

Особенности морфологической гетерогенности каллусных тканей хлопчатника казахстанской селекции

Ертаева Бахыт Ертаевна, докторант;
Амирова Айгуль Кузембаевна, кандидат биологических наук, научный сотрудник;
Бишимбаева Назира Козыкеевна, заведующий лабораторией
Институт биологии и биотехнологии растений КН МОН РК (г. Алматы)

Выявлены особенности морфологической гетерогенности и метаморфоза каллусных тканей хлопчатника. Идентифицирован универсальный для различных генотипов и морфогенетически стабильный при субкультивировании серовато-белый тип каллуса.

Ключевые слова: хлопчатник, каллусные ткани, эмбриогенные ткани.

The features of morphological heterogeneity and metamorphosis of Kazakh cotton callus tissues

Yertayeva B. E., Amirova A. K., Bishimbaeva N. K.
Institute of Plant Biology and Biotechnology CS MES RK (Almaty)

The features of morphological heterogeneity and metamorphosis of cotton callus tissues have been clarified. The universal for different genotypes and stable during subculture morphogenetically grayish-white calli type was identified.

Keywords: cotton, callus tissue, embryogenic tissue.

Хлопчатник является важнейшей сельскохозяйственной культурой, имеющей экспортное значение [1]. Важной проблемой, сдерживающей разработку и широкое использование клеточных технологий для генетического улучшения хлопчатника, является существенная зависимость процесса регенерации растений в культуре тканей *in vitro* от исходного генотипа. Высокая способность к регенерации растений в культуре тканей хлопчатника ограничиваются, в основном, двумя — тремя сортами разновидности Coker, которые зачастую не являются коммерчески важными. В связи с этим, важной проблемой биотехнологий растений является разработка методов регенерации растений *in vitro*, пригодных для коммерчески ценных генотипов [2, 3]. В частности, проблема разработки клеточных технологий актуальна и для казахстанских сортов хлопчатника. Основной причиной, обуславливающей зависимость процессов регенераций от генотипа, является недостаток знаний о закономерностях процессов морфогенеза и регенерации растений универсальных для различных генотипов.

Объекты и методы исследования

Объектами исследования служили районированные сорта хлопчатника казахстанской селекции — Мактаарал-4003, Мактаарал-4005, Мактаарал-4006, Мактаарал-4007, Мактаарал-4011, Мактаарал-4019, Пахтаарал-3044. При проведении экспериментов с культурой тканей руководствовались общими методическими при-

емами, описанными Ф.Л. Калининным с соавторами [4]. Постоянные гистологические препараты готовили по З.П. Паушевой [5]. Препараты изучали и фотографировали на микроскопе «Leika». Все эксперименты проводились в 3-х повторностях.

Результаты и обсуждения

В первичной культуре каллусов, полученных из семядолей и гипокотилей семи отечественных сортов хлопчатника, идентифицировано 3 типа тканей: I — серовато-белый рыхлый морфогенный; II — белый матовый плотный неморфогенный; III — бурый неморфогенный. Все типы первичных каллусов образовались через 35–45 дней культивирования эксплантов на среде Мурасиге и Скуга (МС) с 0,1 мг/л 2,4-Д, 0,5 мг/л кинетина и 3% сахарозы. Серовато-белый рыхлый морфогенный каллус (I тип) отобран нами для исследований, другие два типа первичных каллусов II и III типы оказались морфологически не перспективными. В процессе субкультивирования I типа ткани происходит метаморфоз первичного каллуса с образованием серовато-белого глобулярного морфогенного каллуса (IV тип) и полупрозрачного желтоватого рыхлого эмбриогенного каллуса (V тип). IV тип ткани получен при субкультивировании серовато-белых рыхлых каллусов I типа в течение двух пассажей (60–70 дней) на среде МС с удвоенной концентрацией макроэлементов, 1,0 мг/л 2,4-Д, 0,01 мг/л кинетина, 1000 мг/л гидролизата казеина (ГК), 500 мг/л пролина и 3% маль-

тозы [6, 7]. Полупрозрачный желтоватый рыхлый эмбриогенный каллус (V тип) образуется при субкультивировании I типа ткани в течение 2-х последовательных пассажей (60–70 дней) на среде МС с удвоенной концентрацией KNO_3 и 3% мальтозы. В последующем из IV типа ткани получен матовый белый каллус (VI тип) и зеленый плотный эмбриогенный каллус (VII тип) при субкультивировании IV типа ткани в течение 35–40 дней на среде МС с 1,0 мг/л 2,4-Д, 0,01 мг/л кинетина, 1000 мг/л гидролизата казеина (ГК), 500 мг/л пролина и 3% мальтозы образуется матовый белый каллус (VI тип). Зеленые плотные эмбриогенные каллусы (VII типа) получены путем субкультивирования каллусов IV типа в течение двух пассажей согласно протоколу Kumria и др. [8]. Таким образом, выделен морфогенетически перспективный и универсальный для различных генотипов хлопчатника тип ткани — серовато-белый рыхлый каллус (I тип), который оказался отзывчивым на изменение состава питательной среды и способствовал получению различных морфологических типов тканей.

Изучение постоянных гистологических препаратов позволило выявить, что серовато-белый морфогенный каллус (I тип) в центральной части ткани состоит из плотно упакованных паренхимных клеток, на пери-

ферии — из обособленных друг от друга удлиненных клеток и клеток сферической формы. Каллус IV типа состоит из меристематических комплексов, крупных удлиненных и овальных каллусных клеток и одиночных округлых, компетентных к эмбриогенезу клеток. В IV типе каллуса имеются одиночные эмбриогенные клетки, проэмбриониды не обнаружены, т.е. не происходит деление компетентных клеток. Рыхлые эмбриогенные полупрозрачные желтоватые каллусы (V тип) состоят из одиночных эмбриогенных клеток, 2-х, 3-х 4-х клеточных проэмбрионидов, предглобул, глобул. Матовый белый эмбриогенный каллус (VI тип) состоит из одиночных эмбриогенных клеток с общей каллозной оболочкой, 2-х, 3-х и 4-х клеточных проэмбрионидов, эмбриогенных клеточных комплексов (ЭКК), гигантских округлых и удлиненных каллусных клеток. Плотные эмбриогенные каллусы зеленого цвета (VII тип) состоят из ЭКК, удлиненных клеток, компетентных клеток и соматических зародышей на стадии инициации первых клеточных делений (проэмбриониды). Таким образом, выяснены особенности морфологической гетерогенности каллусных тканей хлопчатника и идентифицирован наиболее стабильный и морфогенетически перспективный и универсальный для различных генотипов серовато-белый рыхлый тип каллуса (I тип).

Литература:

1. Умбетаев, И. И. Технология возделывания отечественных сортов хлопчатника — Алматы. — 2005. — 235 с.
2. Smith, R.H., Smith J.W., Park S.H. Cotton Transformation: Successes and Challenges/Liang G.H., Skinner D.Z. Genetically modified crops. Their development, uses and risks //Food Products Press, New York. — 2004. — P. 247–257.
3. Zapata, C., Park S.H., El-Zik K.M., Smith R.H. Transformation of a Texas cotton cultivar by using Agrobacterium and the shoot apex //Theoretical and Applied Genetics, 1999. — V. 98. — P. 252–256.
4. Калинин, Ф.Л., Сарнацкая В.В., Полищук В.Е. Методы культуры тканей в физиологии и биохимии растений. — Киев: Науково думка. — 1980. — 407 с.
5. Паушева, З.П. Практикум по цитологии растений — М.: «Агропромиздат». — 1988. — 272 с.
6. Амирова, А.К., Бишимбаева Н.К. Влияние 2,4-Д на процесс соматического эмбриогенеза в длительно культивируемых каллусных тканях пшеницы //Биотехнология. Теория и практика, 2004. — №3. — с. 42–47.
7. Vasil, I.K. Developing cell and tissue culture systems for the improvement of cereal and grass crops //J. Plant Physiol., 1987. — V. 128. — P. 193–218.
8. Kumria, R., Sunnichan V.G., Das D.K., Gupta S.K., Reddy V.S., Bhatnagar R.K., Leelavathi S. High-frequency somatic embryo production and maturation into normal plants in cotton (*Gossypium hirsutum*) through metabolic stress //Plant Cell Rep., 2003. — V. 21. — P. 635–639.