

Асанова Д.К.

ИНДУКЦИЯ КАЛЛУСОГЕНЕЗА В КУЛЬТУРЕ ЗРЕЛЫХ ЗАРОДЫШЕЙ ЛУГОПАСТБИЩНЫХ РАСТЕНИЙ

(Казахский национальный университет имени аль-Фараби, г. Алматы, Казахстан)

В данной работе представлены результаты исследования индукции процесса каллусогенеза в культуре зрелых зародышей некоторых видов лугопастбищных трав. По степени отзывчивости к процессу образования каллуса отобраны 4 генотипа и разработаны оптимальные методики их культивирования.

В последние десятилетия наблюдается устойчивая тенденция к деградации пастбищных угодий в результате загрязнения почв, сокращения площадей обводненных пастбищ, изъятия земель под промышленные объекты, полигоны и населенные пункты. Во многих странах для восстановления загрязненных почв успешно используются фитотехнологии, при этом одним из наиболее важных аспектов является подбор растений, способных расти на загрязненных почвах и при этом накапливать стойкие ксенобиотики в значительном количестве [1, 2, 3].

Для очистки загрязненных почв можно использовать лугопастбищные растения. Ранее было выявлено, что ряд лугопастбищных трав, таких как ломкоколосник, житняк, тимофеевка, терескен и другие близкородственные виды, обладают устойчивостью к различным абиотическим и биотическим факторам, что сочетается с высокой кумулятивной активностью [4]. Использование подобных растений для создания улучшенных форм с помощью методов биотехнологии является одним из эффективных направлений восстановления загрязненных земель и обуславливает актуальность данного исследования.

В связи с вышеизложенным, несомненный интерес представляют исследования по созданию эффективного способа получения улучшенных форм растений, с помощью которых можно обеспечить процесс восстановления загрязненных земель. Цель настоящего исследования - индукция каллусогенеза в культуре *in vitro* лугопастбищных растений и отбор отзывчивых генотипов.

Материалы и методы

Объектом исследования служили 5 видов кормовых трав:

Житняк пустынный, Ломкоколосник ситниковый, Тимофеевка луговая, Костер безостый, Донник белый. Отбор видов растений проведен по показателям устойчивости, урожайности, возможностей к сорбции, основанных на морфологических особенностях корневой системы, и перспектив использования в качестве компонентов травосмесей для улучшения кормовых характеристик пастбищ [5].

Для культивирования *in vitro* использовалась питательная среда Мурасиге и Скуга с добавлением фитогормонов: 2,4-Дихлорфеноксиуксусная кислота (2,4-Д) – 2 мг/л и кинетин – 0,1 мг/л.

Стерилизация растительного материала проводилась по модифицированному нами методу.

Для определения оптимальных режимов и сроков холодной предобработки, повышения дедифференцирующей способности соматических клеток и повышения выхода морфогенных структур семена подвергали воздействию холодом 5, 10, 15 дней при температурах 4, 7, 10°C.

Для подбора оптимальных условий для индукции и роста каллусов проведен эксперимент с использованием трех фитогормонов: 2,4-Д, кинетин, БАП, на трех уровнях (2-4Д - 2мг/л, 4 мг/л, 6 мг/л; кинетин – 0,1 мг/л, 0,5 мг/л, 1,0 мг/л; БАП – 0,1 мг/л; 0,2 мг/л, 0,5 мг/л). Для проведения статистической обработки результатов использовали стандартные методики.

Поскольку способность к каллусогенезу в пределах целого вида очень сильно варьирует, в дальнейшем изложении нами будет употребляться термин «генотип», так как в экспериментах использован конкретный растительный материал, и данные, полученные в наших опытах, являются достоверными только в пределах изучаемого биологического материала, но не целого вида

Результаты и их обсуждение

Эффективность культивирования в условиях *in vitro* в значительной степени зависит от генотипа исходного материала. Однако она может быть достигнута также и правильным выбором питательной среды и условий культивирования. В нашей работе ставилась задача изучить влияние состава различных питательных сред на индукцию каллусообразования в культуре зрелых зародышей лугопастбищных трав.

Исследования по культуре ткани свидетельствуют о положительном влиянии непродолжительной предобработки донорных растений низкими положительными температурами на процесс каллусогенеза. Оптимальное значение температуры и ее продолжительность значительно варьируют в зависимости от

генотипа. Для изучения влияния холодовой предобработки зрелые зародыши выдерживали при температуре +4°C, +7 °С, +10°C в течение 5,10,15 дней и высаживали на среду Мурасиге-Скуга с 2 мг/л 2,4-Д и 0,1 мг/л кинетина. Контролем служили зародыши, культивируемые без обработки.

Температура +4°C независимо от продолжительности предобработки существенно повысила частоту каллусогенеза у большинства изучаемых видов. Наибольшая отзывчивость отмечена у житняка при 5-дневной холодовой предобработке, которая достигла 180% к контролю. Такая же реакция на продолжительность предобработки температурой 4°C была отмечена и у других изучаемых видов, кроме Костра безостого. У этого вида холодовая предобработка независимо от температурного режима (7о и 10оС) и ее продолжительности не стимулировала каллусогенез.

Предобработка семян других видов при температуре +7 °С стимулировала частоту каллусогенеза по сравнению с контролем, но в значительно меньшей степени, чем температура +4°C. Увеличение сроков обработки до 15 дней приводило к снижению процесса образования каллуса по сравнению с 10-дневной предобработкой.

Инкубация семян при температуре +10°C независимо от продолжительности воздействия оказалась малоэффективной для всех изучаемых видов поскольку выход каллусов был значительно ниже, чем при температуре +4°C и +7 °С. У Донника белого данный температурный режим подавлял индукцию процессов каллусогенеза. Таким образом, проведенная серия экспериментов по изучению влияния низких положительных температур на частоту каллусогенеза показала, что для большинства из изучаемых видов наибольшая эффективность холодовой предобработки наблюдалась при температуре, равной +4°C, и продолжительности действия – 5 дней.

Наиболее высокий процент каллусообразования выявлен у Тимофеевки луговой – 47%. Также к отзывчивым генотипам можно отнести Житняк пустынный (45%), Ломкоколосник ситниковый (41%), а к среднеотзывчивым – Донник белый (24%). По нашему мнению, к малоотзывчивым генотипам относится Костер безостый (0,3%).

Поскольку некоторые виды показали недостаточно высокую степень отзывчивости к индукции каллусогенеза на среде Мурасиге и Скуга, нами была предпринята попытка использовать другие среды для повышения частоты каллусогенеза у этих культур. В эксперименте были испытаны среды Уайта, Гамборга и Эвелега, Шенка и Хильдебрандта, Линсмайера и Скуга. Семена предварительно были подвергнуты выявленному и указанному выше режиму холодовой предобработки. Частота каллусообразования оценивалась в % к количеству эксплантов.

Данные, полученные в этом опыте, значительно ниже результатов, показанных в опыте по культивированию на питательной среде Мурасиге и Скуга с предварительной холодовой предобработкой. У Костра безостого данные на всех испытанных средах не превышали нулевых значений. Из испытанных сред по сравнению с другими более благоприятными для культивирования зрелых зародышей были среды Линсмайера - Скуга и Гамборга-Эвелега. Однако изученный генотип наибольшую отзывчивость все же показал на среде Мурасиге –Скуга, то есть ни одна из испытанных сред не превосходила ее по условиям, создаваемым для каллусогенеза.

Таким образом, в результате сравнительного изучения каллусогенеза испытываемых генотипов кормовых трав на питательных средах различного состава установлено, что среда Мурасиге и Скуга более благоприятна для культивирования данных генотипов. По способности к каллусогенезу разных видов лугопастбищных трав наибольшую отзывчивость показали Тимофеевка луговая, Житняк пустынный, Ломкоколосник ситниковый.

С целью повышения частоты каллусогенеза у малоотзывчивого вида Костер безостый нами проведен опыт по модификации питательных сред с вариацией факторов по фитогормонам: 2,4 – Д, кинетина и БАП. В результате варьирования концентрациями фитогормонов в средах были получены 9 вариантов опыта. Однако Костер безостый показал величины ниже исходных на всех модификациях сред.

Таким образом, нами получены каллусные культуры 4 генотипов лугопастбищных растений и разработаны оптимальные методики их культивирования. По отзывчивости к индукции процессов каллусогенеза они располагались в следующей последовательности: отзывчивые - Тимофеевка луговая (47%), Житняк пустынный (45%), Ломкоколосник ситниковый (41%); среднеотзывчивые - Донник белый (24%); малоотзывчивые – Костер безостый (0,3%). Отобраны и введены в культуру *in vitro* 4 вида лугопастбищных растений: Тимофеевка луговая, Житняк пустынный, Ломкоколосник ситниковый, Донник белый. Один вид растений, отнесенный к малоотзывчивым, был исключен из дальнейших экспериментов.

В результате экспериментальных работ по изучению факторов, способствующих индукции каллусообразования у лугопастбищных растений выявлено, что предобработка семян исходных растений низкими положительными температурами оказывала существенное стимулирующее действие на частоту каллусообразования. Для большинства из изучаемых видов наибольшая эффективность холодовой предобработки наблюдалась при температуре, равной +4°C, и продолжительности действия – 5 дней.

Наиболее отзывчивыми к предобработке низкими положительными температурами оказались Житняк пустынный, Ломкоколосник ситниковый. Для данных видов отмечено увеличение частоты каллусогенеза, которая достигла по отношению к контролю (100%), соответственно, 180% и 170%.

Для стимуляции выхода каллуса у малоотзывчивых видов лугопастбищных растений была проведена серия экспериментов по подбору различных питательных сред и изучению влияния их составов на процессы

каллусообразования. В результате сравнительного изучения каллусогенеза испытуемых видов трав на питательных средах различного состава установлено, что наибольшей отзывчивостью обладали Житняк пустынный, Ломкоколосник ситниковый, Тимофеевка луговая, а питательная среда Мурасиге и Скуга являлась более благоприятной для культивирования всех испытуемых генотипов.

Литература

1 Ларионова Н.Л. Устойчивость нетрадиционных кормовых растений к углеводородному загрязнению почвы и эффект фиторемедиации // Сб. науч. тр. Казанского государственного университета «Вопросы совр. экологии и физиол. раст». Казань.- 2001. – С.45-47.

2 Михайловская Н.А. Влияние diaзотрофной бактериализации на аккумуляцию радиоцезия в многолетних злаковых травах // Проблемы питания растений и использования удобрений в современных условиях.- 2000. - №1. - С. 328-332.

3 Подоляк А.Г., Тимофеев С.Ф., Персикова Т.Ф. Переход цезия-137 и стронция-90 в травостой низинных лугов на торфяно-болотных почвах //Агрохимия, 2004.- №11. - С. 63-70.

4 Павлов В.Ю. Особенности роста и развития многолетних злаковых трав и возможное применение при фитомелиорации деградированных городских земель // Мат. меж. науч. конф. (Костяковские чтения) "Научные технологии в мелиорации". Москва: ВНИИГМ.- 2005. - С. 49-52.

5 Кравцов В.В., Кравцов В.А. Сорта многолетних злаковых и бобовых трав для восстановления кормового потенциала сенокосов и пастбищ. // Кормопроизводство. - 2002.- №4. - С. 10-11.

Тұжырым

Бұл жұмыста жем шөптердің кейбір түрлерінің культураныңдағы жетілген ұрықтырдың каллусогенез индукциясының нәтижелері келтірілді. Каллус түзілуі процесіне сезімтал төрт генотип сұрыптан алынды және оларды өсіруіне оптимальді әдістер дайындалды.

Summary

This paper presents the results of the study of callus induction in the culture of mature embryos of some species of grassland plants. According to the degree of responsiveness to the process of callus formation four genotypes are selected and their optimum techniques of cultivating are developed.

УДК 633.1:581.1

Атабаева С.Д.

ВОЗМОЖНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ГИПЕРУСТОЙЧИВОСТИ И ГИПЕРАККУМУЛЯЦИИ РАСТЕНИЯМИ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ

(Казахский национальный университет имени аль-Фараби, г. Алматы, Казахстан)

В статье представлен обзор современной литературы о механизмах гиперустойчивости растений и гипераккумуляции тяжелых металлов

Понятие «фиторемедиация» объединяет большое количество методов и технологий, в частности, фитоэкстракцию, фитоиммобилизацию, фитостабилизацию, фитоволитализацию [1]. После применения фитотехнологий почвы не теряют своих естественных свойств, следовательно, эти технологии являются почвосохранивающими, экологически безопасными и экономически выгодными.

Для фитоэкстракции тяжелых металлов из почвы наиболее выгодным является использование растений-гипераккумуляторов тяжелых металлов. Термин "гипераккумулятор" относится к видам растений, которые аккумулируют в 10-100 раз больше металлов, чем обычные растения. В настоящее время общепринято определение R.Brooks (1998) [2], согласно которому гипераккумуляторами тяжелых металлов считаются те растения, которые накапливают в надземных органах цинк (Zn) > 10 000, свинец (Pb) > 1000, кадмий (Cd) > 100 мкг/г. Растения-неаккумуляторы ТМ должны накапливать на незагрязненной почве Zn, Pb и Cd < 100, < 10 и < 1 мкг/г, соответственно; на загрязненной почве - Zn < 1000, Pb < 100 и Cd < 10 мкг/г, соответственно.

Растения-гипераккумуляторы являются эндемичными для тех почв, которые загрязнены тяжелыми металлами и не конкурируют с другими видами на незагрязненных почвах. Аккумуляция металлов растениями в нетоксической форме является одной из стратегий, используемых растениями для выживания в условиях сильного загрязнения среды.

Из литературных данных известны растения-гипераккумуляторы тяжелых металлов: *Ambrosia artemisiifolia* L. (амброзия полыннолистная), *Thlaspi rotundifolium* L., *Thlaspi caerulescens* L. (ярутка), поглощающие в значительном количестве Zn, Cd, Pb. К гипераккумуляторам Ni относятся *Alyssum* L. (бурачок) и *Arabidopsis* L. (резушка). Последний считается удобным объектом для исследований, так как имеет короткий жизненный цикл и малое количество хромосом [3].

Выявление механизмов гиперустойчивости и гипераккумуляции тяжелых металлов растениями является необходимым этапом в развитии фиторемедиации. Исследователи предполагают, что увеличение концентрации металл-связывающих протеинов или пептидов в клетке растений может увеличивать способность металлов к связыванию и устойчивость растений.

Одни авторы считают, фитохелатины не играют существенной роли в гиперустойчивости растений к