

Оңаев М.Қ., Қопаев А.Е.

ГАЗ ПАЙДАЛАНУДА ЛИМАННЫҢ ТИІМДІЛІК БАҒАСЫ

Аңдатпа

Жер мониторингсі кәзіргі уақытта көлтабан суғару аудандарының қажетті деңгейде қолданылмайтындылығын көрсетті. Орал-Көшім сағару-сулардыру жүйесінің 49 көлтабаны жерлерінің қашықтан зерттеу мәліметтерін талдау көлтабанның жүйелі түрде сумен басылуы тек 2000-2002 жылдары аралығында жасалғанын көрсетті, көлтабанның сумен бастыру коэффициенті 0,71 ден 0,81 дейін өзгерген. 2003-2004 жылдары суға бастыру аудандыры 1168 га қысқарған (сумен бастыру коэффициенті – 0,3). 2005-2009 жылдары суға бастыру жүргізілмеген. 2010 жылдан бастап сумен бастыру коэффициентінің 0,1-0,3 деңгейге дейін аздап көтерілуі байқалады.

Кілт сөздер: суару жүйелері, лиман, мониторинг, ГАЗ, жерді қашықтықтан зондтау.

Onayev M., Kopayev A. Tuktarov R.

EVALUATION OF THE EFFECTIVENESS OF THE LYMAN WITH THE GIS

Annotation

Land monitoring showed that in modern conditions the area of estuary irrigation are not operated property. Analysis of remote sensing of land estuary 49 Ural-Kushum irrigated watering system showed, that the system of the estuary flooding made only in 2000-2002 years, the ratio of flooding estuary ranged from 0.71 till 0.81. In 2003-2004, the area flooded land has decreased to an overage of 1168 hectares (the ratio of flooding – 0.3). In 2005-2009 years the flooding was not practically. In 2010, begins a slight increase in the coefficient of irrigation till 0.1-0.3.

Keywords : irrigation systems, Lima; monitoring, GIS, remote sensing of land.

УДК: 576.32/36

Рахимова Е.В., Бишимбаева Н.К., Амирова А.К., Нургазина А.С.

РГП «Институт Биологии и Биотехнологии Растений» КН МОН РК, Алматы

ВЛИЯНИЕ ФИТОГОРМОНОВ НА СТРУКТУРУ РЫХЛЫХ ЭМБРИОГЕННЫХ КАЛЛУСОВ

Аннотация

В результате исследования полутонких срезов было показано влияние различных концентраций фитогормонов 2,4-Д, АБК и БАП на структуру клеточных популяций длительно культивируемых эмбриогенных каллусов ячменя и пшеницы. Наиболее выраженная картина регуляции процессов цитодифференцировки представлена на полутонких срезах каллусов пшеницы, культивируемых на среде с 0,1 мг/л АБК, и каллусов ячменя, культивируемых на среде с 1,0 мг/л БАП. Во всех вариантах эксперимента наблюдали плазмоллиз клеток и клетки, находящиеся на разных стадиях деградаци.

Ключевые слова: фитогормоны, эмбриогенный каллус, злаковые.

Введение

Изучение клеточных механизмов соматического эмбриогенеза в культуре тканей растений остается по-прежнему актуальным вопросом с точки зрения использования этого процесса в биотехнологиях [1, 2, 3].

Длительно культивируемые рыхлые эмбриогенные (РЭ) каллусы пшеницы и ячменя являются удобными модельными системами для изучения процессов соматического эмбриогенеза, т.к. клетки этого типа ткани пластичны, отзывчивы к действию компонентов питательной среды и поддаются регуляции гормональными и трофическими факторами [4]. Кроме того, одноклеточное происхождение эмбриоидов и длительное сохранение тотипотентности в рыхлых эмбриогенных каллусах создает возможность для их использования в качестве модели для изучения регуляции соматического эмбриогенеза, начиная с самых ранних его этапов [5, 6].

Ранее нами показано, что оптимальным для поддержания роста и эмбриогенного потенциала РЭ каллусов пшеницы и ячменя является использование 2,4-Д в высоких концентрациях [7]. Также выявлено, что клетки тканей РЭ каллусов отзывчивы к действию фитогормонов АБК и БАП, а именно: АБК вызывает гибель и абортирование эмбриоидов, а БАП, напротив, стимулирует их дальнейшее развитие и дифференциацию [8, 9].

Характеристика клеточных изменений, которые происходят в ходе регуляции соматического эмбриогенеза имеет важное значение для понимания факторов, участвующих в процессах развития и дифференциации эмбриоидов.

Целью данной работы было изучение тонкой структуры длительно культивируемых эмбриогенных тканей ячменя и пшеницы в зависимости от состава фитогормонов питательной среды. С помощью методов световой микроскопии изучены полутонкие срезы, полученные при фиксации каллусов, и обнаружены различия в составе клеточных популяций.

Материалы и методы

В качестве объектов исследования были отобраны РЭ каллусы ячменя и пшеницы длительно культивируемые на среде Гамборга В5 [10] и Мурасиге-Скуга [11], соответственно. В данные среды были внесены следующие гормоны: 2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота (2,4-Д) - 7,0 мг/л, абсцизовая кислота (АБК) - 0,1 мг/л и 1 мг/л, бензиламинопурина (БАП) – 1,0 мг/л. РЭ каллусы культивировали в течение 28 суток при температуре +26⁰С, продолжительность светового периода составляла 16 ч.

Для фиксации использовали 2% глутаральдегид (2,5 ч) и 1% тетроксидосмия (2 ч) на какодилатном буфере (рН 7,4). После отмывки от фиксаторов, каллусы обезвоживали в этаноле, после заключали в смесь эпон-аралдит. Во время фиксации проводили дополнительное окрашивание бромфеноловым синим или алциановым синим. Полутонкие срезы толщиной 2 мкм получали с помощью ультратома Ultracut, окрашивали сафранином-О, изучали с помощью микроскопа Micros (Austria) и фотографировали, используя программу IS Capture. Часть снимков получена на фотомикроскопе Polyvar с интерференционной оптикой Номарского.

Результаты и их обсуждение

Под влиянием 0,1 мг/л АБК (окраска бромфеноловым синим) клетки рыхлого эмбриогенного каллуса ячменя неоднородны. Большая часть из них – крупные, уже не делящиеся, с утолщенной оболочкой и почти прозрачным содержимым. Описываемые клетки выглядят полностью деградированными. В некоторых сохранилось содержимое на стадии псевдоплазмолиты (Рис. 1, стрелки), характеризующейся сильным сжатием протопласта и отхождением его от клеточной стенки. Внутри протопласта структуры клетки либо не различимы, либо в нем отчетливо выявляется ядро (Рис. 2, стрелки).

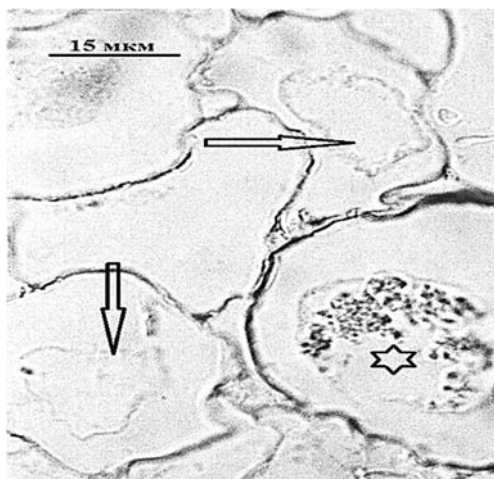


Рисунок 1 – Клетки РЭ каллуса ячменя под влиянием 0,1 АБК, видны клетки с псевдоплазмолизом

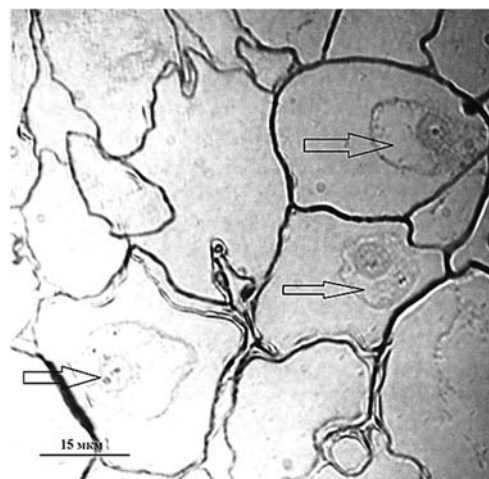


Рисунок 2 – Клетки РЭ каллуса ячменя под влиянием 0,1 АБК, видны ядра в клетках с псевдоплазмолизом (стрелки)

В некоторых клетках в сжавшемся протопласте наблюдаются плотные гранулы (Рис. 1, звездочка), большей частью расположенные по периферии, ближе к плазмалемме. Целостность плазмалеммы в клетках с псевдоплазмолизом, по всей видимости, не нарушена. Между крупными клетками наблюдаются скопления мелких, по-видимому делящихся меристематических клеток. Стенки таких клеток выглядят неутолщенными и обычно извилистыми, в связи с чем, форма клеток приближается к лопастной. Возможно, такая форма создается при взаимном давлении делящихся клеток, жизненное пространство которых ограничено к тому же крупными клетками с толстыми оболочками, сопротивляющимися давлению. Интересно отметить, что мелкие клетки выглядят лишенными содержимого, деградированными. Псевдоплазмолиз в описываемых клетках не наблюдался.

Под влиянием 1 мг/л АБК (окраска бромфеноловым синим) клетки рыхлого эмбрионного каллуса ячменя выглядят аналогично предыдущему варианту. Большая часть из них – крупные, уже не делящиеся, с утолщенной оболочкой. Описываемые клетки находятся на разных стадиях деградации. В некоторых псевдоплазмолиз только начинается, и протопласт начал сжиматься и отходить от клеточной стенки, другие клетки характеризуются сильным сжатием протопласта и полным отхождением его от клеточной стенки (Рис.3, стрелка). Внутри протопласта структуры клетки обычно не различимы. Целостность плазмалеммы в клетках с псевдоплазмолизом, по всей видимости, не нарушена. По периферии основной массы крупных клеток наблюдаются компактные скопления активно делящихся клеток. Некоторые из таких скоплений еще сохраняют связь с основной массой, но некоторые уже представляют собой отдельные структуры (Рис.4).

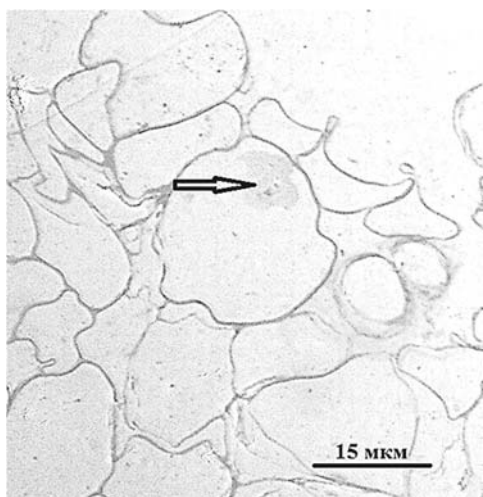


Рисунок 3 – Клетки РЭ каллуса ячменя под влиянием 1 АБК, видны клетки с псевдоплазмолизом

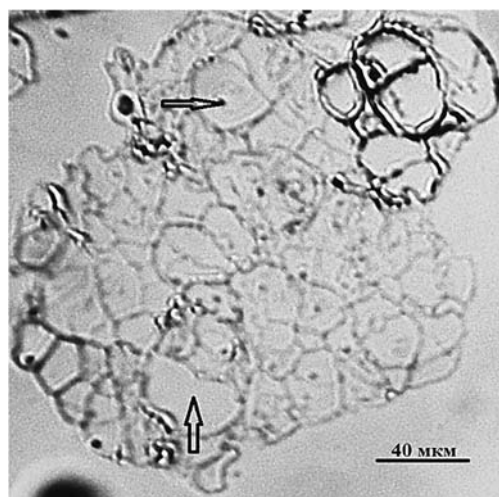


Рисунок 4 – Клетки РЭ каллуса ячменя под влиянием 1 АБК, стрелками указаны деградированные клетки и клетки с псевдоплазмолизом

Такие компактные скопления, скорее всего, являются эмбриоидами. Клетки в них выглядят активными, в большинстве можно различить ядро, однако, по мере роста скоплений и увеличения их размеров, в некоторых клетках начинаются процессы псевдоплазмолиза, со временем приводящие к полной деградации (Рис.4, стрелки). Такие клетки на срезах выглядят абсолютно прозрачными. Деградирующие клетки обычно более крупные, чем остальные, но клеточная стенка не выглядит утолщенной. В связи с этим, под давлением соседних клеток форма деградированной клетки часто нарушается.

Значительную часть РЭ каллуса ячменя с 1 мг/л БАП (окраска бромфеноловым синим), как и в предыдущих вариантах, составляют крупные, уже не делящиеся клетки, с утолщенной оболочкой, находящиеся на последних стадиях деградации. Такие клетки выглядят обычно пустыми, однако (очень редко) встречаются и плазмолизованные клетки. Оболочки описываемых клеток неравномерно толстые, их материал хорошо прокрашивается сафранином-О. Форма клеток обычно неправильная: несмотря на толстые оболочки под взаимным давлением многие клетки сминаются и на срезах выглядят лопастными.

Гораздо больший интерес представляют собой более мелкие клетки различной формы (от округлой до неправильной и лопастной), в которых наблюдается псевдоплазмолиз. По сравнению с предыдущими вариантами, начальные стадии псевдоплазмолиза, не отмечались. Большинство клеток характеризуются сильным сжатием протопласта (Рис.5, стрелка), отхождением его от клеточной стенки и разделением на несколько интенсивно окрашивающихся, плотных глобул (Рис.5, звездочка). Вероятно, в таких клетках с псевдоплазмолизом нарушается целостность плазмалеммы. Данное предположение подтверждает тот факт, что в некоторых клетках глобулы наблюдаются в периплазматическом пространстве. Возле наружных клеток каллуса можно увидеть экстрацеллюлярный матрикс, прокрашивающийся неравномерно (Рисунок 6, стрелка). Возможно, что такая неравномерность связана с различной интенсивностью образования матрикса отдельными клетками.

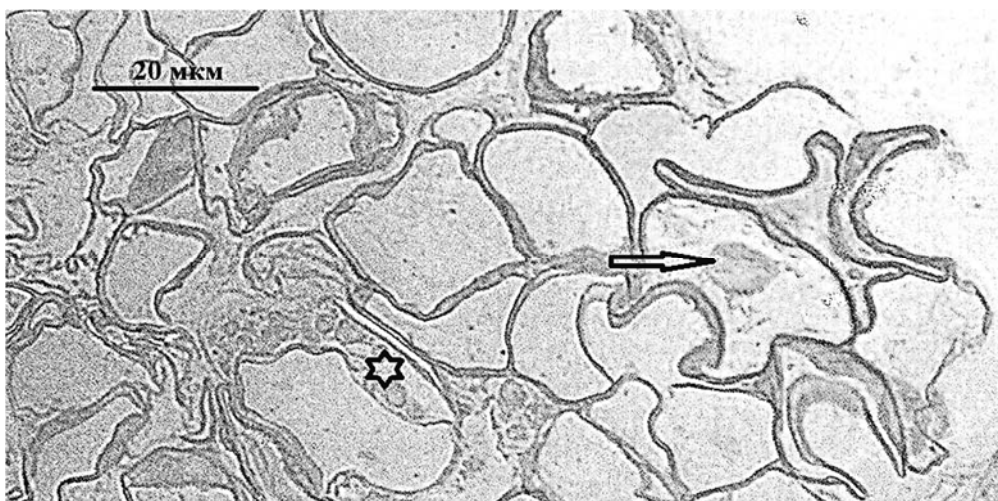


Рисунок 5 – Клетки РЭ каллуса ячменя под влиянием 1 БАП, стрелкой указана клетка с псевдоплазмолизом

По периферии каллуса наблюдаются скопления эмбриоидов, состоящих из различного количества клеток. Большинство мелких эмбриоидов расположена отдельно от основной массы клеток каллуса. Несколько более крупные эмбриоиды окружены клетками каллуса. Клетки большинства эмбриоидов выглядят вполне жизнеспособными. Однако у более крупных в клетках начинаются процессы псевдоплазмолиза, сопровождающиеся образованием плотных глобул и постепенным утолщением клеточных стенок (Рис. 7).

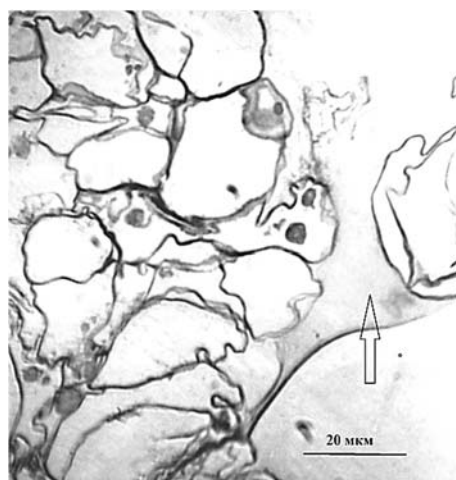


Рисунок 6 – Клетки РЭ каллуса ячменя под влиянием 1 БАП, стрелкой указан экстрацеллюлярный матрикс

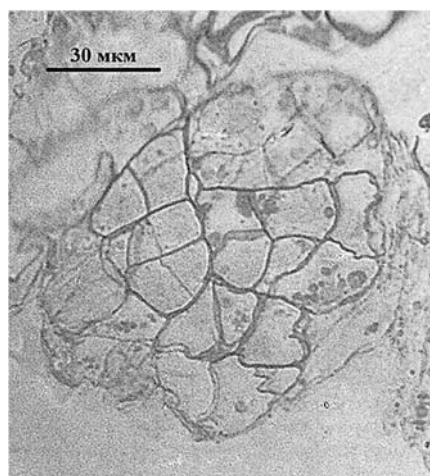


Рисунок 7 – Клетки крупных эмбриоидов РЭ каллуса ячменя под влиянием 1 БАП

Под влиянием 1 мг/л БАП (окраска алциановым синим) в клетках рыхлого эмбриогенного каллуса ячменя активно идут процессы образования эмбриоидов (Рис. 8).

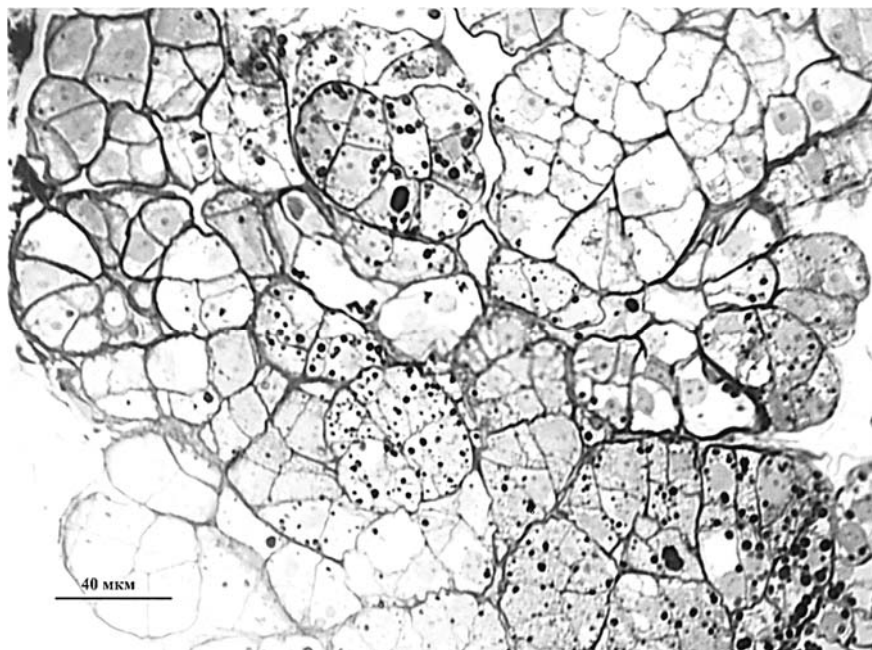


Рисунок 8 – Клетки эмбриоидов РЭ каллуса ячменя под влиянием 1 БАП

Крупные клетки в эмбриоидах, по всей видимости, сильно вакуолизированы. Несмотря на это, в клетках наблюдаются крупные, активные ядра с ядрышком, а некоторые – с двумя ядрышками. Наружные клеточные стенки описываемых клеток значительно утолщены. Более мелкие, активно делящиеся клетки с густыми вкраплениями плотных гранул круглой формы характеризуются хорошо прокрашиваемой цитоплазмой (Рис. 8).

Под влиянием 0,1 мг/л АБК (окраска алциановым синим) клетки рыхлого эмбриогенного каллуса пшеницы изменяются не значительно. В структуре каллуса наблюдали комплексы, состоящие из метаболически активных клеток с большим количеством мелких вакуолей и включений, а также из мелких меристематических клеток с крупным ядром. На периферии этих комплексов были замечены четко выраженные одиночные сферические эмбриогенные клетки с утолщенной оболочкой (Рис. 9).

В других комплексах преобладают клетки различной степени вакуолизации. По сравнению с РЭ каллусами ячменя у пшеницы в этих комплексах наблюдаются значительные пространства между отдельными клетками. Часть клеток выглядит слабо вакуолизированными, в них отчетливо выявляется крупное ядро. Содержимое протопласта выглядит дискретным, причем большинство частиц локализуется вокруг ядра. Вакуоли занимают периферию клетки. В сильно вакуолизированных клетках объем вакуолей значительно возрастает. На медианных срезах таких клеток в центре видно крупное ядро, вокруг которого расположены вакуоли. Цитоплазма сохраняется, по-видимому, в виде тяжей, рассмотреть которые в световой микроскоп не представляется возможным, однако на увеличенных микрофотографиях тяжи вполне различимы (Рис. 10). В вакуолях заметен хлопьевидный осадок и отдельные глобулы умеренной плотности. На срезах, смещенных от центра клетки, помимо вакуолей отмечают отдельные дискретные частицы.

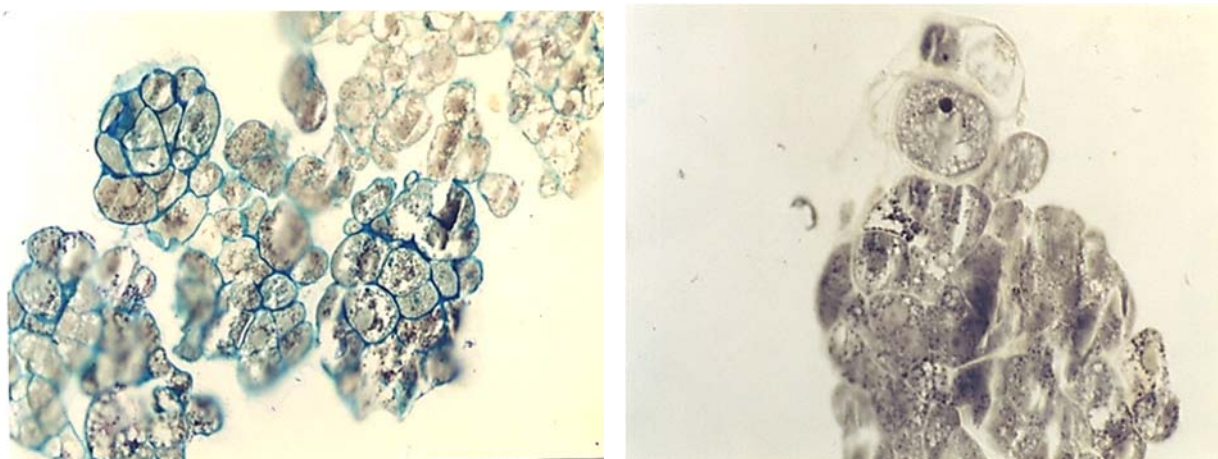


Рисунок 9 – Полутонкие срезы рыхлого эмбрионного каллуса пшеницы на среде с 0,1 АБК.

Часть клеток находится на стадии деградации. Четких картин псевдоплазмолиза в таких клетках не наблюдается, вся полость клетки выглядит либо прозрачной, либо заполненной неравномерно распределенными (либо в центре, либо по периферии клетки) дискретными частицами.



Рисунок 10 – Вакуолизованные клетки РЭ каллуса пшеницы под влиянием 0,1 АБК

Под влиянием 7,0 мг/л 2,4-Д (окраска бромфеноловым синим) клетки рыхлого эмбрионного каллуса ячменя характеризуются образованием крупных клеток с прозрачным содержимым и утолщенными клеточными оболочками в массе мелких клеток, часто сдавленной и извилистой формы, находящихся на различных стадиях деградации. В описываемых клетках может наблюдаться псевдоплазмолиз (Рисунок 10, короткая стрелка), а также образование крупных плотных глобул (Рисунок 10, длинные стрелки).

Интересно отметить, что экстрацеллюлярный матрикс, наблюдаемый в предыдущих вариантах возле наружных клеток каллуса, в описываемом варианте характерен для межклеточного пространства. Матрикс слабо прокрашивающийся, но довольно хорошо заметный (Рисунок 10, звездочки).

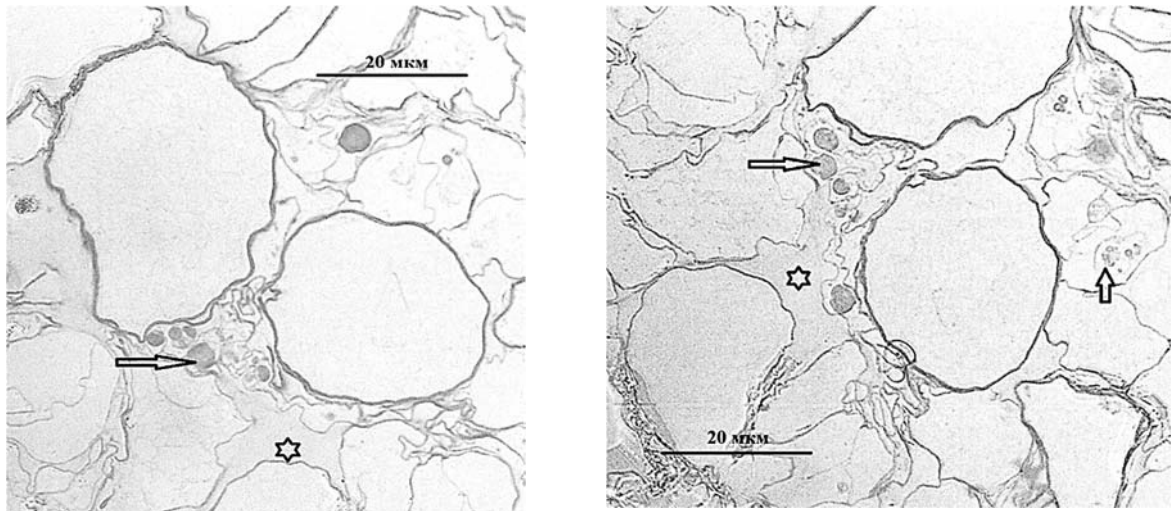


Рисунок 10 – Клетки РЭ каллуса ячменя под влиянием 2,4-Д

Выводы

Проведено сравнительное изучение влияния различных концентраций АБК, БАП и 2,4-Д на структуру клеток. Отмечено, что действие различных концентрации АБК 0,1 мг/л и 1,0 мг/л на структуру клеток каллуса ячменя сходно. Так, на препаратах преобладают деградирующие клетки с псевдоплазмоллизом и делящиеся мелкие меристематические клетки. На структуру клеток каллуса пшеницы действие 0,1 мг/л АБК достаточно сильно отличается по следующим признакам: наблюдается образование значительных пустых пространств между клетками, обнаружено два типа вакуолизированных клеток – слабо- и сильно вакуолизированные, выявлен слабо выраженный экстрацеллюлярный матрикс. В этом варианте наблюдались четко выраженные одиночные сферические эмбрионные клетки с утолщенной оболочкой. В каллусах ячменя на среде В5 с 1,0 мг/л БАП было замечено значительное количество эмбрионных клеток, подвергшихся ПКС и более мелких, активно делящихся клеток с густыми отложениями плотных гранул сферической формы и с хорошо прокрашиваемой цитоплазмой. В контроле, на среде В5, дополненной с 7,0 мг/л 2,4-Д клетки каллуса ячменя представляют собой крупные клетки с утолщенными стенками и редкими плотными гранулами округлой формы, локализованных в основном вне клеток. Вокруг эмбриоидогенных клеток наблюдалось отложение хорошо выраженного экстрацеллюлярного матрикса.

Наиболее выраженная картина регуляции процессов цитодифференцировки представлена на полутонких срезах каллусов пшеницы, культивируемых на среде с 0,1 мг/л АБК, и каллусов ячменя, культивируемых на среде с 1,0 мг/л БАП.

Литература

1. Бутенко Р.Г. Культура изолированных тканей и физиология морфогенеза растений //М. Наука 1964. С. 272
2. Steward F.C., Mapes M.O., Mears K. Growth and organized development of cultured cells II. Organization in cultures grown from freely suspended cells //Am. J. Bot. 1958. V. 45. P. 705-708
3. Nomura K., Komamine A. Identification an isolation of single that produce somatic embryos at a high frequency in a carrot suspension culture //Pl. Physiol. 1985. V 79. P. 988-991.

4. Бишимбаева Н.К. Регуляция соматического эмбриогенеза и длительное поддержание тотипотентности в культуре тканей ячменя пшеницы //Исследования, результаты 2007. № 4. С. 56-60
5. Armstrong C.L., Green C.E. Establishment and maintenance of friable embryogenic maize callus and the involvement of L-proline //Planta 1985. V. 133. P. 207-214
6. Lowe K., Taylor D.A., Ryan P. Plant regeneration via organogenesis and embryogenesis in maize inbred Sine B 73 //Plant Sci. 1985. V 41. P.125
7. Амирова А.К., Бишимбаева Н.К. Влияние 2,4-Д на процесс соматического эмбриогенеза в длительно-культивируемых тканях пшеницы //Биотехнология. Теория и практика. 2004. № 3-4. С. 42-47
8. Бишимбаева Н.К., Амирова А.К., Денебаева Г. Влияние абсцизовой кислоты на состав клеточных популяций и морфогенез в культуре тканей пшеницы и ячменя //Поиск. Серия естеств. и тех. наук. 2007. № 1. С. 133-135
9. Рахимбаев И.Р., Бишимбаева Н.К., Амирова А.К., Денебаева Г. Влияние БАП на процессы клеточной дифференцировки и морфогенеза в культуре тканей пшеницы и ячменя //Поиск. Серия естеств. и тех. наук. 2007. № 1. С. 136-138
10. Gamborg O.L., Eveleigh D.E. Culture methods and detection of glucanases in suspension cultures// Can. J. Biochem. 1968. V. 46 (5). P. 417-42
11. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // Physiol. Plant. 1962. V. 15. P. 473-497

Rakhimova E.V., Bishimbayeva N.K., Amirova A.K., Nurgazina A.S.

EFFECT OF PHYTOHORMONES ON THE STRUCTURE OF FRIABLE EMBRYOGENIC CALLUS

Annotation

Study of the effect of different concentration phytohormones (2,4-dichlorophenoxyacetic acid, abscisic acid, 6-benzylaminopurine) on the structure of long-term embryogenic calli of wheat and barley have been conducted by the use of semithin sections. Strong effect of regulation the processes of morphogenesis and cytodifferentiation has been revealed on semithin sections of barley's calli, which was cultivated in medium B5 with 1,0 mg/l BA. In all embodiments of the experiment was observed plasmolysis cells and cells at different stages of degradation.

Key words: plant hormones, embryogenic callus, cereals.

Рахимова Е.В., Бишимбаева Н.К., Амирова А.К., Нургазина А.С.

БОРПЫЛДАҚ ЭМБРИОГЕНДІ ҰЛПАЛАРЫНЫҢ ҚҰРЫЛЫМЫНА ФИТОГОРМОНДАРДЫҢ ӘСЕРІ

Аңдатпа

Гистологиялық кесінділер (2 мкм) арқылы фитогормондардың (2,4-дихлорфеноксисірке қышқылы, абсциз қышқылы және 6-бензиламинопурин) әртүрлі концентрациясының арпа және бидай ұзақ мерзімді эмбриогенді ұлпаларының құрылымына әсері көрсетілді. Морфогенез және цитодифференцировка реттеу үлгісі 1,0 мг/л БАП қосылған B5 ортада өсірілген арпа ұлпасынан алынған кесінділерде ең айқын анықталды. Плазмолиз ұшыраған клеткалар және деградацияның түрлі сатыларындағы клеткалар эксперименттің барлық нұсқаларында байқалды.

Кілт сөздер: фитогормондар, эмбриогенді ұлпалар, дәнді дақылдар.