

КАЛЛУСООБРАЗОВАНИЕ И ОРГАНОГЕНЕЗ В ИЗОЛИРОВАННОЙ КУЛЬТУРЕ ТОПИНАМБУРА

М.Г. ПЕТРОСЯН, Дж.А. АГАДЖАНИЯН, М.Г. ШАМЦЯН, Ю.Г. ПОПОВ

*Ереванский государственный университет,
кафедра микробиологии и физиологии растений, 375049*

Получены каллусные культуры из различных органов шести сортов топинамбура. Подобраны оптимальные питательные среды для поддержания их роста *in vitro*. Определены показатели, характеризующие рост каллусных тканей четырех сортов топинамбура. Изучены условия индуцированного органогенеза из каллусных тканей местного сорта топинамбура.

Տնայինամբուրի 6 սորտերի տարբեր օրգաններից ստացված են կալլուսային կուլտուրաներ: Անտրված են կրանց *in vitro* աճի պահպանման համար օպտիմալ սենդամիջավայրերը: Տնայինամբուրի 4 սորտերի համար որոշված են կալլուսային հյուսվածքների աճը բնութագրող ցուցանիշները: Ուսումնասիրված են ինդուկցված օրգանոգենեզի պայմանները տնայինամբուրի տեղական սորտի կալլուսային հյուսվածքներից:

Callus cultures from various organs of six sorts of topinambur were established. Optimal nutrient media for maintaining their *in vitro* growth were selected, and features of callus tissue growth of four sorts of topinambur were determined. The necessary conditions for induced organogenesis in callus tissues of local sort of topinambur were also studied.

Каллус - органогенез - топинамбур.

Топинамбур (*Helianthus tuberosus L.*) справедливо называют культурой XXI века. Высокая урожайность, экологическая пластичность, устойчивость к различным заболеваниям, наряду с расширяющимися возможностями его применения, обеспечивают экономическую эффективность возделывания этой нетрадиционной культуры.

Настоящее исследование посвящено разработке методов культивирования *in vitro* изолированных тканей различных сортов топинамбура и изучению условий каллусообразования и органогенеза.

Материал и методика. Для разработки условий получения и хранения *in vitro* каллусных культур использовались следующие сорта топинамбура: Пермский-раннеспелый, Сеянец, Интерес, Violet de Rennes, Fuseau, а также местные сорта этой культуры. Растения выращивались как в условиях асептических, так и закрытого и открытого группов. Эксплантаты брались из листьев, стеблей и клубней топинамбура в разные периоды вегетации. Для индукции каллусообразования были испытаны следующие питательные среды: Нияч и Нича [3,4], предложенная авторами специально для культивирования топинамбура, Мурасиге-Скуга (МС), Гамборга и Эвелета В-5, Шенка-Хильдебрандта с различными комбинациями и концентрациями фитогормонов. Составы всех использованных питательных сред воспроизведены по монографии Калининна с соавт. [1].

Объектами для индукции органогенеза служили каллусные ткани, полученные нами из листьев, стеблей и клубней местного сорта топинамбура. Применялась питательная среда МС, а в качестве индукторов органогенеза - различные сочетания регуляторов роста растений: из ауксинов - β -индолилуксусная кислота (ИУК), α -нафтилуксусная кислота (НУК), из цитокининов - кинетин и 6-бензиламинопурин (БАП).

Учет показателей роста каллусных тканей четырех сортов топинамбура проводили в динамике, на 10, 20 и 30-е сутки культивирования. По общепринятой методике определяли вес сырой и сухой биомассы, содержание сухих веществ в полученных каллусах. Индекс роста каллусов определяли согласно формуле $(W_1 - W_0) / W_0$, где W_0 - начальный вес эксплантата, а W_1 - конечный вес каллуса. Определения проводили в шестикратной повторности.

Результаты и обсуждение. В наших экспериментах способность к каллусообразованию установлена у всех шести испытанных сортов топинамбура. Для получения каллусных культур из эксплантатов топинамбура наилучшими оказались питательные среды Мурасиге-Скуга, Нич и Нича, причем первая из них была оптимальной и для дальнейшего поддержания роста изолированных тканей. В единичных случаях и на средах Гамборга-Эвелета, Шенка-Хильдебранга наблюдалось каллусообразование, однако оно было выражено значительно слабее.

Полученные из эксплантатов различных органов топинамбура каллусы светло-желтого цвета, иногда с бурекрасными участками, на свету зеленеют и, в зависимости от происхождения, имеют рыхлую (из листьев, стеблей) или плотную (из клубней) консистенцию. Жизнеспособность каллусных культур топинамбура поддерживалась периодическим пассированием через каждые 3-4 недели, на среде МС, при температуре 26° в темноте. В настоящее время их культивирование доведено до X - XXII пассажей.

Для четырех сортов топинамбура - местный, Пермский-раннеспелый, Сеянец и Fuseau - в период пятого пассажа на 10, 20 и 30-е сутки культивирования на среде МС проведено определение показателей, характеризующих рост каллусных тканей различного происхождения. Полученные результаты обобщены в таблице.

Приведенные данные показывают, что наиболее интенсивным ростом отличаются каллусные культуры сорта Пермский-раннеспелый. Незначительно отстают по росту каллусы сортов Сеянец и Fuseau. Интенсивный рост характерен особенно для каллусов листового и стеблевого происхождения. Значительно ниже прирост биомассы каллусов, полученных из эксплантатов клубней. Такая закономерность характерна для всех изученных сортов топинамбура. Особенно наглядно эту закономерность отражают данные по учету индекса роста тканей. К концу культивирования индекс роста каллусных тканей различных сортов топинамбура листового происхождения достигает 23-31, в то время как этот же показатель для тканей, полученных из клубней, колеблется в пределах 14-18.

Из приведенных в таблице данных видно также, что наиболее высоким содержанием сухих веществ отличаются каллусы, полученные из клубней всех сортов топинамбура. Во все сроки культивирования в клетках интенсивно растущих каллусных культур листового и стеблевого происхождения всех сортов топинамбура содержание сухих веществ меньше (выше оводненность тканей), чем в тканях, полученных из клубней.

Результаты экспериментов свидетельствуют, что полученные нами каллусные культуры жизнеспособны, при культивировании на среде МС обладают интенсивными темпами роста и могут служить объектом для осуществления следующего этапа исследований по экспериментальному органогенезу.

Индукцированный органогенез из каллусных тканей растений сравнительно мало изучен. Условия индукции органогенеза из недифференцированных каллусных тканей для каждой культуры подбираются скорее эмпирически, путем комбинирования

Прирост биомассы (сырой вес, г), содержание сухих веществ (%) и индекс роста (ИР) каллусных тканей различных сортов топинамбура в разные сроки культивирования на среде Мурасиге-Скуга

Сорт			Местный			Пермский-раннеспелый			Fuscau			Сяиси		
			лист	стеб.	клуб.	лист	стеб.	клуб.	лист	стеб.	клуб.	лист	стеб.	клуб.
Сроки культивирования, сут-ки	10	Вес	1,57	2,17	1,22	2,83	2,70	1,45	2,03	2,40	1,70	2,10	2,25	1,53
		Сух.	8,10	7,94	10,62	8,31	8,07	10,70	7,90	8,19	10,35	8,02	7,55	11,00
		ИР	7	11	5	13	13	6	9	11	8	10	10	7
	20	Вес	3,62	2,90	1,17	4,15	3,95	1,97	4,01	3,80	1,85	3,89	3,57	1,70
		Сух.	7,26	8,83	11,39	7,01	8,17	11,30	7,33	8,93	10,85	7,80	8,20	11,20
		ИР	17	14	6	20	19	9	19	18	8	18	17	
	30	Вес	4,79	4,38	3,08	6,35	5,85	3,80	5,80	5,05	3,03	5,95	5,10	3,28
		Сух.	7,54	7,66	11,13	7,11	7,95	11,10	7,15	8,10	10,45	7,15	8,00	11,03
		ИР	23	21	14	31	28	18	28	24	14	29	25	15

гормонально-трофических факторов. В этой области определенные успехи достигнуты для некоторых представителей пасленовых, бобовых и злаковых. В литературе мы не встречали сообщений по органогенезу у топинамбура.

В наших экспериментах способность к органогенезу проявляли каллусные культуры II пассажа, изолированные из листьев и стеблей топинамбура. Каллусные культуры, полученные из клубней, этой способностью не обладали. Высокая частота формирования корней и листьев наблюдалась после двухнедельного роста в темноте при 26° на среде МС, содержащей в качестве индукторов органогенеза НУК - 3 мг/л, ИУК - 2 мг/л и кинетин - 0,05 мг/л. Объекты с формирующимися органами оставались при 16-часовом освещении, и в этих условиях процесс органогенеза завершался. В условиях освещенности органогенез наблюдался при использовании в среде МС следующей комбинации фитогормонов: кинетин - 3 мг/л, БАП - 1 мг/л, НУК - 0,2 мг/л. При культивировании каллусов на среде МС иногда наблюдался и спонтанный органогенез.

Выполнение работы частично финансировалось грантом Ассоциации ИНГАС ЕС.

ЛИТЕРАТУРА

1. Калинин Ф.Л., Сарнацкая В.В., Полищук В.Е. Методы культуры тканей в физиологии и биохимии растений. Киев, 1980.
2. Топинамбур и топинеолечник - проблемы возделывания и использования. Тез. докл. III Всесоюзной научно-производственной конференции. Одесса, 7-11 окт., 1991.
3. Nitsch J.P., Nitsch C. Amer. J. Bot., 43, 10, 839-851, 1956.
4. Nitsch J.P., Nitsch C. Amer. J. Bot., 44, 6, 555-564, 1957.

Поступила 07. XI 1994.