

УДК 575.551

Э. В. АСАТРЯН, М. С. ЗАКАРЯН, Г. П. МИРЗОЯН, М. М. САРКИСЯН

НЕКОТОРЫЕ ОСОБЕННОСТИ КУЛЬТУР ТКАНЕЙ ДИ- И ТЕТРАПЛОИДНЫХ ФОРМ *НАРЛОРАППУС ГРАЦИЛИС* А. ГРАУ

Получены культуры тканей из разных органов двух форм растений *Нарлорарпус gracilis*.

Установлено, что каллусные ткани семенного происхождения отличаются ростом и содержанием сухого вещества, митотической активностью и плазмемноядерными отношениями.

Культура тканей и клеток находит все большее применение для решения проблем современной биологии, одновременно этот метод широко применяется в практике—для размножения сельскохозяйственных растений, оздоровления растений, пораженных вирусными болезнями, для упрощения и ускорения генетико-селекционного процесса [1]. Яв-

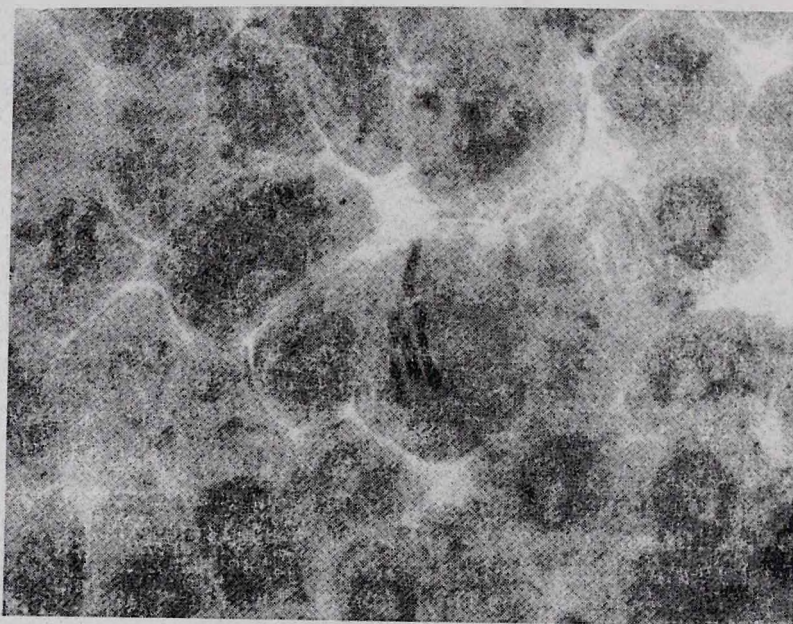


Рис. 1. Кариотип диплоидной формы.

ляясь экспериментальной системой, культура растительных тканей и клеток открывает большие возможности для получения целенаправленных изменений. *Нарлорарпус gracilis* А. Грау из-за сравнительно крупных размеров и малого числа хромосом (рис. 1) стал классическим

объектом в культуре тканей и клеток. Многие исследования посвящены вопросам роста и размножения клеток, структурных изменений хромосом и полиплоидизации [2—9].

Нашей задачей было изучение митотической активности, интенсивности роста и накопления сухого вещества и плазмемно-ядерных отношений культур тканей ди- и тетраплоидных форм растений *Narlorarpus gracilis*.

Материал и методика. Исходным материалом служили семена диплоидных и тетраплоидных форм *N. gracilis*. Тетраплоидная форма была получена в результате обработки наклюнувшихся семян 0,03—0,01 и 0,1% растворами колхицина [10].

После стерилизации 10—12% раствором пергидроля в течение 15 мин семена промывали теплой стерильной водой и в асептических условиях переносили на 0,7% агаризованные питательные среды Гамборга [11], Мурасиге и Скуга [12], Уайта [13] (цитировано по Бутенко) и Нича [14]. На указанные питательные среды высевали по 50 семян каждой формы; проращивали при 26°C и 70% относительной влажности воздуха. После прорастания семян пинцетом вычленили кусочки тканей отдельных органов растений и переносили на те же питательные среды. В отдельных случаях вторичный посев проводили каллусными тканями, образовавшимися непосредственно из семян.

Динамику накопления сырой и сухой массы определяли в течение 30-дневного культивирования. С этой целью через каждые 5 дней взвешивали ткани пяти колб и выводили среднюю арифметическую. После высушивания этого материала при 100—105°C определяли абсолютно сухой вес.

Митотическую активность определяли в течение всего периода пассирования культуры с интервалом в один день. Для этого в каждый срок брали выборку культуры из пяти колб на каждую форму и фиксировали в спирт-уксусной (3:1) кислоте. Материал обрабатывали по общепринятой методике [15]. На временных препаратах окуляр-микрометром измеряли параметры клеток и ядер. В каждой пробе измеряли по 100 клеток. Объем клеток определяли по формуле $V = \pi r^2 h$, где r —меньший диаметр клетки, h —высота клетки, или больший диаметр. Объем ядер определяли по формуле $V = 4/3 \pi abc$, где a , b , c —радиусы эллипсоида. Проводили статистическую обработку измерений диаметров ядер и клеток. Для точного определения цитоядерного отношения клеток вычисляли логарифмированные объемы ядер и клеток.

Результаты и обсуждение. Ежедневными наблюдениями было установлено, что прорастание семян происходит спустя 8—12 дней после посева. На питательной среде Гамборга наблюдалось каллусообразование непосредственно из семян. В посевах тканями отдельных органов каллусообразование наблюдалось спустя 14—17 дней после контактирования с питательной средой.

На питательных средах Гамборга, Мурасиге и Скуга нам удалось получить каллусные ткани из семян, корней, стеблей и листьев обеих форм растений. Дальнейшее пассирование тканей проводили на среде Гамборга пересевами через каждые 30—32 дня. Первичная каллусная ткань, образовавшаяся непосредственно из семян или из тканей других органов, светло-желтая, плотная, с зернистой консистенцией. В дальнейшем она темнеет и становится светло-коричневой. При старении культуры наблюдаются некротизированные участки.

Результаты определения динамики накопления сырой массы (рис. 2) показывают, что по сравнению с тетраплоидной каллусная ткань от диплоидной формы растет интенсивнее и к концу пассирования накоп-

ливает больше сырой массы. Так, например, если ткань от тетраплоидной формы на 15 и 30-й дни культивирования дала прирост 0,74 и 5,12 г соответственно, то ткань от диплоидной—1,7 и 7,9. У обеих культур максимальное накопление сырой массы отмечалось на 30-й день культивирования.

Содержание сухого вещества (рис. 3) выше в тканях от тетраплоидной формы растений. К концу культивирования оно снижается. Так,

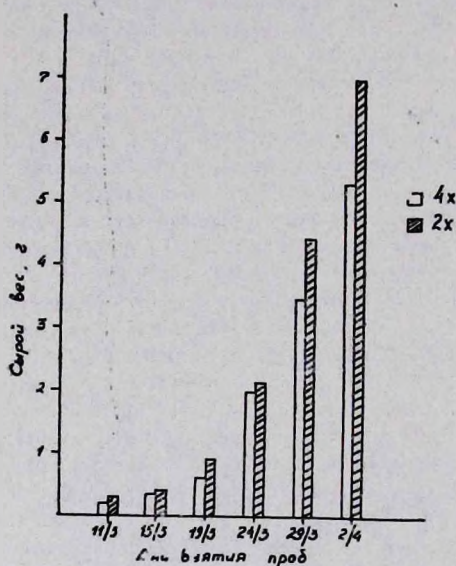


Рис. 2.

Рис. 2. Динамика накопления сырой массы ди- и тетраплоидных форм.

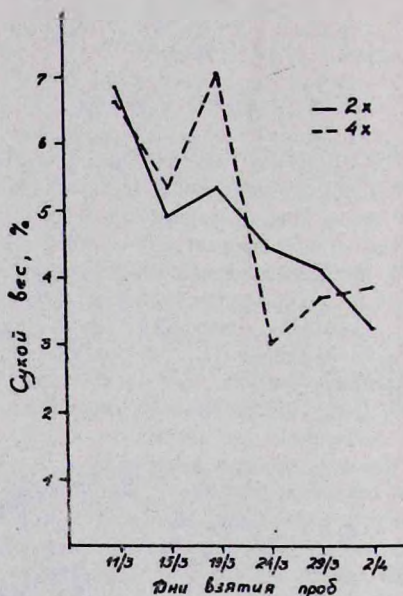


Рис. 3.

Рис. 3. Динамика накопления сухой массы ди- и тетраплоидных форм.

например, если на 11-й день в тканях от диплоидной формы этот показатель составлял 6,8, а в тканях от тетраплоидной—6,7%, то на 32-й день культивирования—3,2 и 3,8% соответственно.

Как видим (рис. 4), разные по происхождению культуры тканей имеют и разную митотическую активность. Она выше в клетках тканей от тетраплоидной формы, достигает максимума на 5 и 19-й дни культивирования, а в культуре от диплоидной формы—на 24-й день культивирования. К концу культивирования наблюдается заметное снижение митотической активности обеих культур.

Из представленных в таблице данных видно, что клетки и ядра каллусной ткани от тетраплоидной формы имеют сравнительно большие объемы, причем увеличение объемов происходит за счет изменения длины. Из таблицы также видно, что у клеток культуры тканей от тетраплоидной формы в большей степени увеличиваются клетки, чем ядра, так как их плазменно-ядерные отношения имеют более высокое числовое значение. Количество клеток, как и следовало ожидать, на 1 мг ткани больше в культуре от диплоидной формы.

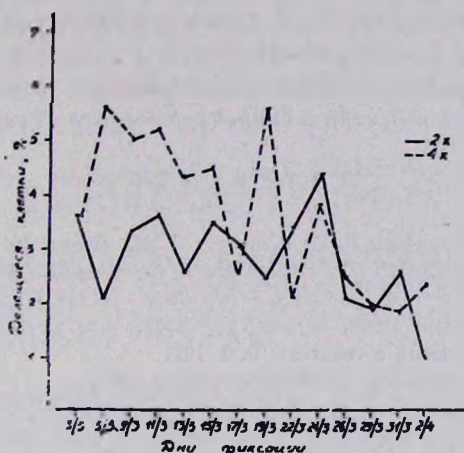


Рис. 4. Кривые митотической активности.

Таблица

Плазменно-ядерное отношение и число клеток на 1 мг массы культур тканей

Формы культур	Ширина		Длина		Объем		Плазменно-ядерные отношения	Число клеток на 1 мг массы
	клетка	ядро	клетка	ядро	клетка	ядро		
2x	23,6	6,8	39,2	7,8	19262	1525	12,6	1275
4x	22,9	6,3	52,9	9,1	28431	1962	14,5	1050

В процессах пассирования в культурах от обеих форм растения идет полиплоидизация. Следовательно, мы имели дело не с сугубо диплоидными и тетраплоидными культурами тканей, а с химерами. Выявленные нами различия, безусловно, обусловлены происхождением культур тканей.

Институт экспериментальной биологии АН АрмССР

Поступило 4.X 1976 г.

Է. Վ. ԱՍԱՏՐԵԱՆ, Մ. Ս. ԶԱՔԱՐԵԱՆ, Գ. Ի. ՄԻՐՁՈՅԱՆ, Մ. Մ. ՍԱՐԳՍՅԱՆ

HAPLOPAPPUS GRACILIS A. GRAY

ԴԻՊԼՈԻԴ ԵՎ ՏԵՏՐԱՊԼՈԻԴ ՀՅՈՒՄԱՆԻՏԱՅԻՆ ԿՈՒԼՏՈՐԱՆԵՐԻ ՄԻՔԱՆԻ ԱՌԱՆՁՆԱՀԱՏԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԸ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Վարակազերծված սերմերով Գամբորգի 0,7% ագարային սննդամիջավայրի վրա կատարված ցանքերում ստացվել են *Haplopappus gracilis*-ի երկու ձևերի սերմնային հյուսվածքային կուլտուրաներ:

Биологический журнал Армении, XXX, № 6—6

Պարզվել է, որ դիպլոիդ ձևից ստացված կոկոնուրան աճում է արագ և ցանքի 30-րդ օրը կոկոնակում է ավելի շատ զանգված, քան տետրապլոիդ ձևից ստացվածը: Ըստ շրջանային քանակի դիտվել է հակառակ պատկերը: Տետրապլոիդ ձևի հյուսվածքային կոկոնուրային բնորոշ է բարձր միտոտիկ ակտիվություն, ինչպես նաև բջիջների և կորիզների ծավալի մեծացում:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Чайлахян М. Х., Бутенко Р. Г., Смирнов А. М. Вестн. АН СССР, 3, 1975.
2. Бутенко Р. Г., Сидоренко П. Г., Степура Г. С., Павлова М. К. ДАН СССР, 196, 5, 1967.
3. Shamlna Z. B. Prague, 1966.
4. Кунах В. А. Цитология и генетика, 5, 3, 1971.
5. Зосимович В. П., Кунах В. А. Генетика, 11, 6, 1975.
6. Загорская Н. А., Шамина З. Б., Бутенко Р. Г. ДАН СССР, 196, 5, 1971.
7. Mitra J., Mapes M. O., Steward Z. C. American Journ. Bot., 47, 1960.
8. Сидоренко П. Г., Кунах В. А. Цитология и генетика, 4, 3, 1970.
9. Сидоренко П. Г., Кунах В. А. Цитология и генетика, 6, 6, 1972.
10. Հակարյան Մ. Ս. Радиочувствительность и мутабельность растений вып. 11, Ереван, 1974.
11. Gamborg O. L. Can. Journ. Biochem., 45, 1967.
12. Murashige J., Skoog Z. Physiol. Plant, 15, 1962.
13. Бутенко Р. Г. Культура изолированных тканей и физиология морфогенеза растений, М., 1964.
14. Nitsch J. P., Nitsch C. Science, 163, 85, 1969.
15. П.лохинский Н. А. Биометрия, М., 1970.