

Э. Л. МИЛЯЕВА, Т. Н. КОНСТАНТИНОВА, Т. В. БАВРИНА, Н. П. АКСЕНОВА

### СПОСОБНОСТЬ РАЗЛИЧНЫХ ТКАНЕЙ СТЕБЛЯ ТАБАКА ТРАПЕЗОНД К ОБРАЗОВАНИЮ КАЛЛУСОВ И ПОЧЕК

(Представлено академиком М. Х. Чайлазяном 8 II 1972)

При культивировании целых сегментов стебля нейтрального вида табака Трапезонд получены два типа каллусов: каллусы из сегментов основной оси соцветия взрослых цветущих растений, образующие в культуре генеративные почки, и каллусы из стеблевых сегментов молодых вегетирующих растений, формирующие только вегетативные почки. Изучалась способность отдельных тканей стебля табака Трапезонд к образованию каллусов и способность полученных каллусов к морфогенезу. Почти все работы по формированию каллусов из отдельных тканей выполнены на корнеплодах моркови (<sup>1-4</sup>) и проведены с добавлением в среду различных индукторов. В отношении стебля табака известны работы по каллусообразованию на целых сегментах и на сердцевинной паренхиме. Показано, что на среде с индукторами (<sup>5-9</sup>) и без них (<sup>10</sup>) каллусообразование начинается из камбиальной и флоэмной областей стеблевых сегментов, а почки начинают образовываться из участков каллуса, происходящих из этих же областей стебля.

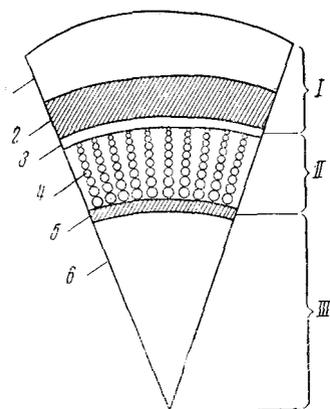


Рис. 1. Схема поперечного среза сегмента стебля табака. I — первичная кора, 2 — наружная флоэма, 3 — камбий, 4 — ксилема, 5 — внутренняя флоэма, 6 — сердцевина. Фигурными скобками показаны плоскости, по которым отделяли ткани. I — кора, II — ксилема, III — сердцевинная паренхима

Работы по образованию каллусов из отдельных изолированных тканей стебля табака, проведенные без экзогенного введения ростовых гормонов, авторам неизвестны.

Для получения каллусов, формирующих генеративные почки, использовали сегменты из центральной оси соцветия (27—30 междоузлие снизу) цветущих 4—6-месячных растений, а для получения каллусов, образующих вегетативные почки, — сегменты стебля (10—14 междоузлие снизу) более молодых вегетирующих растений. Различие в степени одревеснения стеблей определило относительность выделения отдельных тканей. В частности, из сегментов большего диаметра чисто выделить отдельные ткани было значительно легче, чем из молодых, неодревесневших. После стерилизации в 0,1% растворе сулемы стебли разрезали поперек и скальпелем или сверлом выделяли следующие ткани: кору, ксилему и сердцевинную паренхиму. На рис. 1 представлена схема выделения тканей. Целые сегменты и отдельные

ткани культивировали по методике, описанной ранее (<sup>11</sup>). Для изучения чистоты выделения тканей изготовляли временные препараты, а для цитологического исследования постоянные препараты. Временные препараты окрашивали хлорцинкиндом, иодом в иодистом калии и флороглюци-

ном с соляной кислотой по общепринятым методикам. Для получения постоянных препаратов кусочки тканей стебля и каллусы фиксировали по Карнуа и по Навашину, заключали в парафин, микротомные срезы толщиной в 15  $\mu$  окрашивали гематоксилином Эрлиха или Деляфильда.\*

Образование каллуса начинается из камбиальной зоны, он представлен тяжами относительно мелких, расположенных правильными рядами клеток с крупными ядрами и плотной цитоплазмой, которые анатомически сходны с клетками камбия. Через 5—6 дней с момента посадки сегмента начинается формирование каллуса и из остальных тканей, так что к 8—10 дню каллус покрывает всю поверхность среза сегмента. Таким образом, с самого начала своего формирования каллус из целого стеблевого сегмента оказывается довольно гетерогенным (рис. 2а). Эта гетерогенность еще более возрастает к 11—15 дню культивирования, когда дифференцируются проводящие элементы и образуются меристематические очаги будущих почек (рис. 2б). В первые 8—10 дней культивирования, т. е. до начала образования меристематических очагов, каллусы из изолированных тканей менее гетерогенны, чем полученные из целого сегмента, и по клеточному составу сходны с теми тканями, из которых они образуются. Особенно большой однородностью отличается каллус из сердцевинной паренхимы (рис. 2в). Клетки каллуса из сердцевинной паренхимы относительно крупные, часто сильно вакуолизированные, с большими ядрами и толстой оболочкой. Иногда из сердцевинной паренхимы образуется мелко-клеточный, но также довольно однородный каллус. Каллус ксилемного происхождения возникает в виде отдельных островков из клеток ксилемной паренхимы и представляет собой в первые дни образования тяжи однородных клеток (рис. 2г). Кора, включающая флоэму, коровую паренхиму и другие ткани, дает гетерогенный каллус, цитологически сходный с каллусом из целого сегмента. Если в период каллусообразования каллусы из различных тканей цитологически различаются, то в дальнейшем ко времени заложения в них почек различия в значительной степени сглаживаются. В период формирования меристематических очагов все каллусы, полученные как из целого стеблевого сегмента, так и из различных тканей, состоят в основном из двух типов клеток: из более крупных клеток и из большого количества мелких клеток меристематических очагов (рис. 2б). Кроме того, во внутренних частях каллуса формируются проводящие элементы (рис. 2 см. вклейку к стр. 209).

Цитологические исследования показали, что все использованные в опыте ткани — кора, сердцевинная паренхима и ксилема — могут образовать каллусы на среде без гормональных индукторов. Вместе с тем оказалось, что способность к каллусообразованию, а также к морфогенезу стеблевых почек проявляется у разных тканей в различной степени.

Из табл. 1 видно, что наибольшей каллусообразующей способностью обладают целые сегменты. Каллусы целых сегментов характеризуются также высокой способностью к образованию почек. При этом каллусы на сегментах вегетативных растений образуют только вегетативные почки, а каллусы сегментов центральной оси соцветия — преимущественно бутоны. Следовательно, каллусы, полученные из целых стеблевых сегментов, сохраняют тот тип морфогенеза стеблевых почек, который наблюдался у исходного растения.

У всех изолированных тканей способность к образованию как каллуса, так и почек гораздо ниже, чем у целых стеблевых сегментов. Кора по способности к каллусообразованию и морфогенезу почек отличается у вегетативных и у цветущих растений. Кора вегетирующих растений образует каллус у 66% эксплантатов, из них у 37% каллусов формируются почки. На коре из оси соцветия каллусы образуются лишь в 13% случаев, причем почки появляются лишь в единичных случаях. Низкая каллусообразующая и морфогенетическая активность коры соцветия наблюдается не-

\* Авторы благодарят Р. Г. Бутенко за советы при проведении этого исследования.

Таблица 1

Способность целых сегментов и отдельных тканей стебля к образованию каллусов вегетативных и генеративных почек на среде без индукторов и с индукторами (через 2 мес. после посадки)

Ткань	Вегетирующее растение				Цветущее растение			
	всего кусочков ткани (100%)	с каллусами	с почками	с бутонами	всего кусочков ткани (100%)	с каллусами	с почками	с бутонами
Целые сегменты	64	64 (100) *	50 (75)	0	68	68 (100)	58 (85)	49 (72)
	29	29 (100)	14 (48)	0	44	44 (100)	30 (68)	9 (21)
Кора	119	78 (66)	68 (57)	0	94	13 (13)	4 (4)	1 (1)
	50	50 (100)	25 (50)	0	63	63 (100)	63 (100)	21 (33)
Ксилема	62	15 (24)	4 (7)	0	43	16 (37)	10 (23)	2 (5)
	—	—	—	—	—	—	—	—
Паренхима	83	16 (19)	6 (7)	0	83	20 (24)	14 (17)	2 (2)
	39	39 (100)	10 (26)	0	48	48 (100)	10 (21)	1 (2)

Примечание. Числа над чертой — данные для среды без индукторов, под чертой — с индукторами.

\* В скобках — процент от общего числа посаженных кусочков тканей.

смотря на присутствие в ней камбия и внешней флоэмы — тканей, имеющих, по литературным данным (<sup>8</sup>, <sup>12</sup>), решающее значение для образования каллусов на целых стеблевых сегментах. Возможно, что различия в способности к каллусообразованию и образованию почек у коры вегетативного стебля и соцветия связаны с различием анатомического строения этих стеблей: у вегетативного стебля — это вторичная кора, а у соцветия — первичная. Ксилема и сердцевинная паренхима обнаруживают низкую способность и к образованию каллусов, и к образованию почек. Это особенно ярко проявляется у тканей стебля вегетирующих растений. Следует особо отметить малое число бутонов на каллусах у всех изолированных тканей цветущих растений. Следовательно, на среде без гормональных индукторов каллусы, сформированные отдельными тканями стебля цветущих растений, обладают значительно более низкой способностью сохранять генеративный тип морфогенеза, чем целые сегменты.

В связи с тем, что способность отдельных тканей к формированию каллуса и морфогенезу почек оказалась различной, большое значение в этих процессах имеет степень очистки отдельных тканей. На коре и ксилеме, в особенности выделенных из оси соцветия, почти всегда наблюдаются небольшие островки камбия, которые трудно отделить от соседних тканей. Сердцевинная паренхима часто содержит обрывки внутренней флоэмы. Выяснилось, что чем больше островков камбия или флоэмы остается на выделенной ткани, тем лучше эта ткань образует каллус и почки. Это, возможно, связано с тем, что именно в камбии и флоэме, по данным Скуга и Миллера (<sup>12</sup>), а также Нидергена-Камьена и Скуга (<sup>13</sup>), содержатся гормоны, являющиеся индукторами каллусообразования и морфогенеза.

Для того чтобы усилить способность отдельных тканей к каллусообразованию и морфогенезу, были проведены опыты, в которых к обычной среде культивирования были добавлены кинетин (1 мг/л) и  $\alpha$ -нафтилуксусная кислота (0,3 мг/л). Внесение в среду индукторов резко усилило каллусообразование у изолированных тканей, приводя к 100-процентному образованию каллусов на коре и паренхиме (табл. 1). Индукторы усилили также и образование почек на коре оси соцветия (рис. 3). Однако у паренхимы морфогенез почек остался практически таким же низким, как и на среде без индукторов. Добавление индукторов в указанных соотноше-

ниях вызвало заметное уменьшение образования бутонов и резкое возрастание числа вегетативных почек у каллусов на целых сегментах цветущих растений и, вместе с тем, стимулировало формирование бутонов у каллусов, образованных корой соцветия (рис. 3). У каллусов из паренхимы оси соцветия способность к морфогенезу генеративных почек осталась такой же низкой, как и на среде без индукторов (рис. 3 см. вкл. к стр. 209).

В целом проведенная работа показывает, что одним из факторов, влияющих на способность каллусов из различных тканей к образованию почек, вероятно, является конкретное соотношение суммы эндогенных гормонов и экзогенных индукторов. На важную роль концентрации и соотношения гормонов в процессе каллусообразования и морфогенеза каллусов указывают в своих работах многие исследователи (<sup>6, 11-16</sup>).

Институт физиологии растений  
им. К. А. Тимирязева  
Академии наук СССР  
Москва

Поступило  
3 II 1972

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> S. Caplin, F. Steward. *Ann. Bot.*, 16, 369 (1952).    <sup>2</sup> S. Wiggans, *Am. J. Bot.*, 41, 321 (1954).    <sup>3</sup> R. Gautheret. *J. Nat. Cancer Inst.*, 19, 555 (1957).    <sup>4</sup> А. Н. Данилина, Е. В. Лусс, Р. Г. Бутенко. *Физиол. раст.*, 12, в. 3, 469 (1965).  
<sup>5</sup> F. Skoog, *Am. J. Bot.*, 1, 19 (1944).    <sup>6</sup> F. Skoog, C. Tsui, In: *Plant Growth Substances*, 1951, p. 262.    <sup>7</sup> J. Jablonsky, F. Skoog, *Physiol. Plant.*, 16 (1954).  
<sup>8</sup> C. Miller, F. Skoog, *Am. J. Bot.*, 40, 768 (1953).    <sup>9</sup> C. Sterling, *Am. J. Bot.*, 38, 761 (1951).    <sup>10</sup> D. Aghion-Prat, *Physiol. Veg.*, 3, 229 (1965).    <sup>11</sup> Т. Н. Константинова, Н. П. Аксенова и др., *ДАН*, 187, № 2, 466 (1969).    <sup>12</sup> F. Skoog, C. Miller, In: *Chemical Regulation of Growth and Organ Formation in Plant Tissue Cultured in Vitro*, *Symp. Soc. Exp. Biol.*, 11, 118 (1957).    <sup>13</sup> E. Niedergang-Kamien, F. Skoog, *Physiol. plant.*, 9, 60 (1956).    <sup>14</sup> R. Gautheret, *La culture des tissue vegetaux*, 1959.    <sup>15</sup> Р. Г. Бутенко, *Культура изолированных тканей и физиология морфогенеза растений*, «Наука», 1964.    <sup>16</sup> C. Nitsch, J. Nitsch, *Planta*, 72, 355, 371 (1967).