құру міндеті қойылды.

Демек, криоконсервация әдістерін қолдана отырып, *Chamomilla recutita* тұқымын қысқа және ұзақ мерзімді сақтау принциптерін құру бойынша ғылыми зерттеулерді жүзеге асыру қазіргі уақытта маңызды және өзекті бағыт болып табылады.

Зерттеудің мақсаты: *Chamomilla recutita* сұрыптарының тұқымдық материалдарына өте төмен температуралардың әсерін зерттеу мен ұзақ және қысқа мерзімді сақтау әдістерін жасау.

Зерттеу міндеттері:

1. Сақтау мерзімдеріне байланысты дәріханалық түймедақ сұрыптарының тұқымдарының өміршендігін анықтау мен сұйық азотта мұздату алдында және мұздатудан кейінгі тұқымдық материалдың морфометриялық және анатомиялық көрсеткіштерін зерттеу.

2. Дәрілік түймедақ сұрыптарының тұқымдық материалын мұздату және криоконсервациядан кейін еріту шарттарын оңтайландыру;

3. Түймедақ сұрыптарының тұқымдық материалының өміршендігіне физикалық факторлардың әсерін зерттеу және криосақтау кезінде қолданылатын протекторлардың оңтайлы концентрациясын таңдау.

4. Криогенді сақтаудан кейінгі дәріханалық түймедақтың «Қарағандылық» және «Подмосковная» сұрыптарында эфир майларының сандық жинақталуын анықтау.

5. Дәріханалық түймедақ сұрыптарының тұқымдарын криомұздату алгоритмдерін құру.

Зерттеу нысандары дәріханалық түймедақтың «Қарағандылық», «Подмосковная», «Айболит» және «Старый Лекарь» сұрыптарының тұқымдары болып табылады. Тұқымдар «Фитохимия» халықаралық ғылыми-өндірістік орталығының тәлімбағында жиналды, сонымен қатар делектус бойынша Алтай ботаникалық бағынан алынды.

Зерттеу әдістері: тұқымдық өнгіштікті және өсу биологиясын бағалау, сұйық азоты бар Дюар ыдыстарына тікелей батыру арқылы тұқымдарды криоконсервациялау, ерітудің екі әдісін (тез және баяу жібіту) пайдалану,

қысымды препараттар әдісімен тұқымдар мен өскіндердің құрылысын анатомиялық зерттеу, сканерлеуші электрондық микроскопты пайдалану (СЭМ микроскопиясы), сулы дистилляция әдісімен эфир майының сандық жинақталуын анықтау. Microsoft Excel бағдарламалық жасақтамасының және RStudio ортасының көмегімен алынған деректерді статистикалық өңдеу және графикалық бейнелеу жүргізілді.

Зерттеудің ғылыми жаңалығы:

1. Алғаш рет дәріханалық түймедақтың 4 сұрыпының тұқымдарының криоконсервация жағдайларына байланысты өміршеңдігі зерттеліп, өскіндердің анатомиялық және морфометриялық көрсеткіштері зерттелді;

2. Алғаш рет криопротекторлардың дәріханалық түймедақ сұрыптарының тұқымдарының өнгіштігі мен өну энергиясына әсері анықталды, бұл криопротекторлардың оңтайлы түрлері мен концентрациясын таңдауға мүмкіндік берді.

3. Алғаш рет физикалық факторларды пайдалана отырып дәріханалық түймедақ сұрыптарының тұқымдық материалын өңдеудің себу алдындағы әдістерінің әсері зерттелді.

4. Тұқымдарды сұйық азотта сақтағаннан кейін дәріханалық түймедақтың екі сұрыптарының жер үсті органдарында эфир майының сандық жинақталуы және оның құрамдас құрамы алғаш рет анықталды.

Нәтижелердің теориялық және практикалық маңызы Дәріханалық түймедақ сұрыптарының тұқымдарын криоконсервациялау шарттарын зерттеу көрсеткендей криомұздату кезіндегі оңтайлы ыдыс пластикалық криопробиркалар болып табылады.

Дәріханалық түймедақтың тұқымындарын криоконсервациялау кезінде баяу жібіту әдісін қолдану керек екені анықталды.

Криопротекторлар ретінде PVS2 ерітіндісін, жоғары концентрациялы сахароза, глюкоза, фруктоза және DMSO, сондай-ақ төмен концентрациялы пропиленгликольді қолдану ұсынылады.

Аса төмен температура әсерінен дәріханалық түймедақтың барлық 4 сұрыпының тұқымдары мен өскіндерінің анатомиялық және морфологиялық құрылымы өзгермейтіні анықталды.

Дәріханалық түймедақтың тұқымдарын ұзақ уақыт криогенді сақтау кезінде 3 сұрыпының өнгіштігі жоғарылайтыны дәлелденген.

Криогенді сақтаудан кейін тұқымдарды егіс алдындағы физикалық белсендіру факторларымен өңдеу зерттеліп отырған сұрыптардың өнгіштігі мен өну энергиясын жоғарылататыны анықталды.

Тұқымдарын криоконсервациялаудан кейін дәріханалық түймедақтың «Қарағандылық» және «Подмосковная» сұрыптарының денесінде эфир майы мен жеке компоненттердің мөлшері жоғарылайтыны анықталды.

Құрастырылған криоконсервациялау алгоритмі мен әдістемелік ұсынымдар дәріханалық түймедақтың 4 сұрыпының тұқымдарын Е. А. Бөкетов атындағы

Қарағанды университеті БГФ-нің Биотехнология және экомониторинг зерттеу паркінің дәрілік өсімдіктердің криогендік банкіне енгізуге мүмкіндік берді.

Ғылыми зерттеулердің нәтижелері тәжірибелік іс-әрекетке және оқу процесіне енгізіледі.

Қорғауға шығарылатын негізгі қағидалар:

1. Дәріханалық түймедақтың тұқым материалын дәстүрлі әдіспен 3 жыл бойы сақтау олардың зертханалық өнгіштігін төмендетеді.

2. Дәріханалық түймедақтың тұқымдарын мұздату жағдайларын оңтайландыру «Айболит», «Қарағандылық» және «Старый лекарь» сияқты сұрыптардың сұйық азотта ұзақ уақыт сақтауға оң әсер бергенін көрсетті. «Подмосковная» сұрыпының тұқымдары үшін қысқа мерзімді криоконсервацияны қолданған дұрыс. Тұқымдарды жібіту шарттарын оңтайландыру кезінде «Подмосковная», «Айболит» және «Қарағандылық» сұрыптары үшін баяу жібіту, ал «Старый лекарь» сұрыпы үшін жылдам жібіту ең қолайлы екені анықталды.

3. Дәріханалық түймедақ тұқымдарын өте төмен температурада мұздатқанда, жасушалардың ішінде зақымдайтын мұз кристалдарының пайда болуын болдырмау үшін сахароза, глюкоза, фруктоза, DMSO және төмен концентрациялы пропиленгликоль сияқты жоғары концентрациялы криопротекторларды, сондай-ақ криопротекторлық ерітінді PVS2 қолдану қажет.

4. Өте төмен температура дәріханалық түймедақтың жер үсті бөлігінде эфир майларының сандық жинақталуын арттырады.

Негізгі нәтижелер:

1. *Chamomilla recutita* сұрыптарының тұқымдарын дәстүрлі әдіспен 3 жыл бойы сақтаған кезде, әсіресе «Старый Лекарь» және «Подмосковная» сұрыптары үшін зертханалық өнгіштігінің төмендеуі байқалатыны анықталды. Сканерлеуші электрондық микроскопия, тұқымдар мен өскіндердің анатомиясы зерттеліп отырған «Қарағандылық», «Подмосковная», «Айболит» және «Старый лекарь», сұрыптарының тұқымдарының қабығы криоконсервациялаудан кейін зақымдалмайтынын, тұқым қабығының беткі құрылымында айтарлықтай морфологиялық өзгерістер байқалмайтынын, тұқымның бүтіндігі сақталатынын көрсетті. Сондай-ақ *Chamomilla recutita*-ның зерттеліп отырған сұрыптарын крисақтаудан кейін тұқымдар мен өскіндердің анатомиялық құрылымдарында (тұқымжарнақты жапырақтар, гипокотиль, тамыр ұшы) өзгерістер байқалмайды.

2. *Chamomilla recutita*-ның «Қарағандылық», «Айболит» және «Старый лекарь» сұрыптарының тұқымдарын мұздату шарттарын анықтау сұйық азотта ұзақ мерзімді сақтауға оң әсер бергенін көрсетті (6 ай). Подмосковная сұрыпының тұқымдарын криоконсервациялау кезінде қысқа мерзімді аса терең мұздату әдісін қолдану ұсынылады. «Қарағандылық», «Айболит» және «Подмосковная» сорттары үшін, криоконсервациялаудан кейін жібітудің оңтайлы режимі ретінде бөлме температурасында баяу жібіту болып табылады;

«Старый лекарь» сұрыпы үшін +40°C температурада су моншасында жылдам жібітуді қолдану ұсынылады.

3. *Chamomilla recutita* тұқымының криоконсервациядан кейінгі өміршеңдігіне физикалық факторлардың әсерін зерттеу барысында «Қарағандылық» және «Айболит» сұрыптарына барботаждау мен магнит өрісінің оң ынталандырушы әсері анықталды. «Подмосковная» және «Старый Лекарь» сұрыптары үшін физикалық белсендіру факторлары тиімсіз болды. Криопротекторлардың оңтайлы концентрациясы мен түрлерін таңдау «Айболит» сұрыпынан басқа барлық сұрыптар үшін ең тиімдісі: еңбейтін криопротекторлардың ішінен - глюкоза (40%), сахароза (40%) және фруктоза (20%, 25%); енетін түрлерінен - жоғары концентрациялы 15% DMSO және пропиленгликоль (5%, 10%) болып табылатынын көрсетті. Сондай-ақ, «Подмосковная» және «Қарағандылық» сұрыптарының тұқымдарын криогендік сақтау кезінде криопротектор ретінде PVS2 ерітіндісі оң әсер берді.

4. *Chamomilla recutita* жер үсті бөліктеріндегі эфир майларының химиялық құрамы мен сандық жинақталуына өте төмен температуралардың оң әсері анықталды. Сонымен, криоконсервацияланған тұқымдардан өсірілген өсімдікте эфир майының жинақталуы артады және сесквитерпен класының компоненттері мен эфирлік топ заттарының пайыздық мөлшері көбейеді.

5. Жүргізілген зерттеулердің нәтижелері бойынша *Chamomilla recutita*-ның 4 сұрыпының тұқымдық материалының криомұздату алгоритмі жасалды.

Жұмыс нәтижелерін енгізу.

Зерттеу нәтижелері ботаника және криобиология пәндері бойынша «Академик Е. А. Бөкетов атындағы Қарағанды университеті» КЕАҚ биология-география факультетінің оқу процесіне, криобиология бойынша жұмыстарды орындау үшін Биотехнология және экомониторинг зерттеу паркінің зерттеу жұмыстарына енгізілді, сондай-ақ Алтай ботаникалық бағының өсімдіктер тұқым банкінің жұмысын ұйымдастыру үшін ғылыми процеске енгізілді.

Жұмыстың ғылыми жобалармен байланысы.

Диссертациялық жұмыс Қазақстан Республикасы Білім және ғылым министрлігі Ғылым комитетінің № AR09259548 «Жабайы және дәрілік өсімдіктердің тұқымдық материалдарын криоконсервациялау мен қысқа мерзімді және ұзақ мерзімді сақтау банкін ұйымдастыру» гранттық жобасын іске асыру аясында орындалды (2021-2023 жж.).

Автордың жеке үлесі.

Автор диссертациялық зерттеудің бағдарламасын өзі жасап, жұмыстың тәжірибелік бөлігін орындады, тұқымдық материалды криоконсервациялау бойынша зерттеулер жүргізді. Автор бастапқы деректерді өзі жинап, статистикалық өңдеуді және алынған нәтижелерді талдауды жүзеге асырды. Негізгі ережелер мен қорытындылар тұжырымдалып, диссертациялық зерттеудің негізгі бөлімдері жазылды. Жеке ғылыми мақалаларды дайындап, жариялады. Жұмысты орындаудағы автордың жеке үлесі 90% құрады.

Диссертацияның көлемі мен құрылымы.

Диссертацияға кіріспе, 6 негізгі бөлім, қорытынды, пайдаланылған дереккөздер тізімі және қосымшалар кіреді. Диссертация көлемі 151 бетті құрайды, жұмыста 52 сурет, 10 кесте ұсынылған. Пайдаланылған дереккөздер тізімі 235 дереккөзді құрайды.

Жұмыс нәтижелерін апробациялау.

Диссертациялық зерттеудің нәтижелері «Биология және экологияның өзекті мәселелері» (Қарағанды, 16-17 қараша 2018 ж.); «Наследие академика Н.В. Цицина. Современное состояние и перспективы развития» Н.В. Цициннің 120 жылдығына арналған халықаралық қатысумен Бүкілресейлік ғылыми конференция (Мәскеу, 8-11 шілде 2019 ж.); «ЭкоБиоТех 2019» халықаралық қатысуымен VI Бүкілресейлік конференция (Уфа, 1-4 қазан 2019 ж.); «Қазіргі заманғы биологияның әдістемесі, теориясы мен практикасы» студенттер мен жас ғалымдардың V Халықаралық ғылыми-практикалық конференциясы (Қостанай, 13 Наурыз 2020 ж.); «Лекарственное растениеводство: от опыта прошлого к современным технологиям» халықаралық ғылыми-практикалық конференция (Полтава, 29-30 маусым 2020 ж.); «Современные тенденции развития технологий здоровьесбережения» жас ғалымдардың халықаралық ғылыми конференциясы (Мәскеу, 2021 ж., 16-17 желтоқсан); «Экологияның өзекті мәселелері» XV халықаралық ғылыми-практикалық конференциясы (Қарағанды, 2023 ж. 20-21 қаңтар); «Биология мен экологияның өзекті мәселелері» ғалым-педагог, ботаника кафедрасының профессоры Ахметжанова Айтбала Ибжановнаның 80 жас мерейтойына орайластырылған Республикалық ғылыми-практикалық конференцияның материалдарында (халықаралық қатысумен), халықаралық ғылыми конференцияларда талқыланып, баяндама жасалды.

Диссертациялық зерттеудің нәтижелері Scopus ғылыми – метрикалық базасына енгізілген “Research on Crops” ғылыми журналда, ҚР Ғылым және жоғары білім министрлігі БҒСБК басылымдар тізбесіне кіретін "Bulletin of the Karaganda University, series biology" журналдарында жарияланған. Дәрілік өсімдіктердің тұқымдық материалын криоконсервациялау бойынша монография жарыққа шықты және практикалық ұсыныстар жарияланды.