

Л. А. АРАРАТЯН

ЦИТОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ ПРИ ОБРАЗОВАНИИ
ДЕТОК У *BRYOPHYLLUM*

Зарождение новых растительных организмов и новых органов при вегетативном размножении растений неоднократно являлось объектом исследования, и если в XIX и начале XX в. выводы делались на основании морфолого-анатомических и физиологических данных, то в последние десятилетия ударение ставится на цитологических и цитофизиологических исследованиях. Однако во все времена исследователей интересовал процесс заложения нового организма или органа в тканях материнского растения. Несмотря на наличие ряда весьма значительных работ по этому вопросу, до настоящего времени мнения по основным положениям разделяются. Это указывает на то, что явление новообразования исследовано весьма недостаточно, почему и имеющиеся по этому вопросу взаимоисключающие мнения не обоснованы объективными данными и в некоторой степени являются предположениями.

Нам думается, что накопление новых фактов, повторение и детальный разбор ранее полученных данных отчасти могут пролить свет на эти вопросы. С этой целью мы в качестве тест-объекта взяли виды бриофиллума *Bryophyllum*. Эти тропические растения у себя на родине являются злостными сорняками. Они у нас с легкостью разводятся в комнатных условиях и во всякое время года (разумеется, при благоприятной температуре) дают обильный материал, образуя в выемках по краю листьев новые растеньица-детки.

Исследователи не прошли мимо этого своеобразного рода. Изучались механизм его размножения отделенными от растения листьями или различными частями листьев [12, 13, 17], влияние на процесс «деторождения» различных физических и химических агентов [14, 16, 17], вопросы полярности [13], анатомическое строение [9, 11, 15] и т. д. Меньше всего внимания уделено цитологической и цитофизиологической стороне происхождения деток. В отмеченных работах изучались виды *B. calycinum* Salisb., *A. crenatum* Baker, *B. proliferum* Bowie.

В нашем распоряжении имелись следующие виды бриофиллума—*B. calycinum* Salisb., *B. crenatum* Baker, *B. daigremontianum* Bgr., *B. hybridum*, *B. verticillatum* A. Berg. Первый вид—*B. calycinum* отличается от остальных тем, что на неотделенных листьях деток не образует, за исключением тех случаев, когда нижние листья касаются влажной почвы или находятся во влажной среде. У этого вида детки, как правило, образуются на отделенных от растения листьях. У *B. verticillatum*, наоборот, детки образуются лишь на неотделенных листьях, а отделенные

листья таковых не дают и очень быстро погибают. У остальных трех видов детки могут образоваться как на неотделенных, так и на отделенных от материнского растения листьях.

Отделенные листья помещались во влажную камеру, в качестве которой использовались эксикаторы с влажным песком, а для некоторых целей брались чашки Петри с влажной фильтровальной бумагой.

Материал для цитологического исследования брался как с материнских растений, так и с отделенных листьев. Вырезались участки листьев с выемкой. Очень молодые листья без оформившихся выемок преимущественно фиксировались целиком. Фиксация производилась 96° спиртом, а также смесью Навашина. Срезы приготавливались толщиной в 14—18 микрон. Материал окрашивался железным гематоксилином по Гейденгайну, метил-виолетом, карболовым фуксином по Цилю, а также метиленовой синей и кислым фуксином в буферных растворах Мак-Ильвейна. В качестве прижизненного красителя использовался нейтральный красный.

Бриофиллум принадлежит к той категории растений со способностью к вегетативному размножению, у которых новые растеньица возникают в определенных пунктах тела без видимого внешнего воздействия. Эти пункты эволюционно закреплены. У другой категории растений новые растеньица могут возникнуть в различных, заранее не определенных частях, притом не без внешнего воздействия, например, стимулированием путем пореза (у некоторых видов *Begonia*, *Achimenes* и др.). То обстоятельство, что у *B. calycinum* детки, как правило, появляются после отделения листа от материнского растения, не служит основанием причислить этот вид ко второй категории: ведь и в данном случае детки образуются не в любом месте, а опять таки только в выемках по краю листа.

Специальные опыты, поставленные на листьях *B. calycinum*, показали, что при культивировании во влажной камере кусочков листьев с вырезанными выемками или целых листьев с удаленными шириной 1½—2 мм краями, новообразований на них не получилось, и детки появились лишь в выемках удаленной полосы края, конечно, с большим опозданием. В единичных случаях на том или другом отрезке без выемки появлялся наплыв диаметром в 1 мм, который даже за срок больше года дальше не рос и никаких новообразований не давал.

Особым является случай, когда детка появилась в основании черешка листа *B. hybridum*, на котором мы не будем останавливаться.

В листе бриофиллума имеются особые группы небольших клеток, находящиеся в лопастях, ближе к верхней поверхности у *B. calycinum* и к краю у *B. hybridum*. Эти группы клеток описаны Ярбрухом [11] и названы им верхушечными пятнами—«*apex path*». Они не связаны с появлением меристематических участков в выемках листа. Клетки эти по форме ближе к округлым, их ядра крупны, хорошо прокрашиваются гематоксилином, лежат как бы в одном направлении по отношению к срезу. К группам подходят многочисленные сосуды. По нашим наблюдениям сосуды

тесно вплетаются в группы клеток, иногда же их обволакивают и проходят дальше. При окрашивании метиленовсй синей и кислым фуксином в буферах от $pH=2,6$ до $pH=5,6$ их клетки окрашиваются в синий цвет и в этом отношении не отличаются от обычных паренхиматических клеток материнского листа.

На препарате, где зафиксирована детка *B. daigremontianum* величиной в 2,5 мм, представляющая собой побег с двумя листочками, такая группа явно выделяется. По-видимому, она оформляется сразу же по дифференциации меристематических клеток листа. Роль этих групп не выяснена, но вероятно она связана с водоснабжением листа.

На наш взгляд самым интересным и спорным является вопрос о способе возникновения эмбрионального зачатка листовых ростков и о характере начальных фаз его развития. С целью проследить последовательные изменения названных зачатков нами были зафиксированы листочки деток разной величины трех видов—*B. calycinum*, *B. hybridum*, *B. daigremontianum*. У всех трех видов первая пара листочков имеет гладкие, неизрезанные края. У *B. calycinum* вторая пара имеет по два-три зубчика, редко и первая пара имеет по одному зубчику на каждом листочке. У двух других видов и вторая пара листочков в большинстве случаев с гладкими краями. Препараты с этих первых листочков, зафиксированных до образования выемок, показали, что все такие листочки дифференцированы на ткани, свойственные взрослым листьям. Даже первая пара листочков только что появившейся детки *B. daigremontianum* не более 2,5 мм величиной по своему анатомическому строению напоминает взрослые листья в миниатюре.

У таких листочков ни по краю, ни в начинающихся оформляться выемках меристематических клеток не было обнаружено. Отделенные от материнского растения и помещенные во влажную камеру такие листочки не проявляли способности образовывать детки. Группы меристематических клеток, а равно и способность к «деторождению» появляется у листьев, имеющих величину в 2,7—3 см и более и изрезанных по краю.

Эти наблюдения показывают, что у представителей рода бриофиллум, как и у всех покрытосеменных растений, как правило, эмбриональная меристема примордиев полностью расходуется и перестает существовать в листьях. В дальнейшем, по мере роста и оформления листьев в их выемках появляются новые очаги меристемы. Следовательно, у бриофиллума каждое вегетативное поколение зарождается из так называемой постоянной ткани листа путем образования из нее вторичной меристемы. Поэтому детки у бриофиллума в некотором смысле не являются продолжением материнского растения, а—новым организмом, зародившимся в его недрах. Детка—это новое, омолодившееся поколение.

Уже через два-три дня после помещения листьев во влажную камеру у всех трех видов простым глазом можно заметить набухание в их выемках. Микроскопическое исследование срезов этих участков показывает, что эти набухшие участки состоят из меристематических клеток. Послед-

ние по сравнению с клетками паренхимы очень малы, с небольшими вакуолями, темноокрашивающейся цитоплазмой, крупными ядрами.

Применяя окраску метиленовой синей и кислым фуксином в буфере $pH=3$, нам удалось наблюдать картину новообразования у *V. calycinum*. Объект представляет собой первый лист детки с изрезанными краями. На рисунке (табл. I, рис. 1) видны начальные стадии образования меристематической группы. На срезе выделяются два бугорка, состоящие из крупных клеток неопределенной формы. Клетки верхушек бугорков окрасились метиленовой синей в разные оттенки синего цвета (табл. I, рис. 2). В этих клетках ядер не обнаруживается, и они не похожи ни на клетки мезофилла, ни на клетки эпидермиса. Базальные клетки бугорка представляют собой интересный феномен. Они крупнее верхушечных клеток и также не имеют ядер. Протопласт, прокрасившийся кислым фуксином в малиново-красный цвет, раздроблен на многоугольные участки, и каждый из них явно отделен от других «коридорами» и имеет сетчатую поверхность. Местами эти участки имеют более темный оттенок.

Элленгорн Я. Е. и Рябинина М. И. [8], описывая подобную картину у представителя рода *Vryophyllum* (вид авторами не указан), находят, что здесь имеется новообразование и что из подтекающего по межклетникам неклеточного вещества в выемке листа образуются сосочки, прокрашивающиеся в буфере $pH=3$ в синий цвет. Но сосочек, выдающийся в выемке листа и, по авторам, ясно видимый простым глазом, по нашим наблюдениям уже довольно поздняя стадия и состоит из типичных меристематических клеток. В описываемом нами состоянии вряд ли имеющиеся бугорки выделяются в виде сосочков. В синеокрашенных омоложенных клетках бугорка ядра растворились, а вещество, подтекающее к ним, также окрашено в синий цвет. Оно заполняет межклетники, а также пространства между раздробленными частями протопласта (см. среднюю клетку, окрашенную в красно-синий). Базальные раздробившиеся клетки бугорка снизу как бы изолированы и ИЭТ вещества в их межклетниках составляет $pH=3$. Здесь нет никакой связи с сосудистой системой, но нижележащие клетки морфологически не похожи на ткани листа и имеют вид колонок, что указывает на интенсивное немитотическое деление (по-видимому, рубцевание).

Полученные нами данные, однако, не дают возможности выявить пути дальнейшего преобразования описанной картины в меристематическую группу. Между этими двумя этапами остается разрыв, который может заполнить лишь детальное исследование.

В литературе приводятся факты относительно того, что в очагах новообразования наряду с немитотическими способами размножения клеток наблюдается также митоз [1, 3, 6, 7 и др.]. Наш объект дает возможность подтвердить эти наблюдения. Правда, при изучении первых стадий образования деток ни в одном случае у нас не обнаружилось что-либо похожее на типичный митоз, но при росте и размножении уже оформившихся меристематических клеток в конусе роста мы наблюдали все фазы митотического деления. Это особенно ясно видно на срезах

взрослого листа *B. hybridum*, зафиксированного в стадии видимого простым глазом выступа в выемке. Выступ—это одиночный конус роста. Здесь явно видно несколько клеток в разных фазах митоза, видны фигуры с прекрасно различимыми ахроматиновыми нитями веретена. Тут же, на том же срезе видны двуядерные клетки, а также ядра, имеющие два или три ядрышка, что не свойственно вообще взрослым клеткам изучаемых видов (табл. 2, рис. 1). По мнению некоторых авторов, такие клетки не способны к митотическому делению [2, 4].

Интересную картину с точки зрения немитотических способов деления представляет собой рубцевание клеток в разрезанной части края листа *B. daigremontianum* (табл. II, рис. 2). В верхнем слое клеток образовались параллельные к поверхности среза перегородки. Здесь почти нет ядер, лишь в некоторых клетках имеются темноокрашенные сгустки. Во многих клетках нижних слоев имеются ядра и некоторые из них переливаются в виде капелек из одной клетки в другую. Подобная картина замечена и на других препаратах.

На рис. 3 (табл. I) представлены вершущечные клетки конуса роста детки *B. daigremontianum*, которая зафиксирована в прикрепленном в выемке материнского листа состоянии, где ядра содержат по два ядрышка. Окраска метиленовой синей и кислым фуксином в буфере $\text{pH}=3,6$.

На другом рисунке (табл. I, рис. 4) приведены клетки меристемы из того же конуса роста, что и на рис. 3 (табл. I), но в другом физиологическом состоянии. Здесь ядрышки недавно образовались: они окрашены в буфере $\text{pH}=3,6$ в красный или красновато-синий цвет.

Нами отмечена наблюдаемая ранее исследователями рода *Bryophyllum* способность некоторых видов давать повторно детку, т. е. образовывать новый очаг на некотором расстоянии от места опавшей детки. Оссембек [16] говорит о таком свойстве у *B. proliferum* и *B. crenatum* и отрицает наличие такой способности у *B. calycinum*. У нас же в выемках *B. daigremontianum* и *B. calycinum*, помещенных во влажную камеру, вместо удаленных деток из всех выемок нескольких листьев появились у первого вида вторые детки, а у второго вида, т. е. у *B. calycinum*, в некоторых выемках—даже по две детки и обе нормально развивались. Подобную картину мы видим на схематическом рис. 2 табл. I. Здесь уже оформившийся конус роста одной детки находится по соседству с ранней стадией новообразования клеток. На последующих срезах того же препарата уже оформившийся конус роста (отмеченный выше) сопровождается примордиями.

На регенерационную способность указывают также обнаруженные в эпидермисе всех трех изученных видов *Bryophyllum* ядра, находящиеся в активном состоянии немитотического деления. На рис. 3 (табл. II) приведены такие картины срезов первых листочков *B. daigremontianum* и *B. hybridum*. Здесь видны почкующиеся и дробящиеся ядра.

Деление ядра без последующего деления клетки А. М. Синюхин [5] объясняет как накопление организмом резервного живого организованного материала с большим количеством энергии. Изучаемые нами виды

нуждаются в таком резервном материале на случай появления условий, стимулирующих развитие деток.

В ы в о д ы

1. У изучаемых видов рода *Bryophyllum*—*B. calycinum*, *B. daigremontianum* и *B. hybridum* при исследовании первых пар листочков как с гладкими, так и с изрезанными краями не обнаружено групп меристематических клеток, оставшихся при дифференциации тканей листа. Такие группы образуются впоследствии. Способностью к этому обладают листья, достигшие определенной величины.

2. При вегетативном размножении детками у всех трех видов рода *Bryophyllum* в самом начале заложения новообразование клеток происходит немитотическим путем. После оформления меристематической ткани при дифференциации клеток имеет место как митотическое размножение клеток, так и немитотическое.

3. Изученные виды имеют высокую регенерационную способность, что доказывается а) наличием процессов размножения ядер почкованием, дроблением; б) процессами рубцевания при порезах листа; в) способностью давать в той же выемке новые очаги меристемы, иногда два очага одновременно.

Лаборатория радиационной генетики

АН АрмССР

Поступило 15.VI 1963 г.

Լ. Ա. ԱՐԱՐԱՏՅԱՆ

БРЮОФЫЛЛУМ-Ի ՉԱԴԵՐԻ ԱՌԱՋԱՑՄԱՆ ԺԱՄԱՆԱԿ ՏԵՂԻ ՈՒՆԵՑՈՂ ԲՋՋԱԲԱՆԱԿԱՆ ՊՐՈՑԵՍՆԵՐԸ

Ո. մ փ ո փ ո լ մ

Մենք ուսումնասիրել ենք *Bryophyllum* ցեղի երեք տեսակ՝ *B. calycinum*, *B. hybridum* և *B. daigremontianum*: Ընդհանրապես այդ ցեղի բոլոր տեսակները իրենց բաղմանալու եղանակի շնորհիվ վաղուց հետաքրքրության առարկա են հանդիսանում: Նրանց տերևների եզրերին կան փորոքներ, որոնց խորքում առաջանում են ծիլեր կամ բուսակներ՝ ցողունով, տերևներով և արմատներով: Այդ ծիլերն ընդունված է անվանել ձաղեր, որոնք տերևից անջատվելով ու նպաստավոր պայմաններ ընկնելով՝ շարունակում են զարգանալ և նոր բույսեր տալ:

Մեր ուսումնասիրության նպատակն է եղել հետազոտել ձաղերի առաջացման ու զարգացման ընթացքում տեղի ունեցող բջջաբանական պրոցեսները:

Մեր դիտումները շահատետքին մի շարք գիտնականների այն կարծիքը, որ իբր թե ձաղերը սկիզբ են առնում տերևի մերիստեմայից մնացած բջջախմբերից: Ձաղերի առաջացումը նորագոյացում է, նրանց ծնող մերիստեման երկրորդային է և ծագում է էպիդերմիսի տակ գտնվող մեզոֆիլի բջիջներից: Սրանց ոչ միտոտիկ բաժանման շնորհիվ, Ավելի ուշ, երբ արդեն ձևավորվել է ձաղի աճման կոնը, նրա բջիջներում հանդիպում են միտոզի լավ արտահայտ-

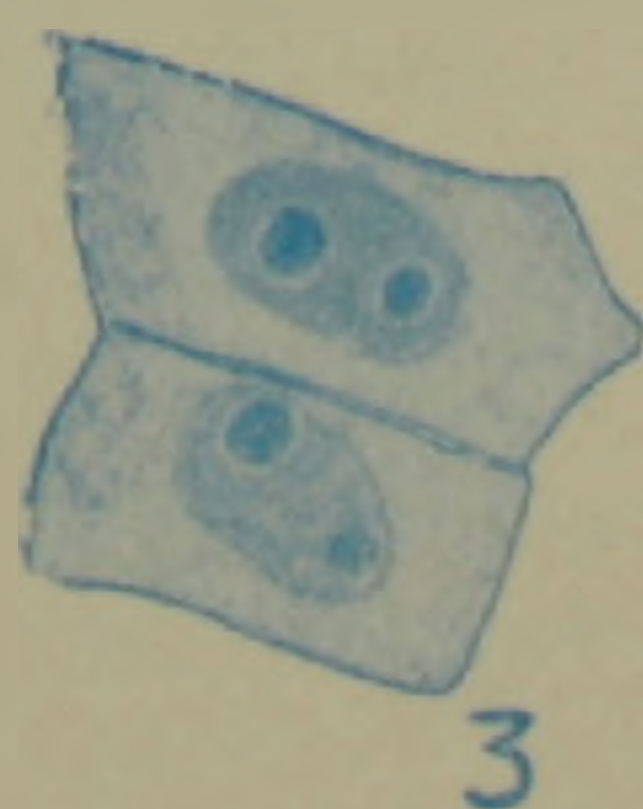
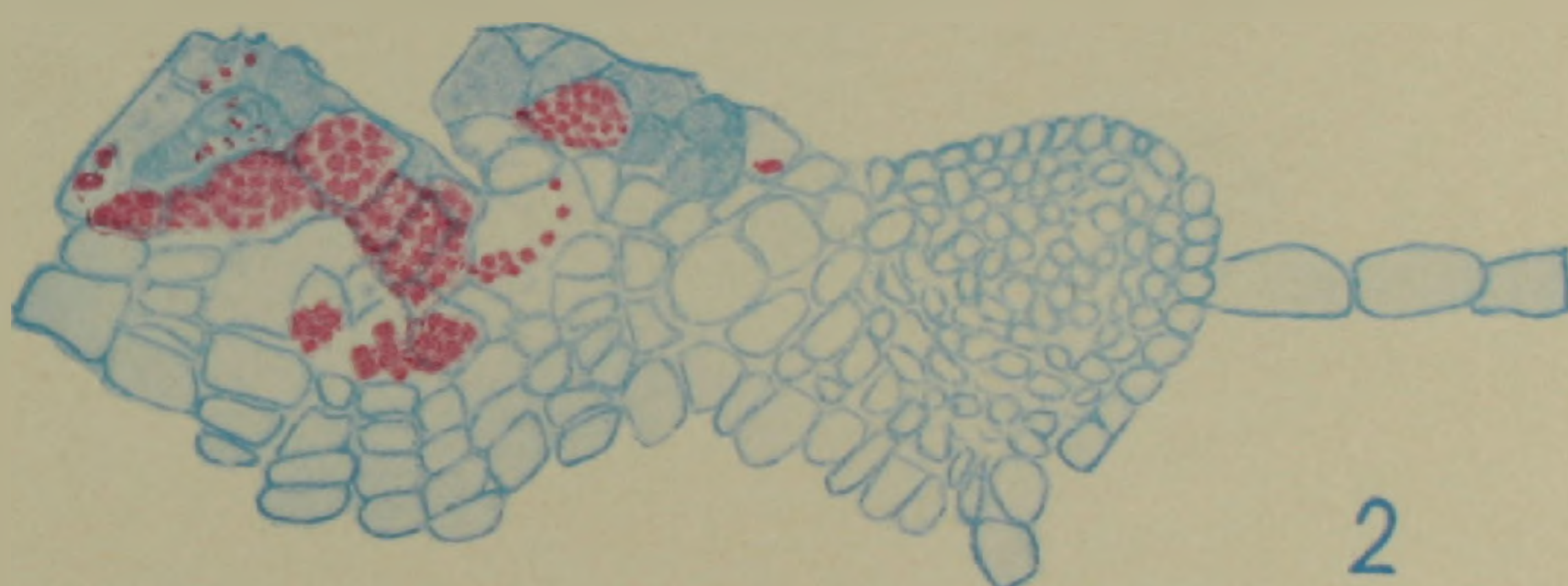
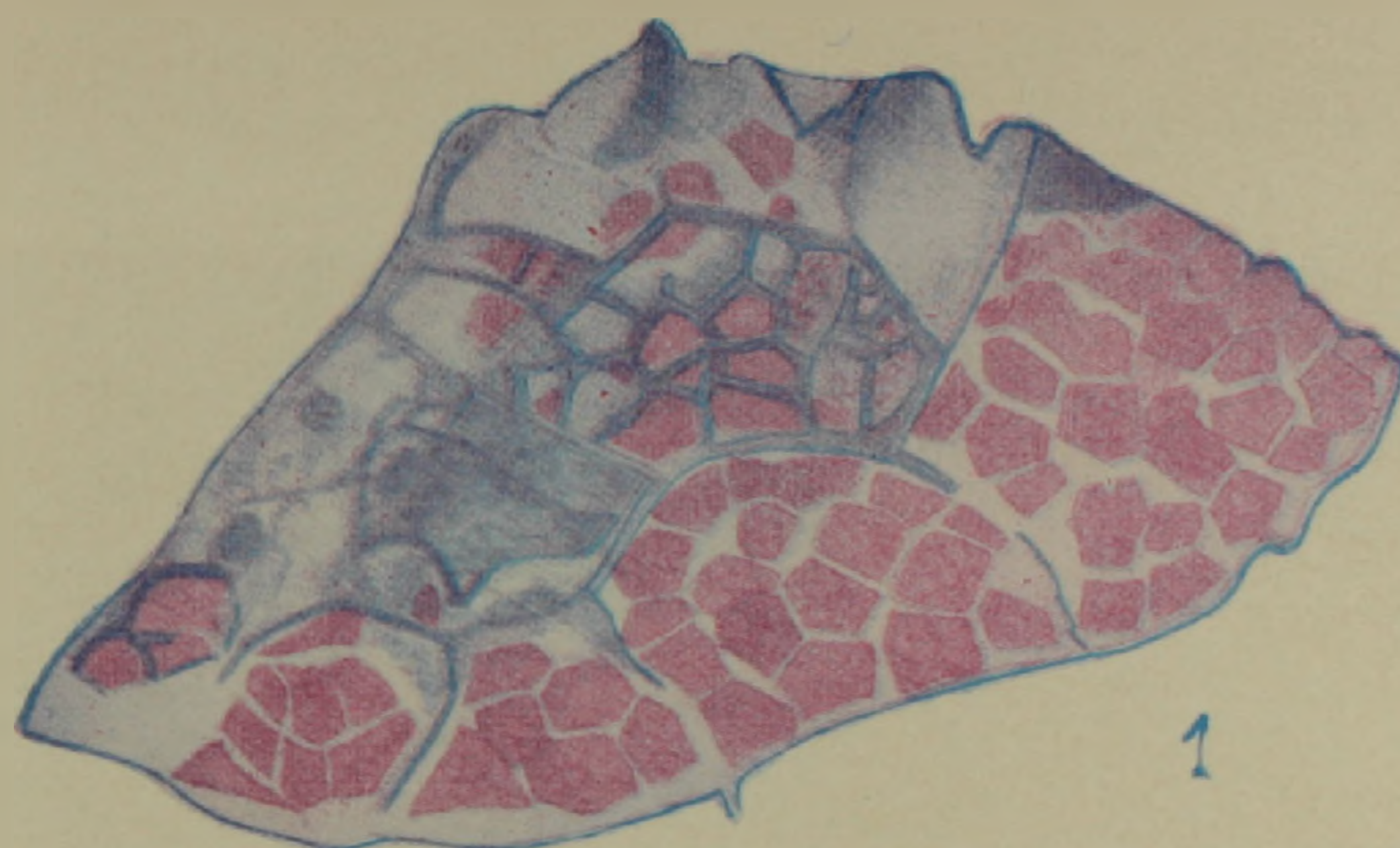


Рис. 1. Срез выемки листа *V. calycinum*, окраска метилен-синим и кислым фуксином в буфере $\text{pH}=3$, увелич. ок. $7\times$, об. $40\times$. Рис. 2. Тот же срез в более широком охвате, увел. ок. $7\times$, об. $10\times$. Рис. 3. Клетки конуса роста зарождающейся детки *V. dalgrenontianum*, окраска метилен-синим и кислым фуксином в буфере $\text{pH}=3.6$, увел. ок. $7\times$, об. $90\times$ им. Рис. 4. Клетки из внешнего слоя верхушки того же конуса роста.

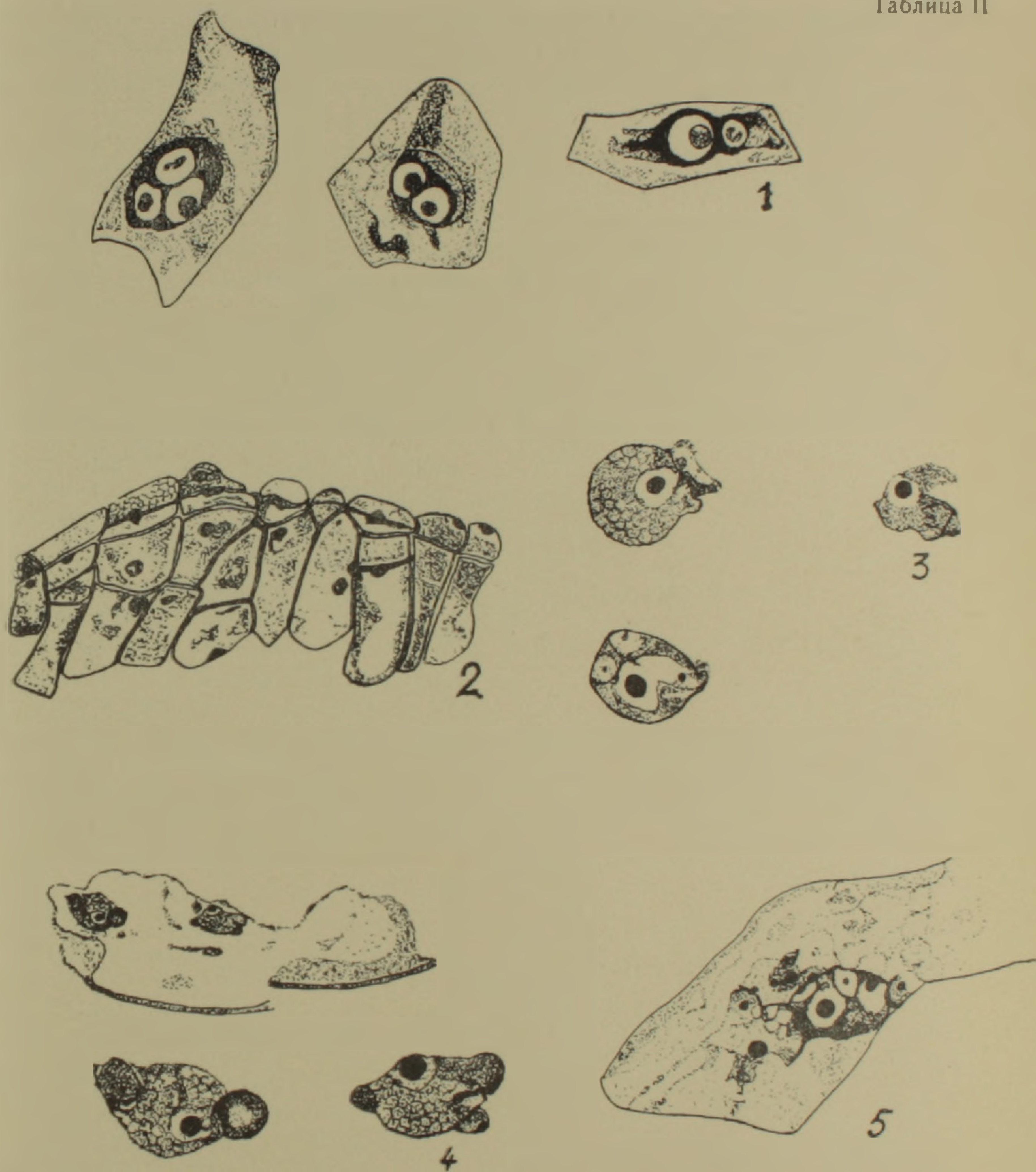


Рис. 1. Клетки конуса роста детки *B. hydridum*, окраска железным гематоксилином, увел. ок. $7\times$, об. $90\times$ им. Рис. 2. Рубцующийся участок листа *B. daigremontianum*, окраска жел. гематоксилином, увел. ок. $15\times$, об. $10\times$. Рис. 3, 4. Почкующиеся ядра в клетках эпидермиса первых листьев детки *B. hydridum*, окраска жел. гематоксилином. Увел. (3) ок. $10\times$, об. $90\times$ им. и (4) ок. $7\times$, об. $90\times$ им. Рис. 5. Дробящееся ядро в клетке эпидермиса первого листа детки *B. hydridum*, жел. гем., увел. ок. $10\times$, об. $90\times$ им.

ված փուլեր: Այդ նույն կոներում կարելի է տեսնել հրկկորիզ բջիջներ և երկու-
երեք կորիզակալ կորիզներ: Չազերի առաջին, դեռևս լրիվ չձևավորված տերև-
ների էպիդերմիսի բջիջներում շատ հաճախ լինում են բողբոջող կամ տրոհվող
կորիզներ: Այս փաստերը ցույց են տալիս, որ մեր հետազոտած տեսակների
հյուսվածքներում բջիջները կարող են բաժանվել նաև ոչ միտոտիկ եղանակով:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Афанасьева А. С. Тр. Ин-та генетики, 27, 1960.
2. Каролинская Х. М. Усп. соврем. биологии, XXXIII, вып. 2, 1952.
3. Конарев В. Г. ДАН СССР, IX, вып. 4, 1948.
4. Кононков П. Ф. Изв. АН СССР, 93, 1953.
5. Синюхин А. М. Агробиология, 6, 1952.
6. Тэрэ И. Изв. АН СССР, 1, 1955.
7. Чельцова Л. П. ДАН СССР, 143, вып. 1, 1962.
8. Элленгори Я. Е. и Рябинина М. И. Изв. АН СССР, 3, 1954.
9. Beals M. C. Bot. Gaz., vol. X, 1923.
10. Harstema M. An. Rec. trav. botan. neerland., vol, XXIII, 1926.
11. Jarbrugh J. Amer. Journ. Bot., vol. XIX, 6, 1932.
12. Kakesita K. Japanese Journ. Bot., vol. V, 2, 1930.
13. Loeb J. Les bases physiocochimiques de la Regeneration, Paris, 1926.
14. Mehrlich J. Bot. Gaz., vol. XCII, 2, 1931.
15. Naylor E. Amer. Journ. Bot., vol. XIX, 1, 1932.
16. Ossenbeck C. Flora, bd. XXII, 1927.
17. Reed E. Bot. Gaz., vol. LXXV, 2, 1923.