

И. РАХИМБАЕВ, А. ИСКАКОВА, Г. БАРИ,  
А. ЖЕКСЕНБАЙ, С. МУХАМБЕТЖАНОВ, К. УТЕУЛИН

(Институт биологии и биотехнологии растений, г. Алматы)

## ИНДУКЦИЯ МОРФОГЕНЕТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ В КУЛЬТУРЕ ТКАНЕЙ КАУЧУКОНОСНОГО РАСТЕНИЯ *TARAXACUM KOK-SAGHYZ* RODIN.

### Аннотация

Целью настоящего исследования явилось изучение морфогенеза *in vitro* в культуре изолированных тканей *Taraxacum kok-saghyz* Rodin. Кок-сагыз – продуцент натурального каучука, по качеству не уступающего каучуку из гевеи. Это эндемичное растение, включенное в Красную Книгу Казахстана. При введении в культуру, приготовлении питательных сред, пассировании тканей применяли общепринятые методики по культуре тканей. В качестве эксплантов использованы сегменты листовых пластинок и отрезки черешков листьев растений, выращенных в теплице. В результате проведенных исследований установлено, что процесс геммогенеза наблюдается на безгормональной среде МС и может усиливаться при добавлении в питательную среду фитогормонов ауксиновой и цитокининовой природы. Так, добавление в среду МС БАП(3 мг/л) ведет к значительному возрастанию частоты геммогенеза. Процесс ризогенеза индуцируется под воздействием ИМК ( 2 мг/л).

Таким образом, выявлены характерные особенности морфогенетических процессов в культуре тканей каучуконосного растения *Taraxacum kok-saghyz*. Показано, что при культивировании сегментов черешков листьев на питательной среде МС может происходить прямой геммогенез без воздействия фитогормонами. Полученные данные будут использованы для разработки биотехнологического регламента клонального микроразмножения перспективных генотипов кок-сагыза с высоким содержанием каучука.

**Ключевые слова:** морфогенез, каучук, геммогенез, ризогенез, кок-сагыз.

**Кілт сөздер:** морфогенез, каучук, геммогенез, ризогенез, көк сағыз.

**Keywords:** morphogenesis, rubber, gemmogenesis, rhizogenesis, kok-sagyz.

**Введение.** Кок-сагыз (*Taraxacum kok-saghyz* Rodin.) – многолетнее травянистое растение семей-ства сложноцветных. Надземная часть растения кок-сагыза представляет розетку из 20–25 листьев, прижатых к земле. Каучук содержится в корнях *Taraxacum kok-saghyz*. Ареал естественного обитания кок-сагыза ограничен внутренними межгорными долинами восточного Тянь-Шаня (Кегенская, Сарыжазская, Текесская долины) [1].

В литературе имеются немногочисленные данные, касающиеся культивирования изолированных тканей некоторых видов рода *Taraxacum*. Так, в 1970 г. впервые была предпринята попытка культивирования эксплантов из корней *Taraxacum officinale* [2]. В дальнейшем другие авторы изучали влияние различных фитогормонов на индукцию каллусогенеза из корневых эксплантов. Частота образования каллусов была невысокой и в большинстве случаев они давали начало витрифицированным побегам [3, 4]. Эти работы показали, что экспланты корневого происхождения имеют низкую морфогенетическую потенцию. В дальнейших исследованиях, используя в качестве эксплантов сегменты листовых пластинок или отрезки побегов семянцев, удалось индуцировать морфогенетические процессы у *T. platycarpum*, *T. mongolicum*, *T. Officinale* [5-9].

Целью настоящего эксперимента явилось изучение морфогенеза *in vitro* в культуре изолированных тканей *T. kok-saghyz*.

### Материалы и методы

В качестве эксплантов использованы сегменты листовых пластинок и отрезки черешков листьев растений, выращенных в теплице. При введении в культуру, приготовлении питательных сред, пассировании тканей применяли общепринятые методики по культуре тканей [10, 11]. Для стерилизации экспланты помещали в мыльный раствор, затем тщательно промывали проточной водой и переносили в 70% раствор этилового спирта на 10 минут с последующей трехкратной промывкой дистиллированной водой. После этого экспланты переносили на 7 минут в 10% раствор детергента «Белизна», а затем промывали в пяти порциях стерильной дистиллированной воды.

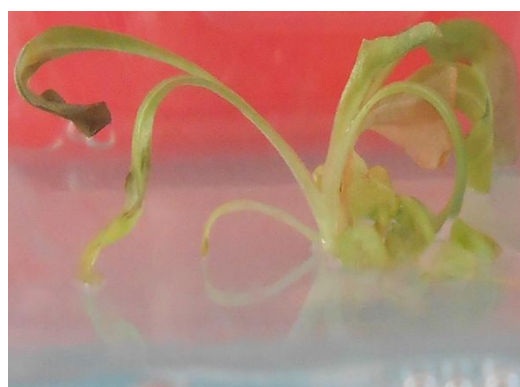
Использовали питательную среду Мурасиге и Скуга (МС), дополненную ауксинами (2,4-Д, НУК, ИУК) и цитокининами (кинетин, БАП) в различных комбинациях и концентрациях. Культивирование изолированных тканей осуществляли в световой комнате при температуре  $25\pm 1^{\circ}\text{C}$  и 16-часовом фотопериоде. Частоту морфогенеза оценивали в процентах по соотношению количества эксплантов с морфогенными структурами к общему числу культивируемых тканей.

### Результаты и их обсуждение

В ходе экспериментов установлено, что в культуре тканей кок-сагыза при создании определенных условий можно индуцировать морфогенез непосредственно из тканей экспланта, минуя процесс каллусогенеза. На рисунке 1 показана индукция прямого морфогенеза в культуре изолированных тканей кок-сагыза. Обнаруженный факт весьма важен для дальнейшей разработки технологии клонирования кок-сагыза.



А



Б

Рисунок 1 – Индукция прямого морфогенеза в культуре тканей кок-сагыза.  
А – из сегментов черешков листьев; Б – из сегментов листовых пластинок

Чаще всего адвентивное побегообразование отмечалось при использовании фрагментов черешков, у которых наблюдалось формирование от 2 до 5 побегов на один эксплант (рисунок 1А).

Индукция прямого органогенеза в значительной степени зависела от состава питательной среды. На рисунке 2 представлены данные о влиянии гормонального состава среды МС на частоту индукции морфогенеза. Как видно из приведенных данных, на средах, содержащих ауксины ИУК и 2,4-Д в комбинации с БАП, экспланты не проявили способности к новообразованиям. При культивировании черешков на испытанных вариантах сред, содержащих различные концентрации кинетина, также не было отмечено признаков морфогенеза. Положительная реакция эксплантов черешков к условиям культивирования отмечалась на вариантах питательных сред, дополненных БАП в различных концентрациях. Так, при внесении БАП в количестве 0,5–1,0 мг/л частота геммогенеза составила 30–35%. При увеличении количества БАП (с 2 мг/л до 3,0 мг/л) частота побегообразования повысилась до 40–50%. Следует отметить, что характерной особенностью морфогенеза в культуре тканей кок-сагыза является возможность индукции геммогенеза из эксплантов черешков листьев без введения в питательную среду фитогормонов. Это может быть обусловлено достаточным уровнем эндогенных гормонов в тканях самого растения.

Следует отметить, что характерной особенностью морфогенеза в культуре тканей кок-сагыза является возможность индукции геммогенеза из эксплантов черешков листьев без введения в питательную среду фитогормонов. Это может быть обусловлено достаточным уровнем эндогенных гормонов в тканях самого растения.

При культивировании сегментов листьев кок-сагыза на испытанных вариантах сред, содержащих различные количества 2,4-Д и БАП, не было отмечено признаков морфогенеза.

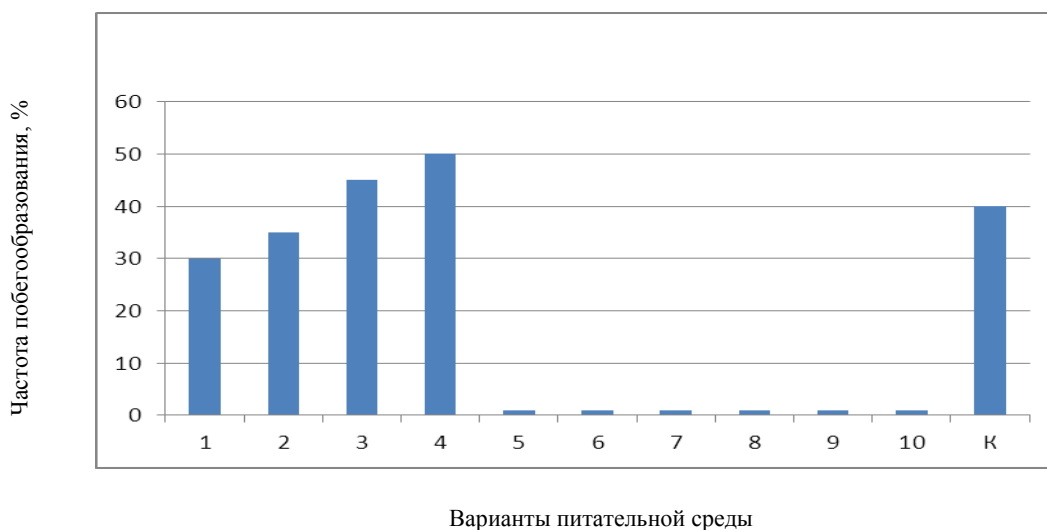


Рисунок 2 – Влияние гормонального состава питательной среды МС на частоту индукции прямого морфогенеза в культуре эксплантов черешков листьев кок-сагыза. К – контроль (без гормонов). Гормональные добавки (мг/л):

1 – БАП (0,5); 2 – БАП (1,0); 3 – БАП (2,0); 4 – БАП (3,0); 5 – кинетин (0,5); 6 – кинетин (1,0); 7 – кинетин (2,0); 8 – кинетин (3,0); 9 – БАП (2,0)+2,4-Д (2,0); 10 – БАП (2,0)+ИУК (2,0)

Для индукции процесса ризогенеза в питательную среду МС вводили различные ауксины (ИУК, НУК, ИМК). При добавлении в питательную среду ИУК (0,5-1,0 мг/л) частота ризогенеза была минимальной (9,3-21,4%). Процесс ризогенеза проходил активно под воздействием ауксинов НУК и ИМК. Увеличение содержания ИМК до 2,0 мг/л способствовало значительному повышению частоты ризогенеза 96,9% и формированию до четырех корневых зачатков.

**Выводы.** Таким образом, в результате проведенных исследований установлены характерные особенности морфогенетических процессов в культуре тканей каучуконосного растения *Taraxacum kok-saghyz*. Показано, что при культивировании сегментов черешков листьев на питательной среде МС может происходить прямой геммогенез без воздействия фитогормонами. Тем не менее, при добавлении в среду МС 3 мг/л БАП частота геммогенеза возрастает. Установлено, что процесс ризогенеза индуцируется при действии ИМК в количестве 2 мг/л.

Полученные данные будут использованы для разработки биотехнологического регламента клонального микроразмножения перспективных генотипов кок-сагыза с высоким содержанием каучука.

*Исследования проведены в рамках проекта «Разработка технологии и получение натурального каучука из отечественного продуцента Taraxacum kok-saghyz Rodin». Грант МОН РК № госрегистрации 0112РК00201.*

## ЛИТЕРАТУРА

- 1 Байтулин И.О., Кокорева И.И., Нурушева А.М., Отрадных А.М., Съедина И.Г. Морфологические особенности каучуконоса *Taraxacum kok-saghyz* Rodin в онтогенезе // Известия НАН РК. Серия биологическая и медицинская. – 2011. – № 6(288). – С. 14-19.
- 2 Bowes B.G. Preliminary observations on organogenesis in *Taraxacum officinale* tissue cultures // Protoplasma. – 1970. – Vol. 71. – P. 197-202.
- 3 Bowes B.G. The occurrence of shoot teratomata in tissue cultures of *Taraxacum officinale* // Planta. – 1971. – Vol. 100. – P. 272-276.
- 4 Booth A., Satchuthanathavale R. Regeneration in root cuttings in *Taraxacum officinale*. 2. Effects of exogenous hormones on root segments and root callus cultures // New Phytol. – 1974. – V. 73. – P. 453-460.

5 Lee M.H., Yoon E.S., Jung S.J., Bae K.H., Seo J.W., Choi Y.E. Plant regeneration and effect of auxin and cytokinin on adventitious shoot formation from seedling explant of *Taraxacum platycarpum* // *Korean J. Plant Biotech.* – 2002. – Vol. 29. – P. 111-115.

6 Tang R., Wei M.Q., Xiong Z.H. Study on the bud formation of *Taraxacum mongolicum* in tissue culture // *Journal of Qinghai University.* – 2005. – N 1. – P. 17-21.

7 Lin B., Wei X. Tissue Culture of *Taraxacum kok-saghyz* Rodin // *Tropical Agricultural Engineering.* – 2009. – N 4. – P. 1-3.

8 Князев А.В., Чемерис А.В., Вахитов В.А. Каллусообразование и морфогенез у *Taraxacum officinale* Weber в культуре *in vitro* // *Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю. А. Овчинникова.* – 2007. – Т. 3, № 3. – С. 5-9.

9 Jamshieed S., Das S., Sharma M.P., Srivastava P.S. Difference in *in vitro* response and esculin content in two populations of *Taraxacum officinale* Weber // *Physiol. Mol. Biol. Plants.* – 2010. – Vol. 16(4). – P. 353-358.

10 Рахимбаев И.Р., Валиханова Г.Ж. Биотехнология клонального размножения растений // *Вестник КазНУ. Сер. биол.* – 2002. – № 1. – С. 113-119.

11 Мухамбетжанов С.К., Валиханова Г.Ж., Ережепов А.Е. Методическое руководство к лабораторным занятиям по культуре тканей и биотехнологии растений. Алматы, КазНУ им. аль-Фараби. 2011. 108 с.

## REFERENCES

1 Bajtulin I.O., Kokoreva I.I., Nurusheva A.M., Otradnyh A.M., Sedina I.G. *Izvestija NAN RK (Serija biologicheskaja i medicinskaja).* **2011.** №6 (288). S. 14-19. (in Russ.)

2 Bowes B.G. *Protoplasma.* **1970.** Vol. 71. P. 197–202.

3 Bowes B.G. *Planta.* **1971.** Vol. 100. P. 272–276.

4 Booth A., Satchuthanathavale R. *New Phytol.* **1974.** Vol. 73. P. 453–460.

5. Lee M.H., Yoon E.S., Jung S.J., Bae K.H., Seo J.W., Choi Y.E. *Korean J. Plant Biotech.* **2002.** Vol. 29. P. 111–115.

6 Tang R., Wei M.Q., Xiong Z.H. *Journal of Qinghai University.* **2005.** №1. R. 17-21.

7 Lin B., Wei X. *Tropical Agricultural Engineering.* **2009.** № 4. P. 1-3. (in Eng.).

8 Knjazev A.V., Chemeris A.V., Vahitov V.A. *Vestnik biotehnologii i fiziko-himicheskoy biologii im. Ju.A. Ovchinnikova.* **2007.** Т. 3. № 3. S. 5-9. (in Russ).

9 Jamshieed S., Das S., Sharma M.P., Srivastava P.S. *Physiol. Mol. Biol. Plants.* **2010.** Vol. 16(4). P. 353–358.

10 Rakhimbaev I.R., Valihanova G.Zh. *Vestnik KazNU (Ser. biol.).* **2002.** №1. S. 113-119. (in Russ).

11 Muhambetzhonov S.K., Valihanova G.Zh., Erezhepov A.E. *Almaty, KazNU im. al-Farabi.* **2011.** 108 s. (in Russ).

## Резюме

*I. Рақымбаев, А. Ысқақова, Г. Бари, А. Жексенбай, С. Мұхамбетжанов, Қ. Өтеулин*

(Өсімдіктер биологиясы және биотехнологиясы институты, Алматы қ.)

### КАУЧУКТЫ *TARAXACUM KOK-SAGHYZ* RODIN. ӨСІМДІГІНІҢ ҰЛПА КУЛЬТУРЫНДАҒЫ МОРФОГЕНЕТИКАЛЫҚ ҮДЕРІСТЕРІНІҢ ИНДУКЦИЯСЫ

Осы зерттеудің негізгі мақсаты – *Taraxacum kok-saghyz* Rodin оқшауланған ұлпа дақылдарының *in vitro* жағдайындағы морфогенезін зерттеу. Көк сағыз – табиғи каучуктің продуценті және сапасы бойынша Гевея каучугынан кем емес. Бұл – Қазақстан Қызыл кітабына енген эндемикалық өсімдік. Культураны енгізу кезінде, қоректік органы дайындауда, ұлпаны қайта көшіруде жалпыға ортақ әдістемелер қолданылды. Эксплант ретінде жылыжайда өсірілген жапырақ тақтасының бөліктері және жапырақ бүршіктерінің кесінділері қолданылды. Жүргізілген зерттеулер нәтижесінде геммогенез үдерісі гормонсыз МС ортасында байқалды және табиғаты ауксин және цитокинин болып табылатын фитогормондарды қоректік ортаға қосу геммогенез үдерісін арттыратынын көрсетті. Мысалы, қоректік ортаға МС БАП (3 мг/л) қосу нәтижесі геммогенез жиілігінің айтарлықтай жоғарылауына әкелді. Ризогенез үдерісі ИМК (2 мг/л) әсерінен индукцияланды.

Қорыта айтқанда, каучукты өсімдіктің *Taraxacum kok-saghyz* ұлпа культурасындағы морфогенетикалық үдерістерінің ерекшеліктері айқындалды. МС қоректік ортасында жапырақ бүршіктерінің бөліктерін *in vitro* жағдайында фитогормондардың әсерінен тікелей геммогенез үдерісі жүретіні көрсетілді. Алынған нәтижелер құрамында каучугы жоғары көк сағыздың болашағы зор генотиптерін клондап микрокөбейтудің биотехнологиялық регламентін жасауда қолданылады.

**Кілт сөздер:** морфогенез, каучук, геммогенез, ризогенез, көк сағыз.

## Summary

*I. Rakhimbaev, A. Iskakova, G. Bari, A. Zheksenbai, S. Mukhambetzhonov, K. Uteulin*

(Institute of Plant Biology and Biotechnology, Almaty)

### INDUCTION OF MORPHOGENETIC PROCESSES

## IN TISSUE CULTURE OF RUBBER PLANT *TARAXACUM KOK-SAGHYZ* RODIN.

The purpose of this study is to evaluate *in vitro* morphogenesis in culture isolated tissues of *Taraxacum Kok-Saghyz* Rodin. *Kok-Saghyz*, a natural producer of rubber, which is on the quality level as rubber, produced from *Hevea* tree. This endemic plant is included in to the Kazakhstani Red List of Threatened Species. During the introduction of this culture, we used tissue passaging within conventional techniques for tissue culture. We used segments of leaves and pieces of plant petioles, grown in the greenhouse, as explants. The studies have shown that the gemmogenesis is observed on MS medium without phytohormones, and it may be increased by adding medium hormones of auxin and cytokinin nature to the culture. Thus, addition of BAP in to the MS medium (3 mg/l) leads to a significant increase in the frequency of gemmogenesis. Rhizogenesis process is induced by influence of IBA (2 mg/l).

Thus, we were able to identify special characteristics of morphogenetic processes in tissue culture of the natural rubber producing plant *Taraxacum Kok-Saghyz* Rodin. Our research have shown that cultured segments of petioles on MS medium can occur without direct impact of the phytohormones gemmogenesis. The obtained data will be used for the development of biotechnology regulation of clonal micropropagation of the perspective genotypes of *Taraxacum Kok-Saghyz* Rodin.

**Keywords:** morphogenesis, rubber, gemmogenesis, rhizogenesis, kok-saghyz.

*Поступила 17.01.2013г.*

