

Т. Н. КОНСТАНТИНОВА, Л. В. ГОФШТЕЙН, О. И. МОЛОДЮК,  
Т. В. БАВРИНА, Н. П. АКСЕНОВА

## ИЗУЧЕНИЕ ГИСТОНОВ КАЛЛУСОВ С ВЕГЕТАТИВНЫМ И ГЕНЕРАТИВНЫМ МОРФОГЕНЕЗОМ У ТАБАКА ТРАПЕЗОНД

(Представлено академиком М. Х. Чайлахяном 11 I 1974)

Каллусы с вегетативным и генеративным морфогенезом представляют собой весьма интересный объект исследования с точки зрения как проблемы дифференциации в целом, так и для изучения ряда вопросов регуляции перехода растений от вегетативного состояния к генеративному.

В настоящей работе проводили сравнение гистонов на модельной системе, которая в культуре *in vitro* является в значительной мере аналогией вегетативного и генеративного состояния растений *in vivo* (1). Эта модель получена на стеблевых каллусах фотопериодически нейтрального табака Трапезонд. При культивировании сегментов соцветия взрослых цветущих растений образуются каллусы, в которых в дальнейшем идет дифференцировка бутонов. Этот тип каллусов назван «генеративным». Второй тип каллусов — «вегетативный» — получен при культивировании в тех же самых условиях сегментов стебля молодых вегетирующих растений табака. У «вегетативных» каллусов прочно детерминирован вегетативный тип морфогенеза и изменениями условий культивирования не удается вызвать дифференциацию бутонов. На рис. 1 представлены каллусы с разным типом морфогенеза. Представляло интерес выяснить, есть ли различия в качественном составе гистонов у каллусов с разным типом дифференцировки.

Были исследованы гистоны двух типов каллусов с вегетативным и генеративным морфогенезом и проведено сравнение их с гистонами изолированных зародышей пшеницы. Каллусы культивировали на среде, содержащей 0,8% агары, 4,5% глюкозы, макро- и микроэлементы по Мурасиге и Скугу (2), мезоинозит и тиамин. Выращивание проводили в факторостатных камерах при освещении люминесцентными лампами (ЛБ-80) интенсивностью 4000 лк, продолжительности фотопериода 18–24 час., температуре 26° и влажности 80%. Изолированные зародыши получали по ранее описанному методу (3). Для выделения гистонов из каллусных тканей предварительно изолировали ядра. Ядра выделяли из 3–4-недельных каллусов по методу Кюля (4) с некоторыми модификациями. Отношение РНК/ДНК в ядерной фракции равнялось 0,5–0,8, в исходном гомогенате 4–5. Ядра промывали 4 раза 0,15 M NaCl pH 3,55 в присутствии 0,005 M бисульфита Na (5). Гистон экстрагировали из осадка ядер 0,2 N HCl при растирании в стеклянном гомогенизаторе в течение 1 час. 15 мин. Суспензию осветляли центрифугированием. Осветленный экстракт сгущали в 5–10 раз при погружении диализного мешочка в сефадекс. Раствор белка сразу же использовали для анализа.

Гистоны зародышей пшеницы выделяли из ДНП предварительно изолированных ядер (6). Экстракцию гистонов проводили 0,2 N HCl в течение 1 час. 15 мин. в стеклянном гомогенизаторе при периодическом растирании. Анализ препаратов гистонов из каллусных тканей и из зародышей пшеницы проводили методом дискового электрофореза в полиакриламидном геле (ПАГ) по ранее описанному методу (7), но без применения

крупнопористого геля. Для электрофореза использовали прибор, подобный описанному Дэвисом (7), с заменой угольных электродов платиновыми.

Электрофорез проводили в 15% по акриламиду геле при силе тока 5 ма на колонку в течение 135 мин. при температуре 8°. Раствор белка наносили на колонки в смеси с линейным полимером, который использовали в качестве антиконвекционной среды. В линейный полимер добавляли метиленовую синь, которая служила метчиком. Окраску электрофореграмм проводили в 0,5% растворе амидного черного («Serva»), приготовленном на 7% уксусной кислоте в течение 20 мин. Избыток краски удаляли при промывании колонок в 7% уксусной кислоте.

На рис. 2а, б, г представлены электрофореграммы гистонов вегетативных и генеративных каллусов и на рис. 2в — гистона из зародышей пшеницы. Как видно из рисунка, картина распределения отдельных фракций гистонов не является специфической для гистонов, выделенных из каллусной ткани, культиви-

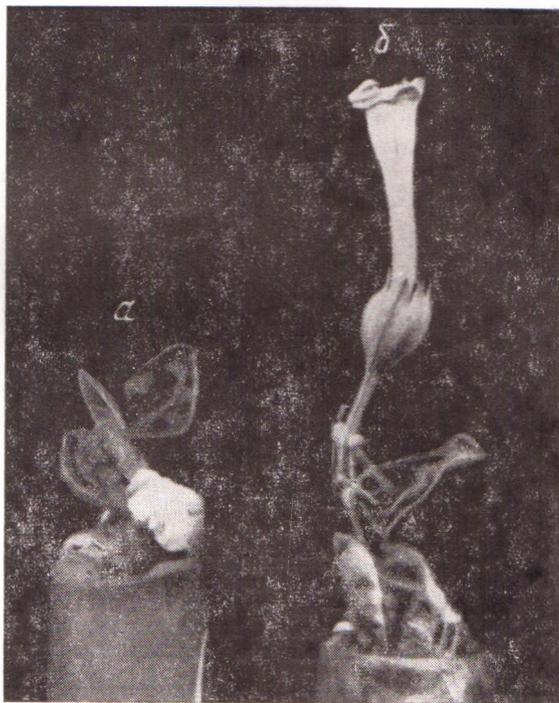


Рис. 1. Каллусы с вегетативным (а) и генеративным (б) типом морфогенеза

рованной в условиях стерильной культуры и отличающейся рядом физиолого-биохимических особенностей от тканей интактных растений и сходна с общей картиной распределения гистонов зародышей пшеницы. При сравнении гистонов вегетативных и генеративных каллусов видно, что гистоны обоих типов тканей весьма сходны по фракционному составу (рис. 2а, б). В обоих случаях на электрофореграммах проявляются пять преобладающих в количественном отношении фракций, взаиморасположение которых на электрофореграммах практически одинаково. И в том, и в другом препарате обнаруживаются также компоненты, электрофоретическая подвижность которых больше, чем у основных по количеству фракций гистонов. При этом распределение их при электрофорезе в обоих случаях одинаково.

Наряду с безусловным сходством общей картины электрофореза гистонов вегетативных и генеративных каллусов можно отметить, что наблюдаются отличия, которые касаются количественного соотношения двух наименее подвижных фракций (по аналогии с гистонами зубной железы теленка и зародышей пшеницы их можно отнести к богатой лизинной фракции). Если в гистоне из генеративного каллуса явно преобладает один компонент из двух, то в гистоне из вегетативного каллуса оба компонента имеются в одинаковом количестве. Сравнение суммарного состава основных ядерных белков, выделенных из тех же каллусов с вегетативным и генеративным морфогенезом, с помощью иммунодиффузионного метода (8), также показало отсутствие специфических отличий в антигенном спектре этих белков.

Полученные в работе результаты хорошо согласуются с литературными данными по сравнению суммарного гистона у вегетативных и индуцированных к цветению растений пшеницы (9) и смолевки (10). В этих работах с помощью того же метода диск-электрофореза обнаружено сходство фракционного состава гистонов у вегетирующих и перешедших к бутонизации растений. Вместе с тем при анализе фракционного состава

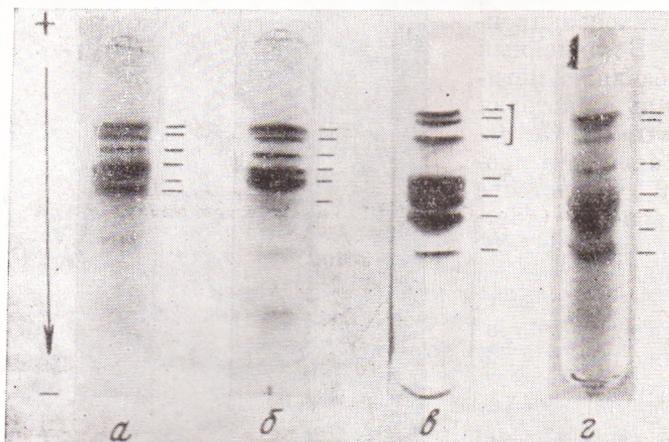


Рис. 2. Электрофореграммы гистонов. а — из каллусов с вегетативным морфогенезом, б — с генеративным морфогенезом, в — из зародышей пшеницы, г — из смеси каллусов с генеративным и вегетативным морфогенезом. Скобкой обозначена область распространения лизин-богатой фракции

гистонов у смолевки (10) обнаружены незначительные различия в количественном соотношении минорных компонентов лизин-богатой фракции между цветущими и вегетирующими растениями. Выявленные в настоящей работе различия между каллусами с разным типом морфогенеза касаются также количественных соотношений двух компонентов наименее подвижной фракции гистонов.

Таким образом, фракционный анализ гистонов каллусов с вегетативным и генеративным морфогенезом, проведенный с помощью диск-электрофореза в ПАГ, указывает на отсутствие специфических отличий в распределении фракций гистонов у этих каллусов, моделирующих в стерильной культуре вегетативное и генеративное состояние растений. Это совпадает с подобным же явлением, которое наблюдалось в опытах с интактными растениями. Все это говорит о том, что при переходе к цветению не происходит существенных изменений в качественном составе гистонов. Кроме того, полученные результаты свидетельствуют и об отсутствии специфических различий в составе гистонов разных видов растений, а именно гистонов зародышей пшеницы и табака Трапезонд.

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

Поступило  
17 XII 1973

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> Н. П. Аксенова, Т. В. Баерина и др., Журн. общ. биол., т. 33, 523 (1972). <sup>2</sup> Т. Murashige, F. Sjoog, *Physiol. Plant*, v. 15, 437 (1962). <sup>3</sup> Л. В. Гофштейн, В. И. Сафонов, Н. М. Сисакян, ДАН, т. 165, 1168 (1966). <sup>4</sup> Le Roy Kuehl, *Zs. Naturforsch.*, B. 196, 525 (1964). <sup>5</sup> E. W. Johns, J. A. V. Butler, *Biochem. J.*, v. 84, 436 (1962). <sup>6</sup> Л. В. Гофштейн, Биохимия, т. 32, 959 (1967). <sup>7</sup> J. Davis, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, v. 121, 404 (1964). <sup>8</sup> О. И. Молодьюк, Т. Н. Константинова и др., Физиология растений, 6 (1974). <sup>9</sup> S. Spiker, L. Krishnaswamy, *Planta*, v. 110, 71 (1973). <sup>10</sup> A. F. Graes, H. J. M. Claesson, S. J. Wellensiek, *Zs. Pflanzenphysiologie*, B. 68, 391 (1973).