

4. Божко А.М., Смирнов В.С. Относительный вес селезенки рыб как морфофизиологический индикатор. //Тезисы докладов III Зоологической конференции Белорусской ССР, Минск, 1968. – С. 102-104.

5. Пучков Н.В. Физиология рыб. – М.: Пищепромиздат, 1954. – 373 с.

6. Рыжков Л.П. Влияние условий среды на некоторые стороны обмена веществ// Тезисы совещания по экологической физиологии рыб. - Москва, 1966.

7. Куликова Е.В., Тирская Н.А. Гидрохимический режим водохранилищ Верхне-Иртышского каскада и его соответствие требованиям рыбного хозяйства в 2002-2005 гг.// Регион. Вестник Востока. - Изд. ВКГУ, 2006. - №1.

8. Шварц С.С. и др. Скорость роста и размеры мозга рыб// Зоол. журнал. - Т. 27. - Вып.6. – С. 89-102.

Ертіс бассейні су қоймаларындағы морфофизиологиялық белгілерін талдау негізінде табанның өзгеріс дәрежесіне баға беріледі. Бұқтарма су қоймаларынан таңдалған табандар жеке түр қасиеттің бейімділік шегін кеңейтетін және нысанның шаруашылық құндылығын жоғарылататын, үлкен фенотиптік әртүрлілікке ие, анағұрлым жоғары дәрежелі өзгерісті көрсететіні анықталды.

The article examines the degree of variability of bream from reservoirs of the Upper Irtysh basin on the basis of morphological features analysis. It was found that the sample of Bukhtarma reservoir bream has a higher level of variability, greater phenotypic diversity. It expands the limits of the adaptive properties of bream population and increases economic value of the object.

УДК 581.1.083: 634.1/7: 634.7

И.Ю. Ковальчук, З.Р. Мухитдинова, Т.Т. Турдиев, С.Н. Фролов

ЭКСПРЕСС МЕТОД ДИАГНОСТИКИ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ КРИОСОХРАНЁННЫХ В ЖИДКОМ АЗОТЕ ТКАНЕЙ ПЛОДОВЫХ И ЯГОДНЫХ РАСТЕНИЙ

Одним из надежных способов сохранения биоразнообразия плодовых и ягодных культур является возможность их криоконсервации в виде различных растительных объектов (почек, меристем, пыльцы) при сверхнизких температурах [1, 2]. Криоконсервация спящих, зимующих почек используется только для холодостойких древесных и кустарниковых растений умеренного климата. Эта техника применима к видам растений, жизнеспособность которых может быть восстановлена путём инициации роста почек на искусственных питательных средах или путем прививки после размораживания на подвой.

Однако процесс регенерация тканей длительный, что затрудняет диагностику при проведении исследований. Для быстрой диагностики жизнеспособности почек, криосохраненных в жидком азоте, использовано свойство определенных красителей окрашивать живые и погибшие растительные ткани в различные цвета. Целью настоящих исследований являлся подбор оптимальных красителей для экспресс диагностики жизнеспособности при криоконсервации в жидком азоте спящих, зимующих почек яблони, вишни, черешни, малины и черной смородины.

Материалы и методы исследований

Закаленные холодом ветки растений после снижения температуры окружающей среды до -10°C и ниже, обезвоживали до содержания влаги 30%, после чего проводили эксперименты и замораживание со скоростью $1^{\circ}\text{C}/\text{час}$ до -25°C , оставляли при такой температуре 24 часа

и хранили при -160°C в паровой фазе жидкого азота или в жидком азоте -196°C . Размораживание проводили при комнатной температуре. Оценку жизнеспособности проводили, исследуя продольные и гистологические срезы, окрашенные различными красителями.

Для окрашивания использовали проционовые красители: 0,1% *Reactiv blue 2* (живые клетки окрашиваются в зеленовато-голубой цвет) и *Brilliant blue R*. (в сине-голубой). Погибшие под влиянием жидкого азота ткани должны были иметь иную окраску. Такие красители относятся к группе активных красителей [3, 4], для которых характерно образование прочных ковалентных связей с веществами окрашиваемого субстрата. Они используются как гистохимические реактивы для выявления углеводов, белков, для разграничения живых и мертвых клеток [5], а также для определения живых и погибших тканей. Для исследования делали гистологические срезы толщиной 18-20 мкм с использованием микротомы с замораживающим столиком и просматривали под микроскопом

MC-300, фотографировали при помощи микроскопа DMLS с цифровой видеокамерой (Leica DS 300F).

Также для окрашивания использовали 1%-й раствор 2,3,5-Triphenyltetrazolium chloride (ТТХ) [6, 7]. Окрашивание этим красителем основано на восстановлении у живых клеток бесцветной формы ТТХ в формазон, имеющий карминно-красный цвет. Для исследования делали продольные срезы почек, которые готовили вручную и просматривали, и фотографировали под цифро-

вым стереомикроскопом "Digital Microscope" фирмы «National».

Результаты исследований и их обсуждение

Спящие почки яблони после размораживания окрашивали различными красителями. Для исследования делали продольные и гистологические срезы почек. Результаты наших исследований показали, что живые ткани почек яблони – меристема, примордиальные листья, клетки прокамбиального слоя были интенсивно окрашены красителями 0,1% *Reactiv blue* в зеленовато-голубой, *Brilliant blue R.* – в сине-голубой, а 1%

ТТХ – в карминно-красный цвета. Погибшие под влиянием жидкого азота ткани имели коричневатую-оранжевые тона. Окрашивание проционовыми красителями живых тканей не зависело от фиксации. В зафиксированных и нефиксированных почках сортов и гибридов яблони, живые ткани вегетативных и генеративных апексов меристемы и их кроющие листья одинаково окрасились вышеуказанными красителями. На рисунке 1 представлено окрашивание тканей почек яблони 0,1%-м раствором *Reactiv blue*, *Brilliant blue* и ТТХ после процесса замораживания-размораживания.

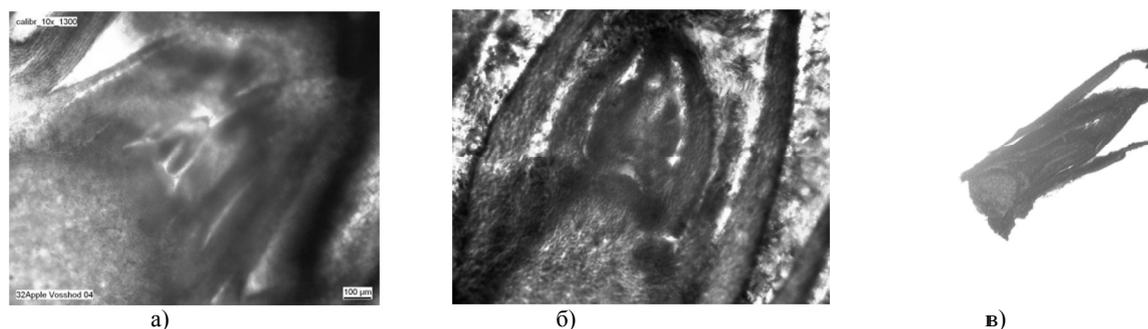


Рис. 1. Оценка жизнеспособности замороженных почек яблони в жидком азоте методом окрашивания: 0,1% *Reactiv blue* (а), *Brilliant blue R.* (б), ТТХ (в)

Спящие почки вишни и черешни после размораживания окрашивали 1%-м раствором

ТТХ. Исследовали продольные срезы почек (рис. 2).

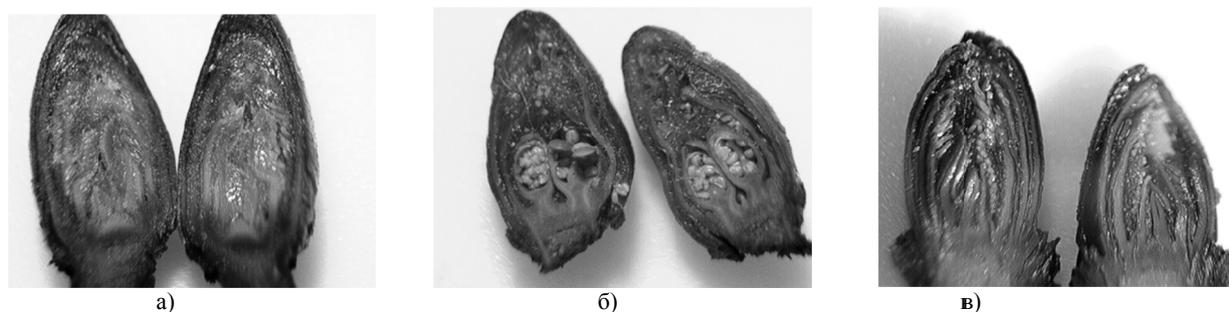


Рис. 2. Оценка жизнеспособности замороженных в жидком азоте почек вишни и черешни: живые вегетативные почки (а) и живые генеративные почки (б) окрашены ТТХ в красный цвет, погибшие – в коричневатую-желтый цвет (в)

В результате исследований было определено, что раствором ТТХ ясно и интенсивно после замораживания в жидком азоте окрашиваются живые ткани апексов (меристемы, примордиальные листья, клетки прокамбиального слоя) изучаемых нами косточковых культур. Живые клетки были окрашены в красный цвет, а погибшие – в коричневатую-желтый.

У сортов чёрной смородины живые ткани апекса: меристемная часть с двумя-тремя примордиальными листьями и клетки базальной части апекса с прокамбиальными слоями интенсивно окрасились красителем *Brilliant blue R* в

сине-голубой цвет, а красителем *Reactiv blue* в зеленовато-голубой цвет.

Исследования показали, что живые ткани апекса – меристемы, примордии листьев, клетки прокамбиального слоя изученных нами плодовых и ягодных культур были интенсивно окрашены в зависимости от красителя в сине-голубые, зеленовато-голубые и красные тона. Промёрзшие, погибшие под влиянием жидкого азота ткани были окрашены с помощью тех же красителей в коричневатую-оранжевые тона. Окраска материала не зависела от фиксации. В зафиксированных и нефиксированных почках сортов

малины, черной смородины, яблони живые вегетативные и генеративные апексы меристемы и их кроющие листья окрашены красителем Brilliant blue R в сине-голубые тона, красителем Reactiv blue в зеленовато-голубые тона.

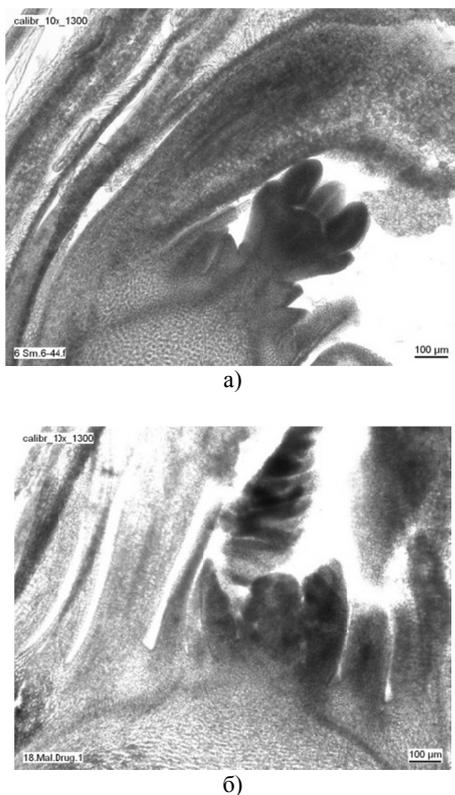


Рис. 3. Оценка жизнеспособности замороженных в жидком азоте почек чёрной смородины (а) и малины (б): окрашивание реактивом Brilliant blue R живых тканей после замораживания в жидком азоте

В результате проведенных исследований было выявлено, что окрашивание размороженных тканей может служить в качестве экспресс оценки всех проводимых экспериментов по криоконсервации почек в жидком азоте. Краси-

тели – ТТХ, Reactiv blue и Brilliant blue R. – эффективно окрашивают в различные цвета живые и погибшие ткани почек плодовых и ягодных культур, прошедших криоконсервацию в жидком азоте.

1. Грищенко В.И., Копейка Е.Ф., Петрушко М.П. Проблемы криобиологии и сохранение генетических ресурсов // Цитология. -2004.- Т. 46.- № 9.- С. 784-785.

2. Вержук В.Г., Филипенко Г.И., Тихонова Н.Г., Жестков А.С., Лупышева Ю.В. и др. Разработка методов криосохранения генетических ресурсов растений плодовых и ягодных культур // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. – Санкт-Петербург. - 2009. - Т. 106. - С. 353-357.

3. Иванов В.Б. Активные красители в биологии. - М.: Наука, 1982. – 150 с.

4. Ivanov V.B. Reactive Dyes in Biology // Soviet Sci. Rev. Supl. Ser. Physicochemical Biol. 1987. - Harvard Acad. Publ.- Vol. 7.-С.65-69.

5. Барыкина Р.П., Веселова Т.Д., Девятков А.Г. и др. Справочник по ботанической микротехнике. – М.: Изд. Моск. Университета, 2004. – 312 с.

6. Towili L.E. Mazur P. Studies on Reduction of 2,3,5-Triphenyltetrazolium Chloride as a Viability Assay for Plant Tissue Cultures // Can. J. Bot. 1975. - V. 53. - № 11. - P. 1097.

7. Verleysen H., Samyn G., Van Bockstaele E., Dehergh P. Evaluation of analytical techniques to predict viability after cryopreservation // Plant Cell Tissue and Organ Cult. [ЭИ]. – 2004. – 77. №1. – С. 11-21.

Криоконсервация лаудан кейін өсімдік ұлпаларының өміршеңдігін тез анықтау үшін әртүрлі бояулардың көмегімен гистологиялық зерттеулер жүргізілді. Сұйық азотта криосақталған жеміс-жидек өсімдіктері бүршіктерінің тірі және өлі ұлпаларын айыруға бұл әдістің мүмкін екендігі анықталды.

Held histological studies to determine the different colors for the rapid viability diagnosis after cryopreservation. Revealed fundamental possibility of applying the method to detect living and dead kidney tissues of fruit and berry crops of cryopreservation in liquid nitrogen.

УДК 575.224.2:631.52:633.111

Н.Ж. Омирбекова

ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ ХИМИЧЕСКОГО МУТАГЕНЕЗА В СЕЛЕКЦИИ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ

Селекция на скороспелость, адаптивность к местным природно-климатическим факторам, устойчивость к биотическим и абиотическим стрессам, качество продукции зерновых культур являются приоритетными направлениями исследований, которые учитывают потребности и спрос производства.

В основе селекционного улучшения той или

иной культуры лежит исходное генетическое разнообразие и методы генетической реконструкции улучшаемых полезных признаков. В условиях интенсивного ведения сельского хозяйства с широким использованием в производстве монокультуры (генетически выровненных сортов) постепенно сокращаются масштабы генетической изменчивости сортов, что влечет за собой опасение всплеск эпифитотий, снижение про-