

43, № 5. – С. 685-691.

3. Развитие возбудителя твердой головни *Tilletia caries* (DC.) Tul. на эмбриогенном каллусе пшеницы / Трошина Н.Б., Максимов И.В., Сурина О.Б., Хайруллин Р.М. // Цитология. – 2000. – Т. 42, № 6. – С. 556-559.

4. Чижова С.И., Павлова В.В., Прусакова Л.Д. Содержание абсцизовой кислоты и рост растений ярового ячменя под действием триазолов // Физиология растений. – 2005. – Т. 52, № 1. – С. 108-114.

5. Новые аспекты в изучении механизмов действия индукторов устойчивости пшеницы к твердой головне / Яруллина Л.Г., Трошина Н.Б., Исаев Р.Ф., Ганиев Р.М., Хайруллин Р.М. // Агрохимия. – 2001. – Т. 5. – С. 63-66.

6. Caliskan M., Cuming A. C. Spatial specificity of H₂O₂-generating oxalate oxidase gene expression during wheat embryo germination // Plant J. – 1998. – V. 15. – P. 165-171.

7. Dumas B., Freyssinet G., Pallet R.E. Tissue-specific expression of germin-like oxalate oxidase during development and fungal infection of barley seedlings // Plant Physiol. – 1995. – V. 107. – P. 1091-1096.

8. Durner J., Klessing D.F. Salicylic acid is a modulator of tobacco and mammalian catalase // J. Biol. Chem. – 1996. – V. 271. – P. 28492-28501.

9. Kawano T. Roles of the reactive oxygen species-generating peroxidase reactions in plant defense and growth induction // Plant Cell Rep. – 2003. – V. 21. – P. 829-837.

10. Mittler R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance // Trends in Plant Science. – 2002. – V. 7. – P. 405-410.

12. Vuletic M., Sukalovich V.H. Characterization of cell wall oxalate oxidase from maize roots // Plant Sci. – 2000. – V. 157. – P. 257-263.

13. Wang H., Li J., Bostock R.M., Gilchrist D.G. Apoptosis: a functional paradigm for programmed cell death induced by a host-selective phytotoxin and invoked during development // Plant Cell. – 1996. – V. 8. – P. 375-391.

ПОВРЕЖДАЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ АБИОТИЧЕСКИХ СТРЕССОВ НА РАСТИТЕЛЬНЫЕ КЛЕТКИ ЗЕРНОВЫХ ЗЛАКОВ

Н.В. ТЕРЛЕЦКАЯ, кандидат биологических наук

Институт биологии и биотехнологии растений НЦБ РК, Алматы, Казахстан

Введение

Растения в естественных условиях подвержены многочисленным стрессам, что сказывается на их росте, развитии и продуктивности. Устойчивость к стрессам формируется на разных уровнях биологической организации. Для отбора перспективных толерантных форм как правило применяются различные провокационные фоны, эффективность которых возрастает при комплексном подходе. А наибольшая производительность отбора может быть достигнута при проведении оценок на прорастающем зерне, в культуре клеток или при гаметофитном отборе [13].

Способность растений на начальных этапах развития эффективно использовать влагу – важнейший биологический и хозяйственno ценный признак, а ростовая реакция проростков на стрессовые условия – один из наглядных показателей изменения их метаболизма [5]. Культуры *in vitro*, позволяющие манипулировать с большим количеством единичных клеток и клеточных агрегатов, чрезвычайно перспективны и как эффективная модель для изучения, и как система отбора толерантных форм, причем устойчивость в данном случае может наследоваться как проявление доминирующего ядерного гена [9]. А гаметофитная фаза, несмотря на небольшой срок прохождения, играет немаловажную роль в передаче генетической информации. В этой фазе

экспрессируется значительная часть генома растений, что дает принципиальную возможность проводить оценку и отбор. Мужских гамет растение формирует на несколько порядков больше, чем женских, и они более подвержены воздействию внешних факторов [2]. Совершенствование методов отбора на уровне проростков, пыльцевых зерен и клеток *in vitro* в составе комплексного отбора может повысить эффективность селекционного процесса и сократить время, необходимое для создания сорта.

Клетка, как единица растительного организма и основа его жизнедеятельности, является тем универсальным уровнем, на котором в минимальном количестве связей и отклонений проявляется все разнообразие функций, присущих биосистемам любой сложности [1]. Поэтому целью данной работы было выявление особенностей реакции клеток зерновых злаков (пшеницы – *Triticum aestivum* L. и ячменя – *Hordeum vulgare* L.) на действие абиотических стрессов (засуха и засоление) на разных уровнях растительной организации *in vivo* и *in vitro*.

Объекты и методы исследования

Объектами исследований служили корешки 7-дневных проростков, пыльцевые зерна и каллусы различных по засухо- и солеустойчивости форм пшеницы и ячменя.

При оценке проростков за основу были взяты методики Удовенко Г.В. и Терлецкой Н.В. и др. [4, 10]. Проростки выращивали в водной культуре. Стressовые условия создавали добавлением сахарозы (17,6%) или NaCl (1,68%).

Введение зародышей в культуру *in vitro* и культивирование каллусов осуществляли по методике Гапоненко А.К. [3]. После двухмесячного культивирования, каллусы подвергали воздействию абиотических стрессов путем добавления в питательную среду полиэтиленгликоля (ПЭГ)-6000 (20%) или NaCl (1,5%). Экспозиция 1 месяц.

Фертильность и жизнеспособность пыльцы оценивали по Транковскому Д.А. [8]. Цитологические исследования тканей проводили на давленых препаратах по Паушевой З.П. [7]. Наблюдения вели на микроскопе «Micros MX-300» с видеонасадкой JL-vision.

Результаты и обсуждение

По определению Е. Barlow [11], осмотическое регулирование – это приспособление клетки к изменяющимся условиям, которое достигается без изменения в тургоре и без уменьшения водного содержания. Солевой стресс, как и засуха, несет в себе осмотическую компоненту. Солетолерантные виды, благодаря способности создавать низкий внутриклеточный осмотический потенциал, могут проявлять устойчивость и в зонах водного стресса [12].

Визуально действие стресса в первую очередь проявляется в снижении ростовых характеристик. Существенное замедление роста может быть вызвано действием осмотического стресса на зоны деления и роста клеток кончика корня [14]. В условиях осмотического и солевого стрессов нами выявлено большое количество клеток корня со сгустившейся, «сжатой» цитоплазмой, а у менее устойчивых образцов – мертвых клеток (рис. 1). Отмечено снижение интенсивности деления клеток. Наблюдаемые цитологические реакции клеток первичных корешков на осмотический и солевой стресс были схожими.

Критическим периодом в водопотреблении у зерновых злаков является мейоз в микроспорангиях пыльника и формирование пыльцы. Поэтому наш интерес вызвала реакция на абиотические стрессы клеток генеративной сферы.

Выявлено, что высокий процент фертильности пыльцы (пыльца окрашена) сохранялся у злаков длительное время. Но при стрессах существенно изменились осмотические характеристики пыльцевых зерен (рис. 2).

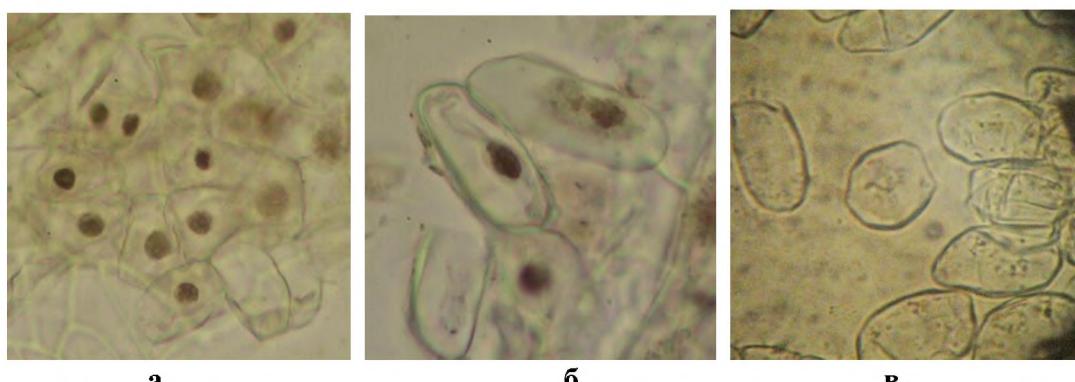


Рис. 1. Клетки корневого чехлика 7-дневных проростков ячменя:
а – контроль; б – начало процесса плазмолиза (стресс); в – мертвые клетки (стресс)
(ув. х 40)

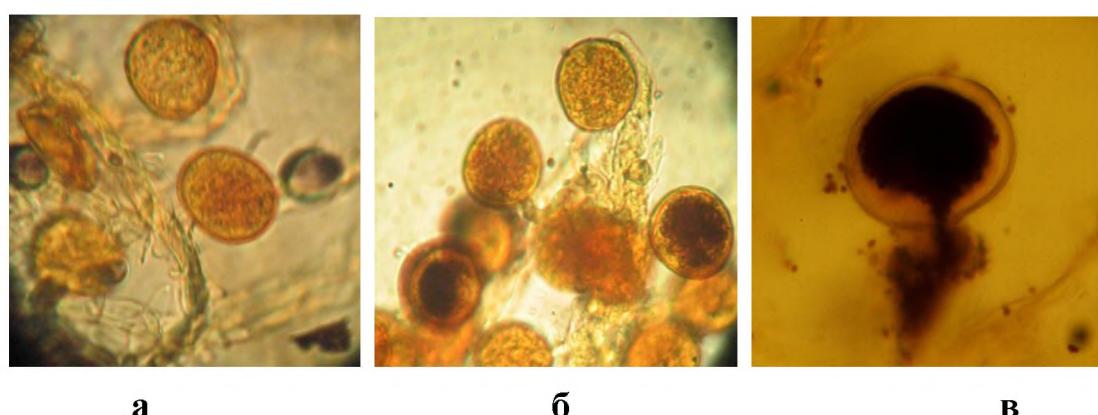


Рис. 2. Пыльцевые зерна зерновых злаков: а – рост пыльцевой трубки ячменя, контроль; б – плазмолиз в пыльцевых зернах ячменя, стресс (ув. х 10); в – лопающееся пыльцевое зерно пшеницы, стресс (ув. х 40)

В то время как в контроле пыльцевые зерна нормально прорастали на рыльцах пестика, в условиях 1,5-3 часового воздействия стресса мы наблюдали плазмолиз, выражавшийся в неравномерной окраске пыльцевых зерен и «сжатии» цитоплазмы. У менее устойчивых форм происходило лопанье пыльцевых зерен с вытеканием содержимого. При этом отмечено, что плазмолиз развивался идентичным образом у пшеницы и ячменя, но быстрее в пыльце колосьев, подвергнутых искусственной засухе нежели засолению.

Наблюдаемое в процессе исследований снижение жизнеспособности пыльцы зерновых злаков в условиях солевого и осмотического стрессов может привести к бесплодию цветков и череззернице в колосе. Мы считаем, что показатель развития процесса плазмолиза в стрессовых условиях может стать основой для цитологической характеристики и отбора соле- и засухоустойчивости зерновых злаков на уровне сформированной пыльцы. Устойчивыми или умеренно устойчивыми к засухе и засолению в наших исследованиях были формы, у которых плазмолиз пыльцевых зерен при их подсчете составил менее 50% по отношению к контролю.

В эксперименте *in vitro* рассмотрено действие осмотического и солевого стрессов на клетки каллусов пшеницы и ячменя.

Эмбриогенные каллусы, состоящие из мелких изодиаметрических клеток с плотной, богатой органеллами цитоплазмой и мелкими вакуолями, связанных в тканях с более крупными, сильно вакуолизированными клетками, формировали в контрольном варианте типичную меристематическую ткань. Действие стресса цитологически

проявлялось в том, что количество крупных вакуолизированных клеток значительно снижалось, развивался процесс плазмолиза. Наблюдалось насыщенное окрашивание клеток. Ядра сдвигались к периферии, цитоплазма сжималась, происходили дистрофические изменения клеточных структур – паранекроз. У неустойчивых форм отмечена массовая гибель клеток меристематической ткани, свидетельствующая о развитии процессов некробиоза и некроза. Соответственно сами каллусы уплотнялись, прекращалось нарастание биомассы, шли некротические преобразования, которые можно было наблюдать визуально (рис. 3).

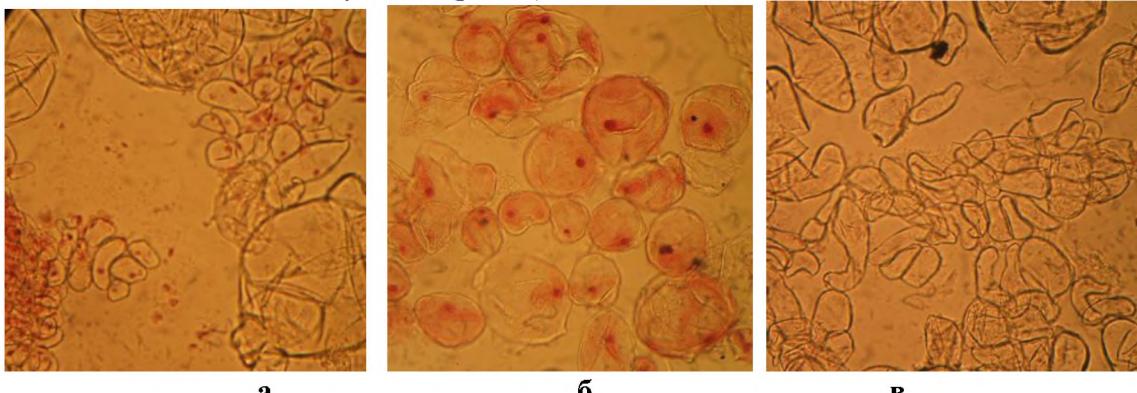


Рис. 3. Клетки меристематической ткани каллусов: а – контроль (ув. x 10); б – плазмолиз в условиях солевого стресса; в – мертвые клетки (ув x 40)

Наблюдаемые процессы реагирования на осмотический и солевой стрессы были идентичными.

Еще в 1940 г. Д.Н. Насоновым и В.Я. Александровым была сформулирована теория о неспецифической реакции клеток на повреждение, постулирующая тезис о том, что каким бы ни был повреждающий агент и на какие бы клетки он ни действовал, ответ клеток по ряду показателей будет одинаковым [6]. Результаты наших экспериментов *in vivo* и *in vitro* также показывают общность цитологических механизмов реагирования растительных клеток на действие абиотических стрессов.

Выводы

Особенностью патологических изменений в различных растительных клетках в ответ на рассмотренные абиотические стрессы является их сходство. Происходят нарушения, приводящие к ухудшению функционирования ткани и органа в целом – паранекрозу (помутнение цитоплазмы, вакуолизация, появление грубодисперсных осадков, усиление проникновения в клетку различных красителей). Если часть клеток погибла, а часть продолжает функционировать – наблюдается некробиоз, при тотальной гибели клеток – некроз. У генотипов, менее устойчивых к стрессу, эти изменения выражены сильнее.

На основании полученных результатов можно говорить о необходимости более активного использования цитологических методов в селекционном процессе для диагностики и отбора стрессоустойчивых форм важнейших сельскохозяйственных культур.

Список литературы

1. Аронет Н.И. Растительная клетка // Жизнь растений. В 6-и т. / Гл. ред. акад. А.Л. Тахтаджян. – М.: Просвещение, 1980 – Т. 1 – С. 25-48.
2. Быстров Р.А., Коваль В.С. Изменение солеустойчивости ячменя в результате выращивания гетерогаметной популяции на провокационном фоне // Генетика. – 1996. – Т. 32, № 12. – С. 1657-1660.

3. Гапоненко А.К., Маликова Н.И., Охрименко Г.Н., Созинов А.А. Получение сомаклональных линий у злаков (*Triticum aestivum* L. и *Hordeum vulgare* L.) // Докл. АН СССР. – 1985. – Т. 283. – С. 1471-1475.
4. Диагностика устойчивости растений к стрессовым воздействиям: Методическое руководство / Под ред. Удовенко Г.В. – Л.: ВИР, 1988. – 227 с.
5. Изучение засухоустойчивости мирового генофонда яровой пшеницы для селекционных целей: Методическое руководство / Составитель Кожушко Н.Н. – Л.: ВИР, 1991. – 90 с.
6. Насонов Д.Н., Александров В.Я. О причинах коллоидальных изменений протоплазмы и увеличения сродства ее к красителям под влиянием повреждающих воздействий // Арх. анат. гистол. эмбриол. – 1939. – Т. 22, № 1. – Сер. С. – С. 1-43.
7. Паушева З.П. Практикум по цитологии растений. – М.: Колос, 1992, – 267 с.
8. Практикум по анатомии растений: Учеб. пособие для вузов / Под ред. Д.А. Транковского. – 3-е изд. – М.: Высш. школа, 1979. – 224 с.
9. Сергеева Л.Е. Изучение клеточных линий табака, устойчивых к солевому и водному стрессам, и регенерантов из них: Автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.13 / Ин-т физиологии растений и генетики АН УССР. – К., 1991. – 20 с.
10. Терлецкая Н.В., Жамбакин К.Ж., Исаков А.Р. К лабораторно-практическим занятиям по изучению засухоустойчивости растений: Методические указания. – Алматы: КазГАУ, 2003. – 16 с.
11. Barlow E.W.R. Water relations of expanding leaves // Aust. J. Plant Physiol. – 1986. – V. 13. – P. 45-58.
12. Farooq S. T., Farooq E.-A. Co-existence of salt and drought tolerance in Triticeae// Hereditas. – 2001. – V. 135, N 2-3. – P. 203-210.
13. Koval V.S., Bystrov R.A. Gametophytic selection for salt tolerance in barley // J. Exp. Bot. – 1996. – V. 47. – P. 52.
14. Shimazaki Y., Ookawa T., Hirasawa T. The Root Tip and Accelerating Region Suppress Elongation of the Decelerating Region without any Effects on Cell Turgor in Primary Roots of Maize under Water Stress // Plant Physiology. – 2005. – V. 139. – P. 458-465.

РОЗРОБКА УМОВ *IN VITRO* ДЛЯ ПРОГНОЗУВАННЯ ТОЛЕРАНТНОСТІ М'ЯКОЇ ПШЕНИЦІ ДО ГРИБІВ РІЗНИХ ВІДІВ РОДУ *ALTERNARIA* NEES

Т.В. ДЕНИСКО, С.О. ІГНАТОВА, доктор біологічних наук
 Південний біотехнологічний центр в рослинництві УААН, Одеса
 О.В. БАБАЙНЦ, кандидат біологічних наук
 Селекційно-генетичний інститут – Національний центр насіннєзнавства та
 сортовивчення

Вступ

Пшениця має надзвичайно важливе продовольче значення. Безумовно, від якості насіння залежить майбутній врожай, а від якості зерна, відповідно, продукти його переробки. Позаяк нині населення планети неухильно зростає, а площі сільськогосподарських угідь скорочуються, зараженість пшениці грибними патогенами стає нагальною проблемою, яка привертає увагу вчених всього світу.

Результати 15-річних досліджень видового складу мікобіоти колосся озимої пшениці на півдні України, здійснені відділом фітопатології та ентомології (СГІ-НЦНС), показали, що видовий склад мікроміцетів, які заселяють колосся озимої пшениці, зазнає значних змін у зв'язку з кліматичними умовами, що складаються. Доведено, що за 2005-2007 рр. відбулось загальне збільшення кількості високопатогенних мікроміцетів сaproфітних видів,