

УДК 582.572:581.143.6

ОСОБЕННОСТИ МОРФОГЕНЕЗА IN VITRO НЕКОТОРЫХ ВИДОВ *SCILLA* L.

Р.П. Барыкина, О.А. Чурикова

(кафедра высших растений)

В статье приводятся результаты изучения морфогенетических процессов у видов рода *Scilla* L., продолжающие ранее начатые исследования морфогенеза в культуре тканей луковичных и клубнелуковичных однодольных in vitro, проводимые с 1988 г (Чурикова и др., 1991, 1994; Чурикова, 1993; Чурикова, Барыкина, 1995). Несмотря на широкое применение микрочлониального размножения растений на практике и имеющуюся обширную литературу по этому методу, морфогенетические процессы на анатомическом уровне остаются недостаточно хорошо изученными. В известных нам публикациях, касающихся культуры тканей пролески (Hussey, 1975; Yanagawa, Sakanishi, 1980; Chakraborty, Sen, 1983; Tao Yuan Hua, 1991), основное внимание уделено вопросам гормональной регуляции морфогенеза, подбору разных составов питательных сред, а также некоторым физиолого-биохимическим аспектам.

Задачей наших исследований было выявление тотипотентных свойств клеток разных тканей, особенностей рубцевания ран, изучение гистологических изменений, происходящих при регенерации, репродукции адвентивных структур и развития гидроцитной системы. Основное внимание уделено анализу морфогенетических процессов в эксплантах вегетативных органов одной морфологической природы (луковичная чешуя и лист), но различающихся структурой и функциональной нагрузкой.

Объекты и методы

Объектами исследований послужили три вида пролесок: *Scilla sibirica* Andr., *S. italica* L., *S. rosenii* C. Koch. В качестве эксплантов использовали сегменты луковичных чешуй и листья срединной формы. Их разные функции находят отражение в некоторых количественных и качественных показателях внутреннего строения (таблица). Запасящие чешуи мясистые, состоящие из 23—37 слоев округлых тонкостенных клеток, пронизанные параллельно идущими проводящими пучками, число которых колеблется от 4—5 у *S. rosenii* до 15—18 у *S. italica* и *S. sibirica*, с хорошо выраженными паренхимными обкладками. Основное запасное вещество — крахмал, изредка встречаются клетки

с рафидами оксалата кальция. Эпидерма верхней и нижней поверхности луковичной чешуи представлена мелкими, довольно тонкостенными клетками.

Листовые пластинки относительно тонкие, с 13—25 слоями однородного мезофилла, периферические клетки которого богаты хлоропластами. Число проводящих пучков или такое же, как в чешуе (*S. rosenii* и *S. italica*), или вдвое больше (*S. sibirica*). Эпидермальные клетки морфологически верхней и нижней сторон со слабо утолщенными внешними и относительно тонкими радиальными стенками.

Предстерилизационную обработку материала и его стерилизацию проводили по ранее описанной для лилий методике (Румынин, Слюсаренко, 1989; Чурикова и др., 1991). После стерилизации и прерпарирования экспланты помещали на основную питательную среду по прописи Мурасиге и Скуга (Murashige, Skoog, 1962) с добавлением 5 мг/л БАП и 1 мг/л НУК.

Результаты исследований показали, что в целом у всех трех видов пролески морфогенетические процессы протекают одинаково. Однако наибольшей регенерационной активностью отличается *S. italica*. Деления в эксплантах листьев и луковичных чешуй начинаются на 10—12-й день культивирования и локализируются субэпидермально с абаксиальной стороны, что, видимо, обусловлено непосредственным контактом с питательной средой. Внешне это проявляется в образовании валика вблизи поверхности среза. Первые клеточные перегородки ориентированы периклиально (рис. 1, А). Однако, как мы наблюдали ранее у лилий и гиацинтов (Чурикова и др., 1994; Чурикова, Барыкина, 1995), такая упорядоченность делений относительно быстро утрачивается, в результате чего под общей оболочкой инициальной клетки возникает полиада — группа мелких клеток с густым цитоплазматическим содержимым и четко различимыми крупными ядрами (рис. 1, Б). Впоследствии в результате лизиса оболочек нескольких рядом расположенных полиад обычно происходит образование единой меристематической зоны. Эпидерма, как правило, не принимает непосредственного участия в ее формировании. Клеточные деления охватывают постепенно и более глубокие слои мезофилла,

Количественные показатели анатомического строения эксплантов и некоторые особенности ранних морфогенетических процессов

Вид <i>Scilla</i>	Толщина (число слоев клеток)		Число проводящих пучков		Слизистые клетки		Рафиды		Деление клеток				Наличие гидроцитных тяжей и узлов				Место возникновения апексов			
	I	II	I	II	I	II	I	II	I		II		I		II		I		II	
									ад.	аб.	ад.	аб.	ад.	аб.	ад.	аб.	ад.	аб.		
	(Здесь в оригинале были бы рисунки, но в данном формате они не отображаются)																			
<i>S. sibirica</i>	13—14	37	15—17	7—8	—	+	—	+	+	+	+	+	—	—	—	+	пб субэп. корн. на оси	—	пб суб- эп.	корн.
<i>S. italica</i>	23—25	35	15—18	15	—	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	пб	корн.	пб	корн.	
<i>S. rosenii</i>	17	23—35	4—5	4—5	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	+	пб	+	пб суб- эп.	корн.	

Примечание. I — лист, II — луковичная чешуя, ад — адаксиальная сторона луковичной чешуи (листа), аб — абаксиальная сторона, корн. — корни, субэп. — деление клеток в субэпидермальном слое, пб — побеги.

вовлекая в меристематическую активность все новые и новые живые клетки, включая паренхимные обкладки проводящих пучков. К этому времени наблюдаются и первые деления в одном-двух субэпидермальных слоях адаксиальной поверхности, в результате чего возникают две встречные волны клеточных делений, постепенно затухающих в центральной части экспланта. Несмотря на относительно более позднее проявление меристематической активности клеток адаксиальной поверхности, именно здесь в дальнейшем происходит наиболее интенсивно репродукция адвентивных структур (рис. 1, В; рис. 2), в то время как рано возникающие меристематические очаги с абаксиальной стороны, как правило, не дифференцируются в побеговые апексы. Зачатки побегов всегда формируются эндогенно. Впоследствии в их основании закладываются зачатки корней. Наряду с такими кладогенными корнями нами отмечены случаи образования зачатков корней независимо от почек. Они возникают близ абаксиальной стороны в глуболежащих слоях поделившегося мезофилла и часто предшествуют развитию побеговых конусов. При своем росте эти корни оттесняют наружу периферические участки мезофилла с эпидермисом, входя в непосредственный контакт с питательной средой (рис. 1, Г).

Нередко возникновению побеговых и корневых зачатков предшествует формирование разветвленной гидроцитной системы в пределах общей меристематической зоны экспланта. Она представлена многочисленными гидроцитными узлами и соединяющими их довольно широкими “перемычками” — гидроцитными тяжами, включающими про-

водящие элементы флоэмы и ксилемы. Гидроцитные узлы часто представляют собой своеобразные очаги инициации последующих морфогенетических процессов, приводящих к возникновению зачатков почек. Установленное нами более интенсивное по сравнению с листьями развитие гидроцитной системы в эксплантах чешуй обуславливает и повышенную активность их регенерационных процессов.

Вновь развивающаяся в эксплантах проводящая система участвует как в перераспределении питательных веществ, так и, видимо, в стимуляции и регуляции меристематической активности клеток и регуляции последующих морфогенетических процессов (Гамалей, 1978). Одним из косвенных подтверждений этого может служить корреляция между степенью развития гидроцитной системы и числом возникающих *de novo* зачатков побегов.

Что касается видовых особенностей регенерационных процессов у исследованных пролесок, то они в основном проявляются в характере рубцевания раневой поверхности эксплантов. Так, *S. italica* свойственна суберинизация клеточных оболочек живых тканей близ раневой поверхности без образования феллогена. У *S. rosenii* наблюдается поверхностное заложение пробки, включающей небольшое число слоев клеток. *S. sibirica* же отличается более глубоким заложением многослойной сильно суберинизированной раневой пробки (рис. 1, Д).

Итак, анализ регенерационных процессов в эксплантах листовой природы у трех видов пролески показал, что практически все живые ткани

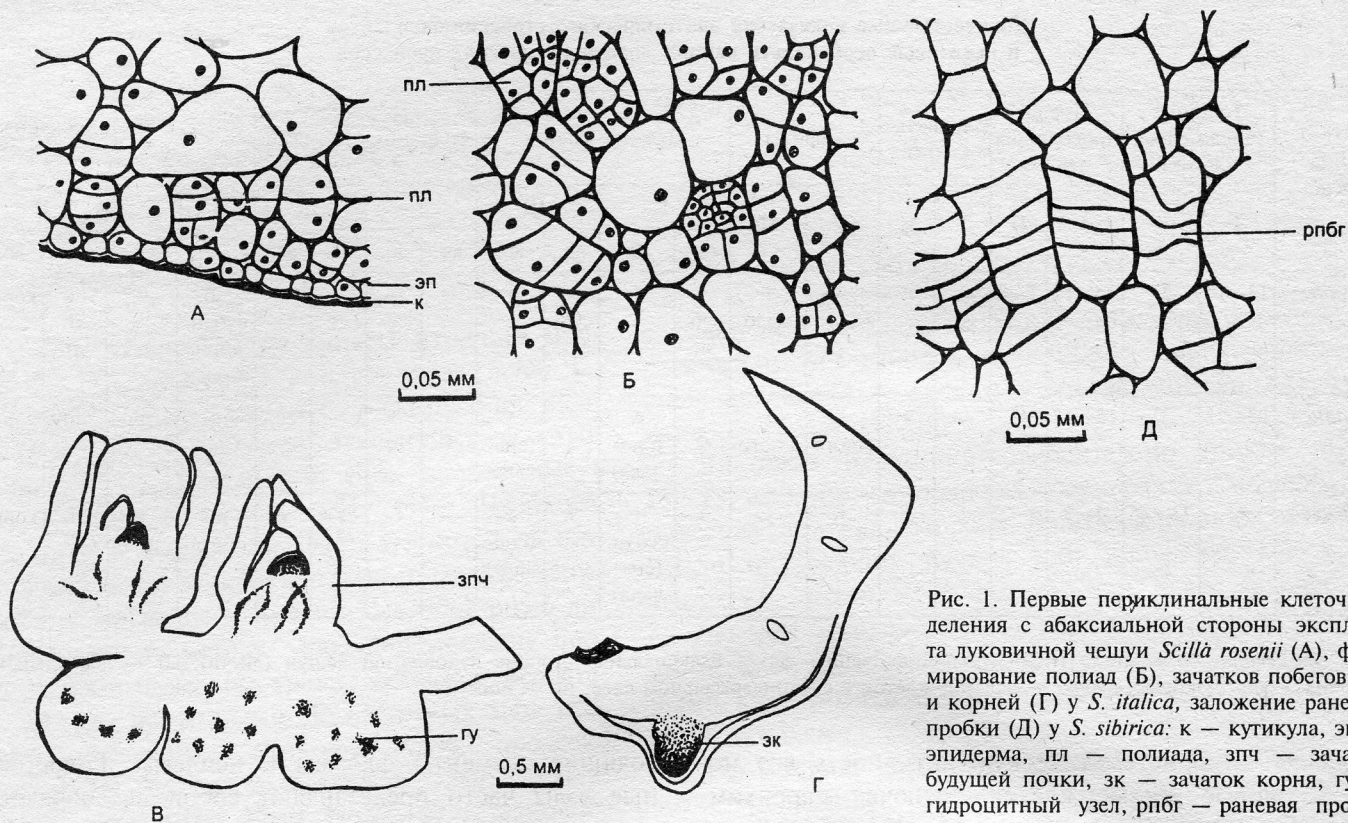


Рис. 1. Первые периклиальные клеточные деления с абаксиальной стороны экспланта луковичной чешуи *Scilla rosenii* (А), формирование полиад (Б), зачатков побегов (В) и корней (Г) у *S. italica*, заложение раневой пробки (Д) у *S. sibirica*: к — кутикула, эп — эпидерма, пл — полиада, зпч — зачаток будущей почки, зк — зачаток корня, гу — гидроцитный узел, рпбг — раневая пробка

экспланта (мезофилл, запасаящая паренхима, обкладки проводящих пучков) проявляют регенерационную активность. Исключение составляет эпидерма, клетки которой претерпевают лишь периклиальные деления, но непосредственного участия в формировании меристематических очагов не принимают.

Следовательно, наши данные относительно тотипотентности эпидермальных клеток при репродукции адвентивных органов *in vitro* отличаются от результатов исследований регенерации листовых черенков пролески сибирской *in vivo* с использованием в качестве субстрата влажного песка (Ярвекюльг, 1965). Согласно этому автору, адвентивные луковички возникают всегда экзогенно только из эпидермиса адаксиальной стороны листа. Относительно слабо выраженная регенерационная активность эпидермы, видимо, обусловлена ее более ранней и глубокой специализацией по сравнению с мезофиллом, быстрой утратой способности клеток к возобновлению меристематической деятельности, а также отсутствием достаточного энергетического источника в виде запаса питательных веществ. Не исключено, что высокая тотипотентность эпидермальных клеток в эксперименте Л.Я. Ярвекюльг (1965) была связана со слабой дифференциацией клеток эпидермы близ зоны интеркалярного роста листовых черенков, использованных автором.

Среди гистологических изменений, происходящих в эксплантах во время регенерации, обраща-

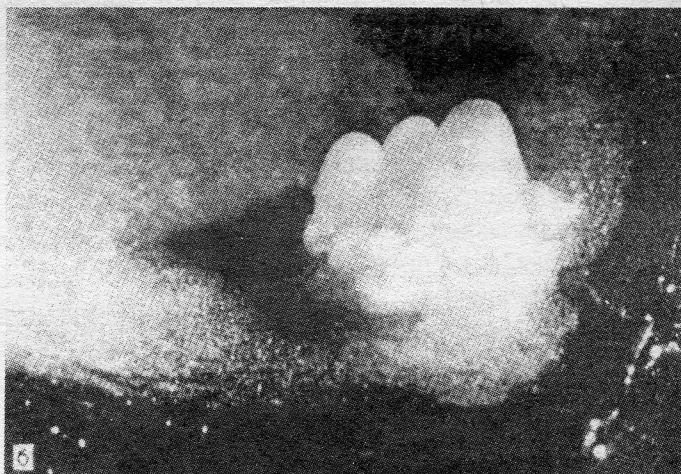
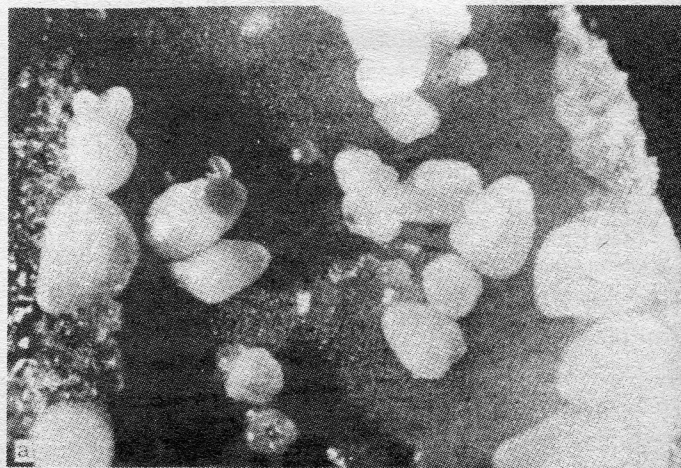


Рис. 2. Внешний вид заложившихся *de novo* множественных зачатков будущих луковичек: а — *Scilla sibirica*, б — *S. italica*

ет на себя внимание интенсивное формирование гидроцитной системы. Наиболее мощно развитая в луковичных чешуях, она обеспечивает перераспределение и мобилизацию энергопластических, а также биологически активных веществ, необходимых для дифференциации и дальнейшего развития *de novo* зачатков почек и корней. Зачатки почек, закладывающиеся исключительно эндогенно, быстро наращивают число метамеров и относительно рано укореняются. Эндогенность заложения меристематических зачатков обеспечивает защиту, а также

лучшие условия питания развивающихся *de novo* структур.

Отмеченная нами высокая регенеративная способность к репродукции адвентивных органов в культуре ткани у изученных пролесок, по-видимому, свойственна и другим видам этого рода, среди которых есть редкие и исчезающие. В связи с этим полученные результаты могут быть использованы при разработке технологии микроклонального размножения как пролесок, так и других декоративных мелколуковичных растений.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Гамалей Ю. В. 1978. Закономерности развития тканей листа: Автореф. докт. дис. Л. 43.

Румынин В. А., Слюсаренко А. Г. 1989. Масс-клональное размножение лилий // Бюл. Глав. бот. сада. № 153. 62—69.

Чурикова О. А., Румынин В. А., Барыкина Р. П., Слюсаренко А. Г. 1991. Некоторые особенности морфогенеза *in vitro* при масс-клональном размножении лилий // Бюл. Глав. бот. сада. № 159. 43—52.

Чурикова О. А. 1993. Некоторые особенности размножения гиацинта *in vitro* // Труды IV Молодежной конф. ботаников Санкт-Петербурга. С.-Петербург, 1992. Ч. 2. Деп. ВИНТИ 10.06.93. № 1622-В-93.

Чурикова О. А., Барыкина Р. П. 1995. Регенерационная способность некоторых луковичных и клубнелуковичных однодольных *in vitro*. Морфогенетический аспект // Вестн. Моск. ун-та. Сер. Биология. № 2. 58—66.

Чурикова О. А., Румынин В. А., Барыкина Р. П., Слюсаренко А. Г. 1994. Морфогенетические процессы в луковичных чешуях неко-

торых видов лилий в условиях масс-клонального размножения *in vitro* // Бюл. Глав. бот. сада. № 169. 105—111.

Ярвекюльг Л. Я. 1965. Некоторые данные о регенерации листовых черенков *Hyacinthus orientalis* L. и *Scilla sibirica* Andr. // Бот. журн. 50, № 9. 1305—1307.

Chakraborty S., Sen S. 1983. Chromosomal changes in scale leaf callus of diploid *Scilla indica* // Proc. Ind. Nat. Sci. Acad. B 50. 120—124.

Hussey G. 1975. Totipotency in tissue explants and callus of some members of the *Liliaceae*, *Iridaceae*, *Amaryllidaceae* // J. Exp. Bot. N 26. 253—262.

Murashige T., Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture // Physiol. Plant. 15, N 2. 473—497.

Тао Yuan Hua. 1991. Размножение *Scilla violacea* // Plant Physiol. Commun. 27, N 3. 206—207.

Yanagawa T., Sakanishi Y. 1980. Studies on the regeneration of excised bulb tissues of various tunicated-bulbous ornamentals. I. Regeneration capacity of the segments from different parts of bulb scales // J. Jap. Soc. Hort. Sci. 48. 495—502.

Поступила в редакцию
17.06.1999

THE PECULIARITY OF MORPHOGENESIS IN SOME *SCILLA* L. SPECIES *IN VITRO*

R.P. Barykina, O.A. Churikova

The results of the comparative morphoanatomical study of regeneration in bulb scale and leaf explants of 3 species of *Scilla* are given. The early stages of morphogenesis, peculiarities of initial cell divisions, differentiation of hydrocyte system and adventive structures, cork tissue formation are described, the features of similarity and specific differences being revealed. Practically all alive tissues of explant display the regeneration activity. Epidermis doesn't take immediate part in *de novo* shoot apex formation.