

Насиев Б.Н., Жаңаталапов Н.Ж.

ЖАРТЫЛАЙ ШӨЛЕЙТТІ АЙМАҚТЫҢ ЖАЙЫЛЫМДАРЫНЫҢ ЖАЮ РЕЖИМІНЕ БАЙЛАНЫСТЫ ЖАҒДАЙЫ

Аңдатпа

Зерттеулер жайылымдарды баппен (65-75% көлемінде малға жаю) пайдаланудың тиімділігін анықтады. Жайылымдарды қарқынды (100% көлемінде малға жаю) пайдаланған күнде олардың өсімдіктер құрамы қатты күйзеліске ұшырайды.

Кілт сөздер: жайылым, мониторинг, жаю, өсімдіктер құрамы, өнімділік, саны.

Nasiyev B.N., Zhanatalapov N.Zh.

STATE OF VEGETABLE COVER OF PASTURES OF THE SEMIDESERTED ZONE IN DEPENDENCE ON MODES OF PASTURE

Annotation

The researches established the expediency of moderated (65-75% browsing) use of pastures. The change of floristic structure and efficiency of pastures soil cover is noted at the intensive use of pastures.

Keywords: pastures, monitoring, pasture, vegetable composition, productivity, quantity.

УДК 57.012.4

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

РГП «Институт биологии и биотехнологии растений» КН МОН РК

ВЛИЯНИЕ ХОЛОДОВОГО СТРЕССА НА УЛЬТРАСТРУКТУРУ ПЫЛЬНИКОВ И МИКРОСПОР ЯЧМЕНЯ

Аннотация

Под воздействием стресса, микроспоры или молодые пыльцевые зерна могут переключаться с пути нормального, гаметофитного, развития пыльцы на эмбриогенный, спорофитный, путь; такое переключение получило название андрогенеза. В данной статье мы изучили особенности ультраструктуры пыльников с микроспорами ячменя подвергшихся и не подвергавшихся воздействию холода. Были обнаружены различия в слоях оболочек пыльников – экзотеция и эндотеция, внешний вид и содержимое микроспор также разнились.

Ключевые слова: андрогенез, пыльники и микроспоры ячменя, холодное воздействие.

Введение

Андрогенез, также называемый эмбриогенезом микроспор или пыльцы – один из самых удивительных примеров клеточной тотипотентности у растений.

Было описано значительное количество факторов влияющих на индукцию андрогенеза. Наиболее важными являются генотип растения-донора, стадия развития пыльцы, состав питательной среды, предварительная обработка цветочного бутона или индуцирующая обработка изолированных микроспор, физиологическое состояние и

условия роста растения-донора [1,2,3,4]. Андроженное развитие может быть разделено на три главных характерных фазы: приобретение эмбриогенного потенциала, инициация клеточного деления и формирование паттернов.

Хотя андрогенез является процессом, встречающимся в природе у некоторых видов, в естественных условиях частота его воспроизводства очень низкая [5,6,7]. Продуктивный андрогенез обычно индуцировали применением стрессовой обработки холодом целых растений в естественных условиях или отростков, почек, пыльников и изолированных микроспор в пробирке [8]. Тем не менее, многие агрономически важные культуры не поддаются андрогенезу [9]. Дальнейшему использованию этой технологии в значительной степени препятствует плохое понимание механизмов, которые делают клетки микроспор эмбриогенными.

Важным постулатом на основе практического опыта является то, что стрессовая обработка необходима для эффективного переключения пути развития, судьба микроспор, сильно варьируется в зависимости от видов растений и видов генотипа. У ячменя, более высокая эффективность регенерации получается, когда микроспоры в середине-конце до поздней стадии одноядерных подвергаются голоданию и осмотическому стрессу, что достигается путем инкубирования пыльников в растворе маннита [10]. У пшеницы и табака, более высокие скорости индукции достигаются периодом голодания в сочетании с тепловым шоком [11], в то время как одной обработки тепловым шок достаточно, чтобы вызвать андрогенез у рапса и перца [12]. Тем не менее, при использовании других типов стрессов, в пределах отзывчивого окна развития, было продемонстрировано что можно вызвать андрогенез. Клетки обрабатывали колхицином [13,14], азотным голоданием [15], ауксином [16], химическими веществами, гамма-облучением [17] и холодом [18]. Так как очень много факторов стресса может вызвать перепрограммирование микроспор в эмбрионы, вполне вероятно, что иницирование андрогенеза индуцируется сходными сигнальными путями.

Стрессовое воздействие холодом на пыльники пшеницы приводит к нарушению целостности пыльника как единой интегрированной системы, проявляющееся в «отрыве» микроспор от стенок пыльника. Согласно данным световой и трансмиссионной электронной микроскопии, после 3 суток стрессового воздействия холодом начинается постепенное нарушение контакта микроспор с клетками тапетума, на 7-е сутки этот процесс достигает максимума. Нарушение морфогенетических и морфофизиологических корреляций между тканями стенки пыльника и микроспорами, связанное с переходом на спорофитный путь развития имеет следствием изменение структурной организации микроспоры [19].

Целью данного исследования было изучение особенности ультраструктурного строения пыльников ячменя с микроспорами под действием холодового стресса при переключении пути развития с гаметофитного на спорофитный.

Материалы и методы

В качестве объектов исследования были отобраны два варианта пыльников с микроспорами ячменя: не подвергшиеся воздействию холода (контроль) и подвергавшиеся воздействию холода $4\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 7 дней (опыт).

Для фиксации использовали 2% глутаральдегид (2,5 ч) и 1% тетроксид осмия (2 ч) на какодилатном буфере (рН 7,4). Далее объекты отмывали от фиксаторов, окрашивали в одном варианте алциановым синим, в другом бромфеноловым синим затем пыльники с микроспорами обезвоживали в этаноле и заключали в смесь эпон-аралдит. Ультратонкие срезы толщиной 60-100 нм получали с помощью ультратома Ultracut (Reichert-Jung), контрастировали уранилацетатом, изучали и фотографировали с помощью электронного микроскопа Jeol JEM 2100 (Jeol, Япония).

Результаты исследований и их обсуждение

Блок 1 - Пыльники ячменя, контроль без холодового воздействия, фиксация глутаральдегидом-тетроксидом осмия.

Экзотеций пыльника состоит из одного слоя клеток с утолщенными стенками и толстой кутикулой с неровной, шиповатой наружной поверхностью, покрывающей клетки с внешней стороны. Клетки экзотеция округлые, сильно вакуолизированы, на срезах выглядят пустыми. Клетки эндотеция, лежащие непосредственно под экзотецием, вытянуты в тангентальном направлении. Часть из них также сильно вакуолизированы и выглядят пустыми, но в некоторых сохраняется крупное ядро хромонемного типа с отчетливым ядрышком и конденсированным хроматином в виде хромонем. Ядро находится в цитоплазматическом кармане, который примыкает к клеточной стенке, соседней со стенками клеток экзотеция. На внутренних же стенках клеток эндотеция образуются фиброзные пояски (рисунок 1), имеющие на срезах вид поперечных окрашенных полосок различной длины, в зависимости от плоскости среза. Самый внутренний слой стенки пыльника – выстилающий или тапетум, служащий для питания микроспор. На его внутренней стенке отмечено появление орбикул, служащих для прикрепления пыльцевых зерен.

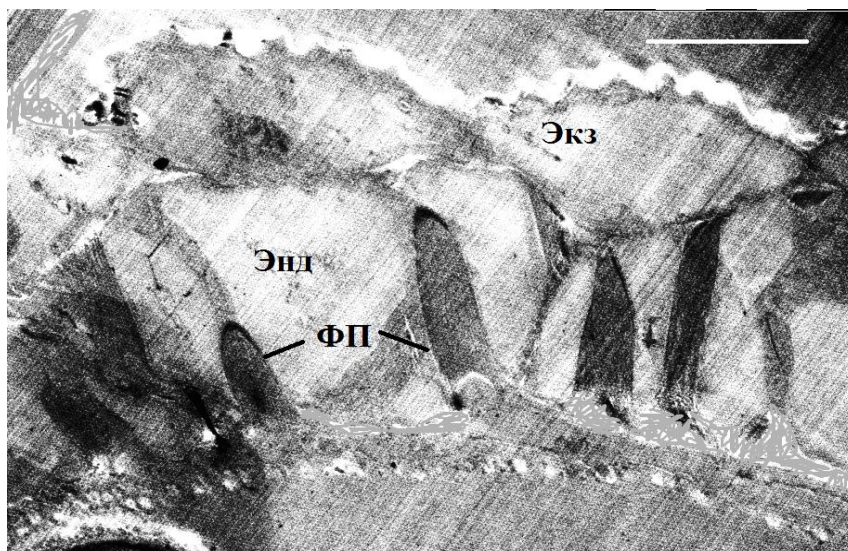


Рисунок 1 – Стенка пыльника с хорошо развитыми фиброзными поясками (ФП – фиброзные пояски, Энд – эндотеций, Экз – экзотеций), шкала 6 мкм

Микроспоры находятся на стадии сильной вакуолизации. За счет этого они часто теряют свою форму, выглядят «спавшимися» или смятыми (на срезах иногда лопастными). Профили микроспор чаще всего выглядят пустыми. У некоторых наблюдается центральная вакуоль с постенно расположенным слоем цитоплазмы. Описываемый слой выглядит умеренно электронно-плотным и органеллы в нем не различимы. Лишь у немногих микроспор сохраняется контакт оболочки с орбикулами.

Клетки связника (особенно близкие к его поверхности) характеризуются наличием достаточно большого числа амилопластов. Большую часть органеллы занимают 1-2 электронно-прозрачных крахмальных зерна. Амилопласты располагаются в цитоплазматических карманах клеток, сдвинутых к клеточной стенке центральными вакуолями. Крупные вакуоли обычно почти прозрачны, а в мелких наблюдаются

отдельные гранулы или хлопьевидный осадок. В некоторых клетках связника наблюдаются локальные участки, полностью занятые липидными каплями.

Иногда липидные капли занимают периферию клеток, примыкая к клеточной стенке, или окружают ядро. Ядро выглядит электронно-плотным, ядрышко в нем не различимо, определить тип ядра не представляется возможным. Клетки, расположенные глубже от поверхности связника, характеризуются меньшим количеством амилопластов.

Блок 2 - Пыльники ячменя, контроль без холодного воздействия, фиксация глутаральдегидом-тетроксидом осмия, прокрашивание алциановым синим.

Стенка пыльника в этом варианте фиксации состоит из экзотеция, эндотеция и тапетума (рисунок 2). Срединный слой представлен лишь отдельными сохранившимися клетками.

Шиповатая поверхность кутикулы сохраняется в этом варианте фиксации. В вакуолизированных клетках эндотеция отчетливо видно крупное ядро, находящееся в цитоплазматическом кармане (рисунок 3). Ядро хромонемного типа с отчетливым ядрышком, которое видно не всегда, и конденсированным хроматином в виде хромонем (рисунок 3). Глыбки конденсированного хроматина часто примыкают к внутренней поверхности ядерной оболочки.

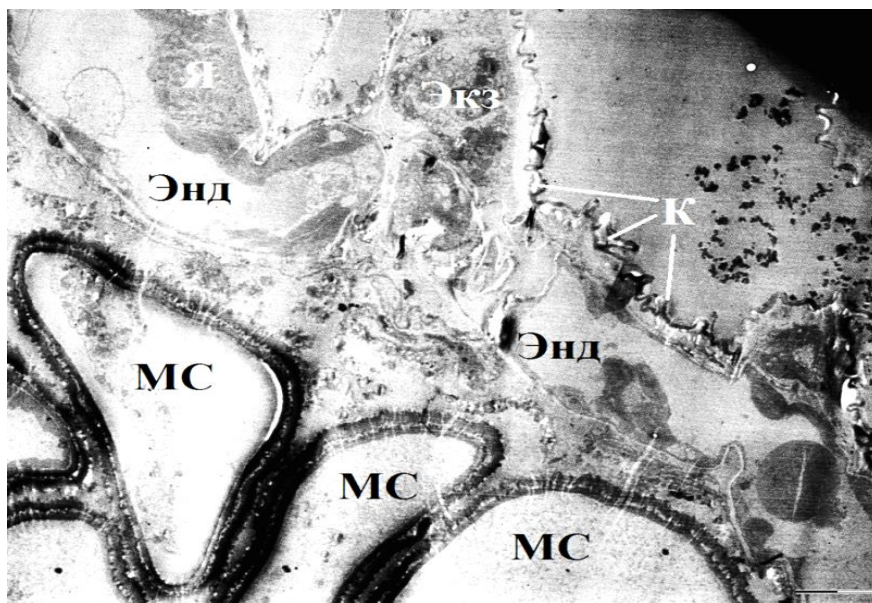


Рисунок 2 – Стенка пыльника (К – кутикула, МС-микроспоры, Энд – эндотеций, Экз – экзотеций, Я – ядро в клетке эндотеция), шкала 4 мкм

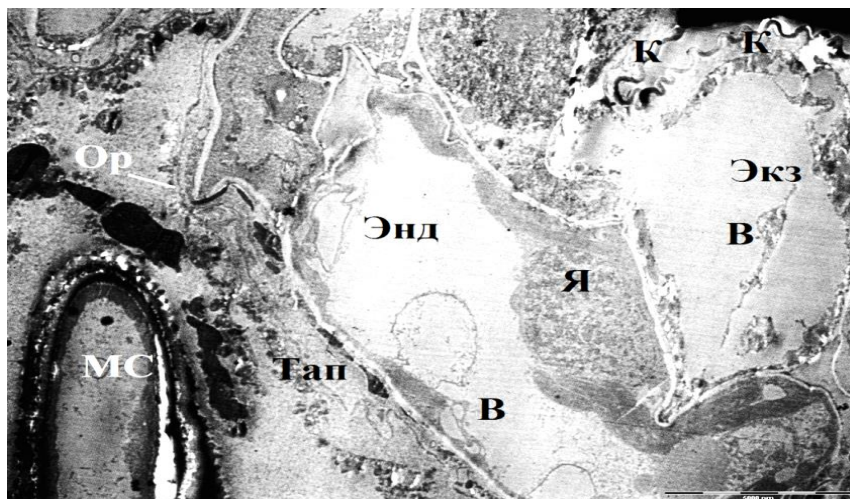


Рисунок 3 – Стенка пыльника (В – вакуоль, К – кутикула, МС-микроспоры, Ор – орбикулы, Тап – тапетум, Энд – эндотеций, Экз – экзотеций, Я – ядро в клетке эндотеция), шкала 5 мкм

Фиброзные пояски на стенках клеток эндотеция не видны. Самый внутренний слой стенки пыльника – выстилающий или тапетум, служащий для питания микроспор, представлен различными по величине клетками. Чаще всего они мелкие, клеточная стенка тонкая и деформированная, содержимое клеток практически не идентифицируется. На стенках клеток тапетума отмечено появление орбикул (рисунок 4), служащих для прикрепления пыльцевых зерен.

В отличие от предыдущего способа фиксации большая часть микроспор сохраняет свою округлую форму (рисунок 4), оставшиеся микроспоры выглядят лишь слегка смятыми (рисунок 5). Микроспоры сильно вакуолизированы, с образованием крупной прозрачной центральной вакуоли. Цитоплазма сохраняется узким постенным слоем в котором органеллы не поддаются идентификации. Одновременно с процессом вакуолизации происходит псевдоплазмолиз, поэтому на срезах центр микроспоры занят вакуолью, затем располагается узкий слой цитоплазмы и периплазматическое пространство (рисунок 5).

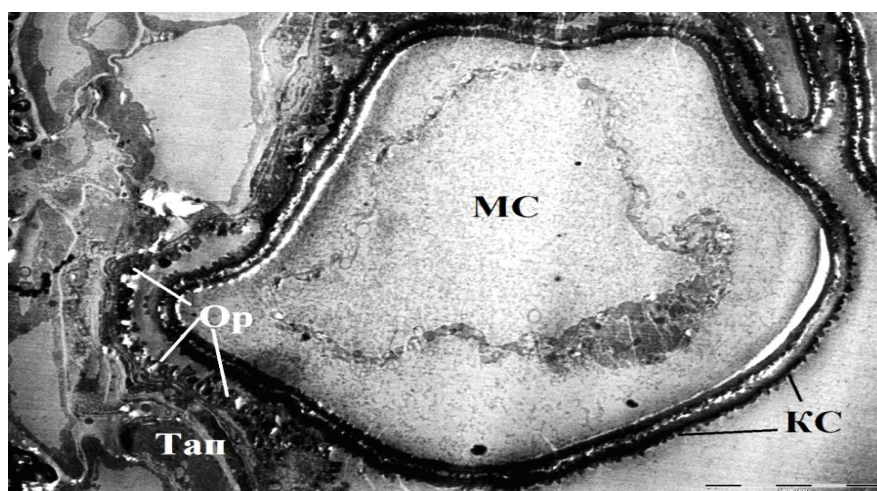


Рисунок 4 – Микроспора (КС – клеточная стенка, МС – микроспоры, Ор – орбикулы, Тап – тапетум), шкала 5 мкм

У некоторых микроспор центральная вакуоль не выражена, либо она смята при псевдоплазмолизе (рисунок 5). В таких микроспорах цитоплазма разрежена, и в ней сохраняются мелкие митохондрии. Оболочка микроспор снабжена шипиками (рисунок 5), обеспечивающими сцепление с орбикулами.

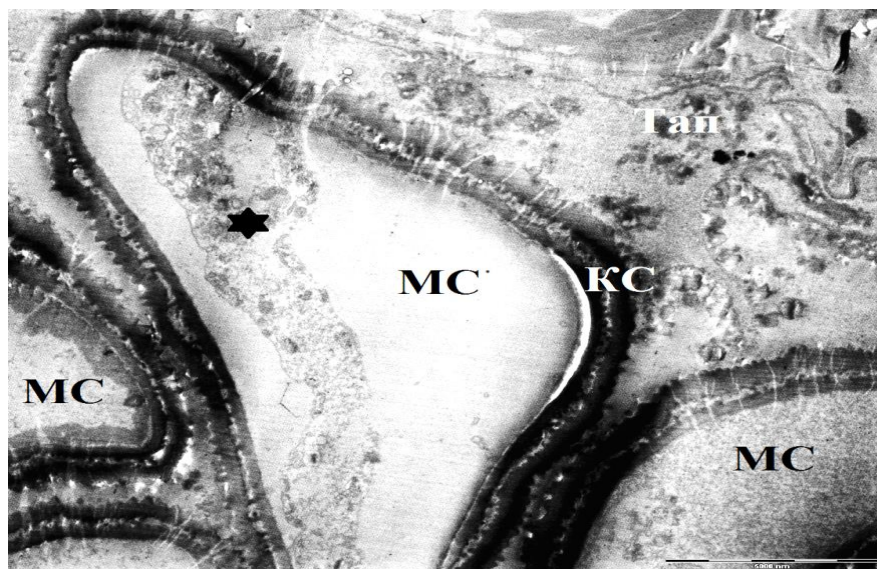


Рисунок 5 – Микроспора (КС – клеточная стенка, МС – микроспоры, Тап – тапетум, звездочкой отмечен псевдоплазмолиз в микроспоре), шкала 5 мкм

Блок 6 - Пыльники ячменя, опыт при холодовом воздействии, фиксация глутаральдегидом-тетроксидом осмия, прокрашивание бромфеноловым синим.

Как отмечено при описании полутонких срезов, классическое строение пыльника ячменя сохраняется при этом варианте фиксации не полностью. Клетки связника видны не все, сохраняется только центральная часть и клетки сосуда (рисунок 7).

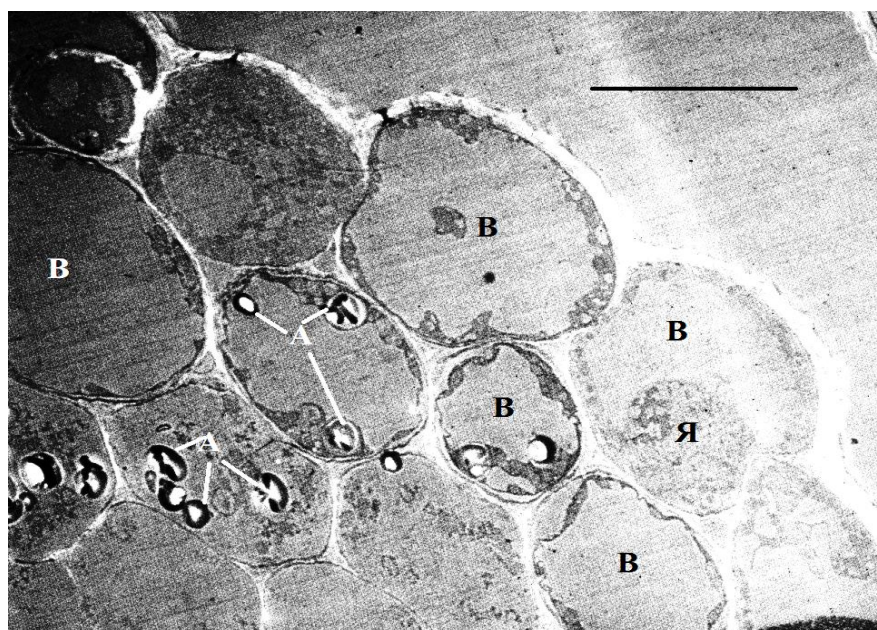


Рисунок 6 – Часть связника (А – амилопласты, В – вакуоль, Я - ядро), шкала 8 мкм

Наружные клетки связника покрыты кутикулой, вакуолизированные, судя по морфологии физиологически активны. На некоторых срезах видно активное ядро хромонемного типа (Рисунок 6). В клетках, расположенных глубже наблюдаются амилопласты.

Клетки экзотеция характеризуются утолщенной наружной стенкой и шиповатой кутикулой. Тонкая структура клеток экзотеция различна. Небольшое количество клеток с прозрачной центральной вакуолью. В таких клетках на срезах можно увидеть как плотные ядра с неразличимой структурой, так и ядра хромонемного типа с конденсированным хроматином в виде четко выраженных хромонем.

Большая часть клеток экзотеция характеризуется наличием в вакуолях плотных глобул различного размера, расположенных без определенного порядка. На срезах глобулы не гомогенно-плотные, а имеют внутри более плотные гранулы. В клетках экзотеция отмечены первичные стадии развития хлоропластов в виде пропластид с маленьким крахмальным зерном (или без него) и с группой мелких пластоглобул.

Клетки эндотеция выглядят мало активными, сильно вакуолизированными. На некоторых срезах видны фиброзные пояски и пропластиды с группой мелких пластоглобул.

Клетки тапетума имеют типичное строение. Стенка клеток тапетума, обращенная к гнезду пыльника, характеризуется наличием орбикул. Микроспоры достаточно хорошо сохраняют свою форму, количество «смятых» спор незначительно. Однако содержимое микроспор выглядит деградированным, различимы вакуоли и просвет между клеточной стенкой и плазмалеммой, как при псевдоплазмолизе.

По мнению Н.Н.Кругловой с соавторами [19], стрессовое воздействие холодом на пыльники пшеницы приводит к нарушению целостности пыльника за счет нарушения контакта микроспор с орбикулами клеток тапетума. В наших исследованиях, в пыльниках ячменя (опыт при холодовом воздействии, фиксация глутаральдегидом-тетроксидом осмия, прокрашивание бромфеноловым синим) большая часть клеток экзотеция характеризовалась наличием в вакуолях плотных глобул различного размера, расположенных без определенного порядка. На срезах глобулы выглядели не гомогенно-плотными, а имели внутри более плотные мелкие гранулы. Содержимое микроспор выглядело деградированным, различимы вакуоли и просвет между клеточной стенкой и плазмалеммой, как при псевдоплазмолизе. Пристенное положение микроспор было нарушено, не было контакта микроспор с орбикулами клеток тапетума. У некоторых микроспор заметны уже хорошо сформированные проростковые поры, оперкулы.

Литература

1. *Jahne A., Lorz H.* Cereal microspore culture // *Plant science*. 1995. Vol. 109. P.1-12
2. *Goralski G., Matthys-Roshon E., Vergne P., Przywara L.* Androgenetic development: a fascinating embryo formation process // *Acta Biologica Cracoviensia*. 1999. Vol. 44. P. 203-212
3. *Indrianto A., Heberle-Bors E., Touraev A.* Assessment of various stresses and carbohydrates for their effect on the induction of embryogenesis in isolated wheat microspores // *Plant Science*. 1999. Vol. 143. P. 71-79
4. *Smycal P.* Pollen embryogenesis – the stress mediated switch from gametophytic to sporophytic development. Current status and future prospects // *Biologia Plantarum*. 2000. Vol. 43. P. 481-489
5. *Rammana M.S.* The origin and in vivo development of embryoids in the anthers of *Solanum hybrids* // *Euphytica*. 1974. V. 23. P. 623–632

6. Rammana M.S., Hermsen J.G.T.H. Embryoid formation in the anthers of some interspecific hybrids in *Solanum* // *Euphytica*. 1974. Vol. 23. P. 423–427
7. Koul A.K., Karihaloo J.L. In vivoembryoids from anthers of *Narcissus bioflorus* curt. // *Euphytica*. - 1977. Vol. 26. P. 97–102
8. Touraev A., Vicente O., Heberle-Bors E. Initiation of microspore embryogenesis by stress // *Trends in Plant Science*. 1997. Vol. 2. P. 297–302
9. Hoekstra S., van Zijderveld M.H., Louwerse J.D., Heidekamp F., van der Mark F. Anther and microspore culture of *Hordeum vulgare* L. cv. // *Igri. Plant Science*. 1992. Vol. 86. P. 89–96
10. Touraev A., Indrianto A., Vicente O., Wratschko O., Heberle-Bors E. Efficient microspore embryogenesis in wheat (*Triticum aestivum* L.) induced by starvation at high temperature // *Sexual Plant Reproduction*. 1996. Vol. 9. P. 209–215
11. Barany I., Testillano P.S., Mityko J., Risueno M.C. The switch of the microspore program in *Capsicum* involves HSP70 expression and leads to the production of haploid plants // *International Journal of Developmental Biology*. 2001. Vol. 45. P. 39–40
12. Zhao J.P., Simmonds D.H., Newcomb W. Induction of embryogenesis with colchicine instead of heat in microspores of *Brassica napus* L. cv. // *Topas. Planta*. 1996. Vol. 189. P. 433–439
13. Obert B., Barnabas B. Colchicine induced embryogenesis in maize // *Plant Cell. Tissue and Organ Culture*. 2004. Vol. 77. – P. 283–285
14. Kyo M., Harada H. Control of the developmental pathway of tobacco pollen in vitro // *Planta*. 1986. Vol. 168. P. 427–432
15. Reynolds T.L., Kitto S.L. Identification of embryoid-abundant genes that are temporally expressed during pollen embryogenesis in wheat anther cultures // *Plant Physiology*. 1992. Vol. 100. P. 1744–1750
16. Zheng M.Y., Liu W., Weng Y., Polle E., Konzak C.F. Culture of freshly isolated wheat (*Triticum aestivum* L.) microspores with inducer chemicals // *Plant Cell Reports*. 2001. Vol. 20. P. 685–690
17. Kasha K.J., Hu T.C., Oro R., Simion E., Shim Y.S. Nuclear fusion leads to chromosome doubling during mannitol pretreatment of barley (*Hordeum vulgare* L.) microspores // *Journal of Experimental Botany*. 2001. Vol. 52. P. 1227–1238
18. Kruglova N.N. Embryological bases of wheat androcliny: Atlas / N.N. Kruglova, T.B. Batygina, V.Yu. Gorbunova, etc // *Nauka*. 2005. P. 45.

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

INFLUENCE COLD TREATMENT ON THE ULTRASTRUCTURE OF ANTHERS WITH MICROSPORES OF BARLEY

Annotation

Upon stress, microspores or young pollen grains can be switched from their normal gametophytic pollen development towards an embryogenic sporophytic pathway, a process called androgenesis. In this article we examined the ultrastructural features of the anthers with microspores of barley exposed and not exposed to the cold. Differences were found in the layers of anther - exothecium and endothecium, appearance and content of microspore were different.

Keywords: androgenesis, anthers and microspores of barley, cold treatment.

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

АРПАНЫҢ ТОЗАҢЫ МЕН МИКРОСПОРАЛАРЫНЫҢ УЛЬТРАҚҰРЫЛЫСЫНА СУЫҚ ТЕМПЕРАТУРАЛЫҚ СТРЕССТІҢ ӘСЕРІ

Аңдатпа

Стресстің ықпалымен микроспоралар немесе жас тозаң дәндері қалыпты даму жолынан тозаңның эмбриогенді даму жолына түсе алады. Бұл мақалада біз суық температура әсер еткен және әсер етпеген арпаның тозаңы мен микроспораларының. Тоzaңдардың сыртқы қабаттарында (экзотеция, эндотеция), сыртқы түрінде және микроспоралардың құрамында ерекшеліктер болды.

Кілт сөздер: андрогенез, арпаның тозаңы мен микроспоралары, суық температурамен әсер ету.

УДК 633.88:615.2/3

Сабыр С.Д., Жургенов Ж.С., Суримбаева К.А.

*Казахский национальный аграрный университет,
Южно-Казахстанский Государственный Университет им М. Ауэзова*

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ ЭЛЕМЕНТОВ ВОЗДЕЛЫВАНИЯ ЭХИНАЦЕИ ПУРПУРНОЙ

Аннотация

Изучение первичных агротехнических приемов выращивания эхинацеи пурпурной для последующего внедрения в производство для Южного Казахстана. Эхинацея пурпурная (лат. Echinacea purpurea) является новой культурой. Нами были проведены исследования по агротехническому приему выращивания эхинацеи пурпурной, установлению оптимального срока и густоты стояния растений в 1 м².

Ключевые слова: эхинацея, интродукция, вегетация, агротехника, сроки посева.

Введение

Лекарственные растения были и остаются важным источником жизни и здоровья человека, поэтому потребность в них для целей здравоохранения с каждым годом возрастает. В связи с повышенным спросом на лекарственные растения увеличились их заготовки в естественных местах обитания, которые уже не способны удовлетворить всевозрастающий на них спрос. Многие лекарственные растения характеризуются низкой регенерационной способностью, их надземная часть восстанавливается в среднем за 3-8 лет [1].

Условия жаркого лета и создание агротехнических условий возделывания позволяют на юге Казахстана выращивать тропические и субтропические растения, поэтому интродукция и выращивание лекарственных растений в культуре позволит расширить возможности их применения. Южный Казахстан является мощной базой лекарственного растительного сырья как для АО «Химфарм», так и в целом для республики [2].

Южно-Казахстанский регион охватывает свыше четверти (26%) площади республики, характеризуется большим разнообразием почвенно-климатических условий. На юге и востоке регион окаймлен горной системой Тянь-Шаня. Важнейшим фактором климатообразования в горах является рельеф с изменением относительных высот.