

растений зависит от адаптивных механизмов растений, которые включаются независимо от наличия генов контролирующих процессы морфогенеза *in vitro*.

Литература

- 1 Heberle-Bors E. *In vitro haploid formation from pollen: a critical review*//1985., *Theor. Appl. Genet.* N71., P.361-374
- 2 Уразалиев Р.А., Кожасметов К.К. Создание новых форм озимых зерновых культур путем отдаленной гибридизации для условий Казахстана//Сельхоз.биология. 1983, №6.С.46-50
- 3 Анель В.И. Создание исходного селекционного материала путем межвидовой гибридизации //Селекция сортов с-х. культур интенсивного типа. Горки, 1989г.С.51-54
- 4 Mejza S.J. Morgant V., DiBonna D.E. and Wong J.R.//1993. *Plant regeneration from isolated microspores of Triticum aestivum. Plant Cell Repp.* N 12, P.149-153
- 5 Sunderlend N. *Anther culture: a progress report*.//1971., *Sci Prog (London)*, N59., P.527-549
- 6 De Buyser J., Henry Y. And Taleb G. *Wheat androgenesis: Cytogenetical Analysis and agronomic performace of duobled haploids*//1985. *Z.Pflanzenzuchtg*, N95, P.24-33
- 7 Sanderland N. *The concept of morphogenic competence with referance to anther and pollen culture.* //1982., *Plant cell culture in crop improvement.*
- 8 Ekiz H., Konzak C.F. *Nuclear and citoplasmic control of anther culture responce in wheat. Analysis of alloplasmatic lines*.//1991a. *Crop Science*, N31, P.1421-1427.
- 9 Larsen E.T., Tuveesson K.D., Andersen S.B. *Nuclear genes affecting percentage of green plants in barley (Hordeum vulgare) antherculture*.//1991. *Theor. Appl. Genet.* N 82. P.417-420
- 10 Gai, X.W., Lal, S., Xing L.Q., Walbot V., *Gene discovery using the maize genome database ZmDB*//2000. *Nucleic Acid Research* 28(1), 94-96

Джангалина Э.Д., Хожамуратова С.Ш., Кукишева А.А. ВЛИЯНИЕ СИНТЕТИЧЕСКИХ РЕГУЛЯТОРОВ РОСТА НА МОРФОГЕНЕТИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ В КАЛЛУСНЫХ КУЛЬТУРАХ ЛЮЦЕРНЫ

(Алматинский технологический университет, г. Алматы, Казахстан)

Кардинальным подходом к созданию новых исходных форм и сортов является обогащение генетического базиса селекции путем отдаленной гибридизации культурной люцерны с дикими сородичами. В этом отношении исключительный интерес представляет флора Казахстана, включающая 12 видов дикорастущей многолетней люцерны. Дикорастущие виды являются носителями зародышевой плазмы таких важных признаков, как зимостойкость, жаростойкость, устойчивость к затоплению, низким температурам, засухе, болезням, многоукосность, отзывчивость на орошение и внесение минеральных удобрений, высокобелковость [1]. Отбор перспективных форм из природных популяций и изучение процессов морфогенеза и регенерации этих видов в культуре *in vitro* позволит вовлекать их в селекционный процесс. Приемы культивирования растительных клеток и регенерации из них растений, разработанные для многих важных сельскохозяйственных культур, уже сейчас позволяют реализовать возможности клеточной селекции, то есть применять её для создания новых устойчивых и высокопродуктивных форм и сортов растений.

Значительным шагом в расширении областей применения метода культуры тканей для решения теоретических и прикладных задач явилась разработка техники выращивания из отдельной соматической клетки целого растения. Этот процесс получил название - соматический эмбриогенез.

При регенерации бобовых культур встречается много трудностей. Тем не менее, *Medicago sativa L.* и некоторые другие виды рода *Medicago* были первыми из бобовых, которые удалось регенерировать в культуре *in vitro*. В результате исследований, проводимых во многих лабораториях мира, разработаны методы регенерации растений путем соматического эмбриогенеза из каллусных и суспензионных культур люцерны [2, 3]. Следует отметить, что преобладающее большинство экспериментов по регенерации растений в культуре тканей люцерны проводилось с использованием в качестве объекта исследования, *Medicago sativa L.* - главного возделываемого вида этой сельскохозяйственной культуры [4, 5, 6]. Механизмы регенерации *in vitro* дикорастущих многолетних видов люцерны изучены слабо, поэтому эта проблема является весьма актуальной.

Одной из важных задач физиологии растений является познание процессов морфогенеза *in vitro* и способов его регуляции. В связи с этим целесообразно расширять теоретические исследования, связанные с изучением закономерностей процесса соматического эмбриогенеза в культуре тканей, в частности поиском новых регуляторов роста и разработкой высокоэффективных систем регенерации дикорастущих видов люцерны. В работах ряда авторов изучалось влияние естественных и синтетических регуляторов роста, а также сырья растительного происхождения на процесс соматического эмбриогенеза в культуре тканей *M. sativa L.* И было показано, что некоторые синтетические регуляторы роста также могут выступать индукторами соматического эмбриогенеза [7,8].

Цель наших исследований - изучение влияния новых синтетических регуляторов роста на морфогенетическую способность двух дикорастущих видов люцерны – *M. falcate L.* и *M. borealis Grossh.*

Материалы и методы

В работе использованы регуляторы роста фоспинол и РС-1, которые были синтезированы в Институте химических наук МОН РК и любезно предоставлены нам для проведения экспериментов. Фоспинол и РС-1 используются для увеличения урожайности растений.

В ходе экспериментов проводили сравнительный анализ ауксинов (2,4-Д, НУК, ИУК) и новых ростовых веществ фоспинола и РС-1 на процессы каллусогенеза и соматического эмбриогенеза в каллусных культурах люцерны желтой (*M. falcate*) и северной (*M. borealis*).

Непрямой соматический эмбриогенез - это сложный многоступенчатый процесс. Первый этап - индукция каллусогенеза. Второй этап - индукция образования соматических эмбриоидов. Третий этап - созревание соматических эмбриоидов и развитие их в целые растения.

Изучение процесса каллусогенеза проводили на питательных средах различного минерального и гормонального состава. В качестве минеральной основы использовали среды Гамборга-Эвеленга В5, Ушимия-Мурасиге, Мурасиге-Скуга и Шенка-Хильдебрандта, а индукторами данного процесса выступали НУК и 2,4-Д.

В качестве эксплантатов использовали семядольные листья и гипокотили 10-14 дневных стерильных проростков, а эпикотили укореняли на среде Мурасиге-Скуга с половинной концентрацией макро- и микро-солей и 0,2% ИУК для депонирования и дальнейшего клонирования растений. Процесс каллусогенеза оценивали по трем показателям: 1) доля эксплантатов, образовавших каллус (частота каллусогенеза), 2) интенсивность каллусообразования (измерялась в баллах), 3) доля морфогенных каллусов (в процентах по отношению к общему числу образовавшихся каллусов).

Результаты и их обсуждение

При культивировании тканей на средах с 2,4-Д пролиферация каллуса начиналась на 4-5 день, а на средах с НУК на 7-10 дни культивирования, причем частота каллусогенеза на средах с 2,4-Д была в 1,5 раза выше, чем на средах с НУК. Необходимо также отметить, что при культивировании каллусных тканей люцерны желтой проявлялась следующая закономерность - тип каллуса: гормональный состав культуральной питательной среды. На средах с НУК формировался плотный, зернистый, малообводненный, гомогенный каллус, в некоторых случаях с антоциановым окрашиванием. Если же в качестве индуктора выступала 2,4-Д, то образующийся каллус был рыхлым, гетерогенным, малообводненным и имел светло-желтую окраску, нередко с зелеными меристематическими зонами.

Дальнейшие наши исследования были направлены на изучение процесса соматического эмбриогенеза у данных дикорастущих видов. Установлена строгая гормонспецифичная зависимость соматического эмбриогенеза для исследуемых видов люцерны.

Индукция соматического эмбриогенеза у люцерны желтой наблюдалась только в том случае, если в качестве индуктора соматического эмбриогенеза использовались низкие концентрации НУК. Важно заметить, что такое действие НУК проявляется только в том случае, если индуктором каллусогенеза выступала все-таки 2,4-Д, которая, по-видимому, является запускающим механизмом процесса соматического эмбриогенеза. При культивировании тканей образцов люцерны желтой на высоких концентрациях 2,4-Д индукции соматического эмбриогенеза не наблюдалось. Тот факт, что для индукции соматического эмбриогенеза не требуются высокие концентрации 2,4-Д имеет, на наш взгляд, положительное значение, поскольку в этом случае, возможно избежать нежелательных соматических вариаций в процессе культивирования и более детально подойти к изучению фундаментальных аспектов гормонального контроля соматического эмбриогенеза.

Люцерна желтая обладала средним морфогенетическим потенциалом. Процент соматического эмбриогенеза составил 20 - 25% . При культивировании тканей люцерны северной индукцию соматического эмбриогенеза вызывали как высокие концентрации 2,4-Д, так и низкие НУК. Это еще раз подтверждает положение о том, что 2,4-Д является не только индуктором соматического эмбриогенеза, но и запускающим механизмом данного процесса.

В следующей серии экспериментов по изучению влияния синтетических регуляторов роста на морфогенез дикорастущих видов люцерны в качестве эксплантов использовали черешки высокоэмбриогенных клеточных линий *M. falcate* L. F 28-8 и *M. borealis* Grossh. В29-2. Черешки размером 5 мм культивировали на среде Ушимия –Мурасиге для индукции каллусогенеза, содержащую 2 мг/л 2,4-Д и 0,25 мг/л кинетина, а также фоспинол и РС-1, концентрация которых составляла 1мг/л, 2мг/л или 4мг/л. Установлено, что все изученные регуляторы роста могут выступать индукторами процесса каллусогенеза у обеих клеточных линий. Частота каллусогенеза при культивировании тканей на средах с РС-1 и фоспинолом была не ниже чем на средах с 2,4-Д, и НУК и варьировала от 60% до 100% (табл. 1).

Данные исследования позволили установить фитогормональную зависимость периода детерминации процесса соматического эмбриогенеза на высокоэмбриогенных клеточных линиях *M. falcate* и *M. borealis*. Впервые выявлено, что регуляторы роста фоспинол и РС-1 могут выступать индукторами процесса каллусогенеза у дикорастущих видов люцерны.

Таблица 1 - Влияние ауксинов и синтетических регуляторов роста на процесс каллусогенеза в культуре тканей *M. falcate* и *M. borealis*

Вид	Концентрация регуляторов роста, мг/л	Частота каллусогенеза, %				
		2, 4-Д	НУК	ИУК	Фоспинол	РС-1

<i>M. falcate</i>	1	80	100	73	0	80
	2	100	100	100	0	100
	4	73	100	60	0	69
<i>M. borealis</i>	1	95	20	58	26	90
	2	100	28	100	51	98
	4	77	10	22	100	75

В ходе экспериментов была установлена зависимость между морфологическим типом каллуса и гормональным составом питательной среды. При культивировании тканей на средах с 2,4-Д или НУК формировался желтый или желто-зеленый гетерогенный каллус с четко различимыми морфогенными зонами. Если же в качестве индуктора каллусогенеза выступали ИУК, РС-1 или фоспинол, то образующийся каллус был плотным, имел неморфогенную структуру и бело – желтую окраску. Эти закономерности каллусогенеза характерны для обеих клеточных линий. Через 28 дней культивирование на среде для индукции каллусогенеза каллусные ткани пассировали на среду Мурасиге–Скуга для индукции соматического эмбриогенеза, содержащую 0,5 мг/л БАП и синтетические регуляторы роста в тех же концентрациях. Установлено, что индукцию процесса соматического эмбриогенеза вызывают только 2,4-Д и НУК. Причем соматические эмбриониды образовывались на среде с НУК только при культивировании тканей *M. falcate* L. ИУК, РС-1 и фоспинол не вызывали индукции соматического эмбриогенеза.

Для установления периода детерминации к соматическому эмбриогенезу каллусные ткани культивировали на среде для индукции соматического эмбриогенеза 14, 21, 28 или 35 дней, а затем пересаживали на среду Блейдиса с 2 г/л дрожжевого экстракта для развития соматических эмбрионидов. Установлено, что индукцию соматического эмбриогенеза у *M. borealis* вызывают только 2,4-Д. В то же время, при культивировании тканей *M. falcate* на средах с НУК уже через 10 дней начинается образование соматических эмбрионидов. При переносе каллусных тканей на среду Блейдиса с 2 г/л дрожжевого экстракта наблюдали развитие уже образовавшихся соматических эмбрионидов. На среде с НУК происходило дальнейшее формирование новых соматических эмбрионидов. Наибольшее число эмбрионидов образовывалось между 15-м и 20-м днями культивирования. Если в качестве индуктора соматического эмбриогенеза использовалась 2,4-Д, то начало образование соматических эмбрионидов у клеточной линии F 28 – 8 начиналось на 28 день, а В 29-2 на 21 день культивирования. Наибольшее число соматических эмбрионидов у линии В 29-2 на данной среде отмечено между 21-м и 28-м днями культивирования. При культивировании тканей на среде для индукции соматического эмбриогенеза более чем 35 дней формирование эмбрионидов обычно снижалось.

Таким образом, в результате проведенных экспериментов установлено, что синтетические регуляторы также могут выступать индукторами процесса каллусогенеза в культуре тканей дикорастущих видов люцерны, отмечено разделение во времени различных этапов соматического эмбриогенеза и выявлены определенные закономерности каждого этапа. Для каждого этапа подобраны строго определенные условия культивирования.

Литература

- 1 Иванов А.И., Синяков А.А. Перспективный исходный материал люцерны с повышенной устойчивостью к неблагоприятным условиям среды. Генфонд кормовых растений и его использование в селекции. // Сб. науч. трудов по прикладной ботанике, генетике и селекции. – 1988. – Т. 120. – С. 38-43.
- 2 Рожанская О.А., Дарханова В.Г., Строева Н.С., Королев К.Г., Ломовский О.И. Особенности регуляции морфогенеза эспарцета и люцерны *in vitro*. *Сибирский вестник сельскохозяйственной науки*. - 2008, № 5с.58-65
- 3 Konarev V.G., Gavriljuk I.P., Gubareva N.K. *Morphogenesis and molecular-biological analysis of plants 2nd Edition, suppl. SPb: V I R, 2001. 417 p.*
- 4 Mathenson S.L., Nowak J., Maclean N.L. Selective of regenerative genotypes from highly productive cultivars of alfalfa // *Euphytica*. – 1990. – Vol. 45, №2. – P. 105-112.,
- 5 Meijer G.M., Brown D. C. W. A novel system for rapid high frequency somatic embryogenesis in *Medicago sativa* L. // *Physiol. Plantarum*. – 1987. – Vol. 69. – P. 591-596.
- 6 Meijer G.M., Brown D. C. W. A. Somatic embryogenesis in diploid *Medicago sativa* germplasm for *in vitro* regeneration // *Plant Cell Reports*. – 1988. – Vol. 4. – P. 285-288.
- 7 Fosket D.E. Hormonal control of morphogenesis in culture tissues // *Plant Growth Substances*. – Berlin – 1980. – P. 362-369
- 8 Рожанская О.А., Юдина Н.В., Королев К.Г., Ломовский О.И. Влияние продуктов механохимической активации торфа и древесного сырья на морфогенез растений *in vitro* и *in vivo* *Химия растительного сырья*. - 2003, № 3, с.29-34.

УДК 575.1/2: 577.1/2

Джансугурова Л.Б.
РАЗРАБОТКА СПОСОБА РЕГУЛЯЦИИ АПОПТОЗА У *Drosophila melanogaster*
ПРИ ДЕЙСТВИИ ОКСИДА АЗОТА