

О. Г. СЕВРУК, З. В. МАРШАВИНА, А. И. ПОГОСЯН, А. В. ГАСПАРЯН

О НЕКОТОРЫХ ЦИТОЛОГИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЯХ КАЛЛУСНОЙ И СУСПЕНЗИОННОЙ КУЛЬТУРЫ ИРИСА (IRIS SIBIRICA)

Проводилось цитоморфологическое изучение каллусной и суспензионной культуры листовой ткани ириса. Установлено, что для изолированной ткани ириса характерно наличие нормальных диплоидных клеток ($2n=28$) и незначительное количество гиперплоидных клеток ($4n=56$). Максимальная митотическая активность клеток при культивировании культуры в жидкой и на агаризованной средах отмечена на 5-е сутки. Приводятся сравнительные данные митотической активности каллусной ткани, выращенной в темноте и при освещении.

Цитологическое изучение культуры ткани растений показало, что в результате длительного культивирования ее на искусственных средах появляются нарушения в митотическом цикле (отсутствие веретена с последующей эндоплоидией, распределение хромосом на отдельные группы, неравное распределение хромосом в анафазе, связанное с образованием разных по объему ядер и т. д.). Особенно часто наблюдается полиплоидизация ткани вместо нормального, свойственного данному виду, диплоидного хромосомного набора.

В настоящее время выяснено, что причинами естественной мутабельности тканевых культур являются некоторые компоненты питательной среды, такие, как 2,4-Д, АНУ, кинетин, гетерогенность исходного материала, его генетическая пластичность и целый комплекс других факторов, возникающих в результате длительного культивирования на искусственных средах.

Цель настоящего исследования заключалась в изучении некоторых цитоморфологических особенностей культуры ткани ириса: размеры и форма клеток у каллусной и суспензионной культур, продолжительность лаг-фазы, хромосомный набор и его изменение, динамика митотической активности клеток, выращенных в темноте и при освещении.

Материал и методика. Использовалась культура листовой ткани ириса, впервые изолированная нами в 1971 г. [4]. Ткань ириса выращивалась на агаризованной среде в термостате при температуре 26—28°. Для получения клеточной суспензии кусочки каллусной ткани весом 500 мг помещались в 250-миллилитровые стерильные конические колбы с 50 мл жидкой питательной среды и выращивались на качалках в темноте при температуре 27° (скорость 100—120 об/мин). При изучении митотической активности образцы ткани 16-го пассажа отбирались через каждые 24 часа культивирования в течение 20 суток. Материал для цитологических исследований фиксировался в спиртуксусной смеси (3:1), дважды отмывался 80-градусным спиртом и переносился для хра-

нения в 70-градусный спирт. Временные давленные препараты готовились стандартным ацеторсенновым методом с применением хлоргидрата. О митотической активности судили по процентному отношению митотически активных клеток к интерфазным. Для цитологического изучения суспензионной и каллусной ткани ириса использовался микроскоп марки МБН-3.

Результаты и обсуждение. Цитоморфологическое изучение каллусной и суспензионной ткани ириса показало, что клетки в основном эллипсоидной формы с круглым ядром. Средние размеры их колеблются в пределах 25—26 мк, при максимальной длине 110 и минимальной—15 мк. Ядерно-плазменное отношение [18] колеблется в пределах 0,004—0,016 в зависимости от возраста субкультуры. Следует отметить, что размер и форма клеток ириса, культивируемого на агаризованной и в жидких средах, практически не отличаются.

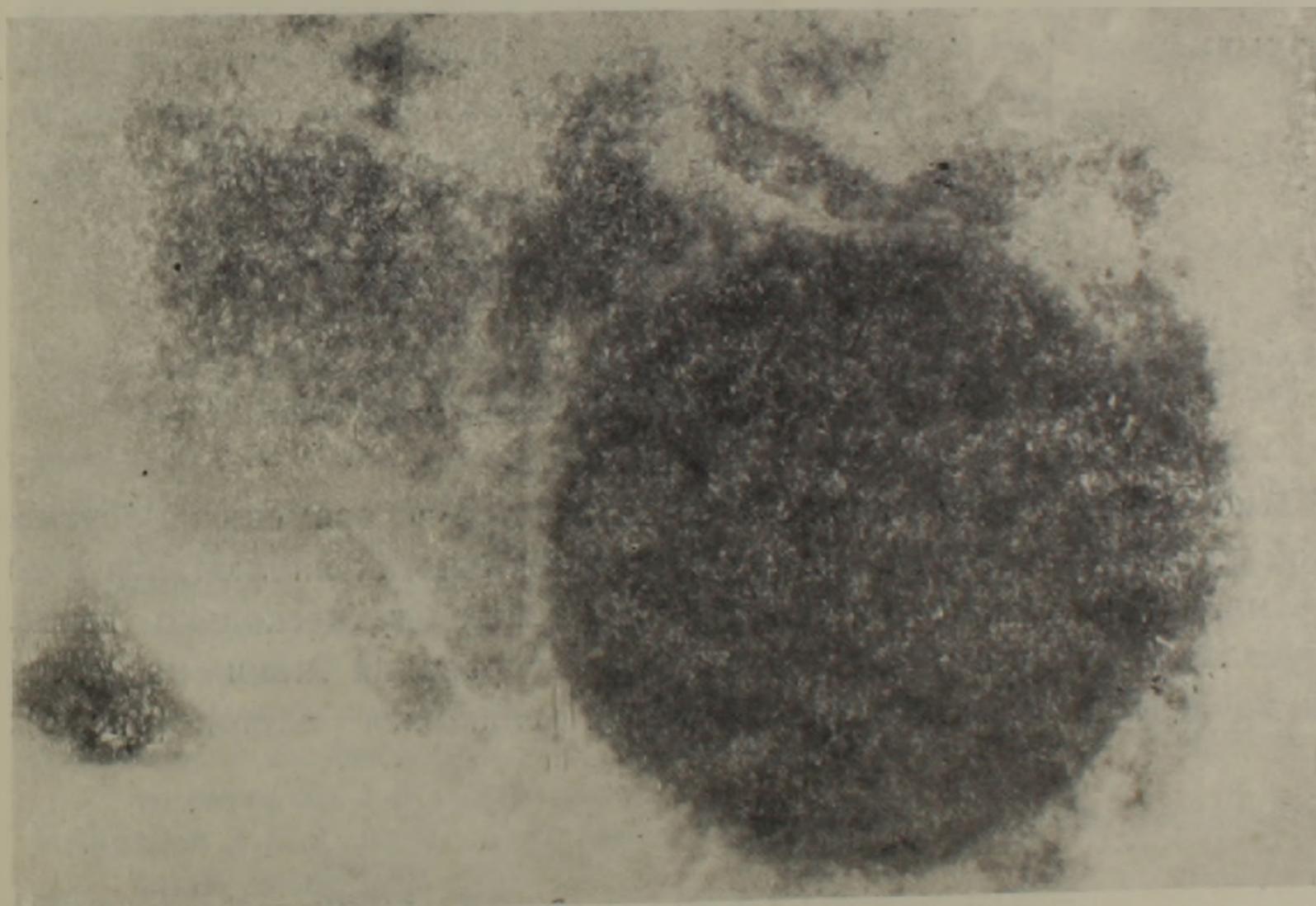
Для ириса характерно наличие нормальных диплоидных клеток с хромосомным набором $2n=28$, но в наших опытах было зафиксировано также наличие крупных гиперплоидных клеток, с числом хромосом, варьирующим в значительных пределах. Точное установление степени плоидности в этих клетках весьма затруднено в связи с тем, что они имеют крупные, длинные хромосомы, образующие своеобразный клубок, в котором очень трудно рассмотреть отдельные хромосомы. Гиперплоидные клетки резко выделяются на общем фоне сравнительно небольших нормальных диплоидных клеток и в 5—7 раз превосходят их (рис. 1 а, б, в, г).

Изучение процесса деления клеток ириса показало, что лаг-фаза длилась всего несколько часов, и уже в первые сутки культивирования начиналось клеточное деление. В период интенсивного деления клеток митотический индекс достигал максимума на 5-е сутки и составлял около 6% для суспензионной культуры и 4% для каллусной. При этом ткань состояла из множества меристематических участков с мелкими, активно делящимися клетками. Затем, до седьмых суток, наблюдалось относительно резкое снижение количества митотически активных клеток. Этот период характеризовался растяжением клеток, при этом каллус становился более рыхлым. На 8-е—9-е сутки вновь наблюдалось деление клеток, после чего оно постепенно снижалось, и к 20-м суткам культивирования ткань достигала исходного состояния. Следует отметить, что в течение всего периода роста культуры митотическая активность клеток на агаризованной среде была ниже, чем в жидкой. Графическая зависимость митотической активности в каллусной и суспензионной ткани ириса от времени культивирования имеет вид двухвершинной кривой с максимумами на 5-е и 9-е сутки культивирования (рис. 2).

При сравнении динамики изменения митотической активности с динамикой накопления сырого веса суспензионной ткани ириса (рис. 3) обнаружилось, что изменение сырого веса клеток идет по нарастающей кривой с 1-х суток культивирования до 15-х. Дальнейшее нарастание биомассы можно объяснить увеличением общего объема клеток за счет



а



б

Рис. 1. Общий вид изолированной листовой ткани ириса. а) на стадии деления, б) гиперплоидная клетка. Ув. 15Х40. Окраска ацеторсенном.

их постепенного растяжения, обводнения и утолщения стенок клеточных оболочек.

Сравнительное изучение митотической активности каллусной ткани ириса, выращенной в темноте и при круглосуточном освещении люминесцентными лампами, показало, что на свету митотическая активность

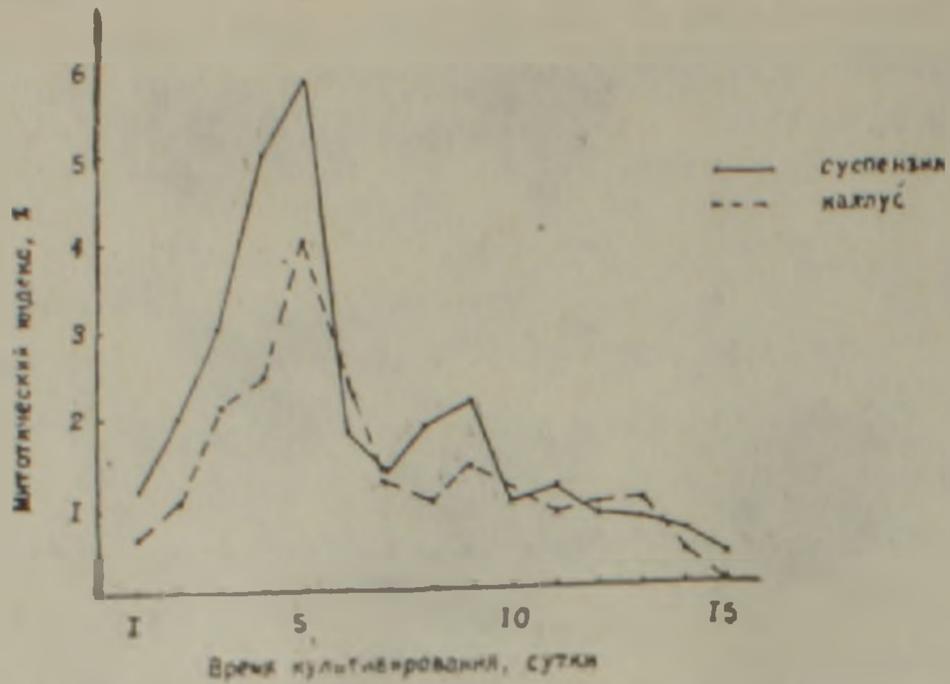


Рис. 2. Графическая зависимость митотической активности каллусной и суспензионной ткани ириса от времени культивирования.

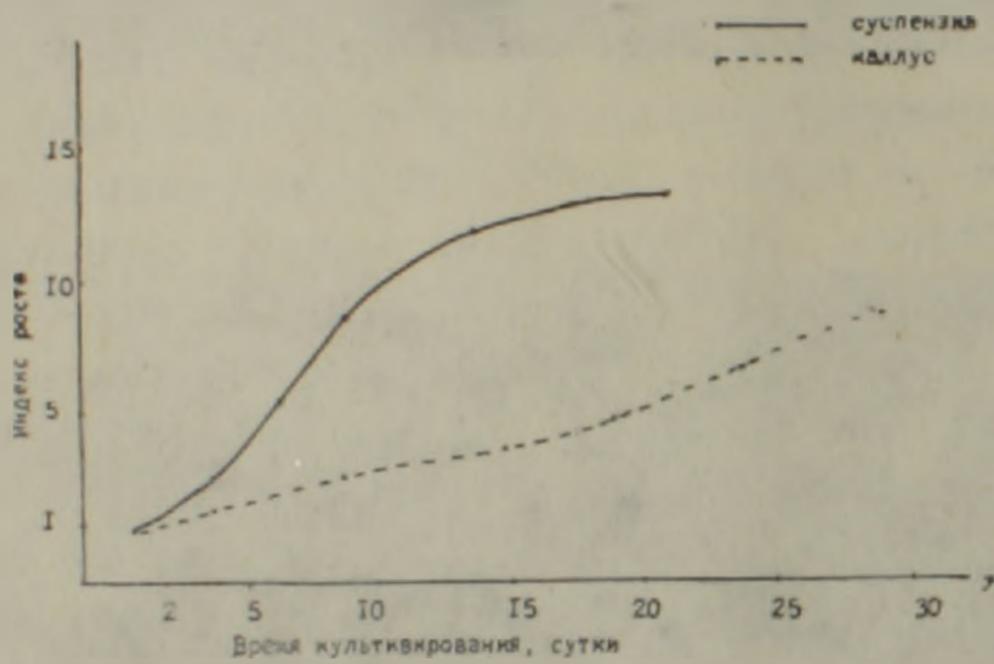


Рис. 3. Динамика роста каллусной и суспензионной ткани ириса на среде МВ-5.

несколько выше, причем максимум ее сдвигается во времени на сутки. Второй пик митотической активности в наших опытах наблюдался в то же время, что и у темновой культуры, но также был несколько выше. Следует отметить, что к 15-м суткам культивирования ткани на свету вновь наблюдалось увеличение количества делящихся клеток (рис. 4);

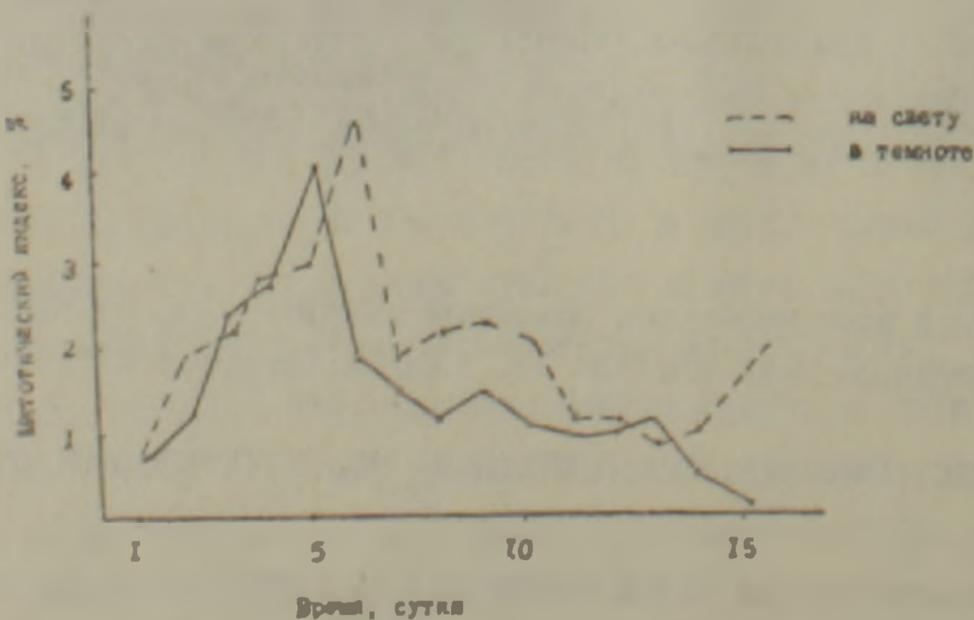


Рис. 4. Сравнительные данные по митотической активности каллусной ткани ириса, выращенной в темноте и при освещении.

при этом рост биомассы на свету был значительно слабее, чем в темноте. Можно предположить, что рост культуры в темноте в большей степени увеличивается за счет растяжения и обводнения клеток, а на свету в основном за счет их деления.

Институт микробиологии
АН АрмССР

Поступило 14.VIII 1974 г.

Օ. Գ. ՍԵՎՐՈՒԿ, Զ. Վ. ՄԱՐՇԱՎԻԱ, Ա. Ի. ՊՈՂՈՍՅԱՆ, Ա. Վ. ԳԱՍՊԱՐՅԱՆ

**ՀԻՐԻԿԻ (IRIS SIBIRICA) ԿԱԼՅՈՒՍԱՅԻՆ ԵՎ ՍՈՒՍՊԵՆԶԻՈՆ
ԿՈՒԼՏՈՒՐԱՆԵՐԻ ՑԻՏՈԼՈԳԻԱԿԱՆ ՈՐՈՇ ԱՌԱՆՁՆԱՀԱՏԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ
ՄԱՍԻՆ**

Ա մ փ ո փ ու մ

Կատարվել է հիրիկի տերևի հյուսվածքի կալուսային և սուսպենզիոն կուլտուրաների ցիտոլոգիական ուսումնասիրություն: Հաստատվել է, որ հիրիկի մեկուսացված հյուսվածքին բնորոշ է նորմալ դիպլոիդ բջիջների առկայությունը՝ բրոմոսոմների $2n=28$ հավաքածուով, ինչպես նաև՝ հիպերպլոիդ բջիջների աննշան քանակություն: Բջիջների մաքսիմալ միթոտիկ ակտիվությունը դիտվել է կուլտիվացման 4—5-րդ օրը:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Бессонова В. П. и Михайлов О. Ф. Культура изолированных органов, тканей и клеток растений. Тр. I Всесоюзн. конф., 1970.
2. Каллах Х. И. и Ярвекюльт Л. Я. Цитология и генетика, 2, 5, 1968.
3. Ковалева Т. А. Культура изолированных органов, тканей и клеток растений. Тр. I Всесоюзн. конф., 1970.
4. Маршавина З. В., Севрук О. Г., Щербакова Е. Н., Тоникян Э. С., Заргарян О. Н. Биологический журнал Армении, 26, 6, 1973.
5. Сидоренко П. Г. Культура изолированных органов, тканей и клеток растений. Тр. I Всесоюзн. конф., 1970.
6. Шамина З. Б., Фролова Л. В. Культура изолированных органов, тканей и клеток растений. Тр. I Всесоюзн. конф., 1970.
7. Шамина З. Б. Культура изолированных органов, тканей и клеток растений. Тр. I Всесоюзн. конф., 1970.
8. Шамина З. Б., Бутенко Р. Г., Тарасов В. А. Генетика, 1, 1966.