

УДК 575:631.5271

Л.И. Тихомирова

L.I. Tikhomirova

АНАТОМИЧЕСКОЕ СТРОЕНИЕ КОРНЕВИЩА *IRIS HYBRIDA* HORT. В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO*

ANATOMIC STRUCTURE OF *IRIS HYBRIDA* HORT. ROOTS IN CULTURE *IN VITRO*

Концентрация 6-БАП и использование различных схем культивирования влияют на анатомическое строение корневища *Iris hybrida* в культуре *in vitro*. Использование высоких концентраций цитокинина приводило к угнетению меристематической активности при 2,5 мкМ и витрификации при 5,0 мкМ 6-БАП. Чередование содержащих гормоны и безгормональных сред способствовало активному заложению зачатков побегов.

Методы гистологического анализа позволяют изучать морфогенез на тканевом уровне, а также управлять процессами регенерации, происходящими в эксплантах в культуре *in vitro*. Большинство анатомических исследований растений, выращенных *in vitro*, охватывают три основных аспекта: во-первых, фазы инициации меристем и их развитие в верхушечные почки либо в корни; во-вторых, фазы соматического эмбриогенеза и развивающегося растения; в-третьих, – анатомических и гистологических изменений при деформации и гипергидрировании (витрификации) в органах растений *in vitro* и после того, как они будут пересажены в условия *ex vitro*.

У. Vieth (Канада) проведено анатомо-морфологическое исследование непрямого соматического эмбриогенеза у трёх видов *Iris*. В качестве эксплантов использовали корни. Был получен морфогенный каллус и регенерированы соматические эмбриониды. Развитие каллуса наблюдали в области перцикла. Каллус имел различную толщину и был цитологически неоднородным. В толще каллуса развивались проэмбриональные структуры, которые прорастали в эмбриониды (Vieitez et al., 1985).

Цель нашей работы – изучить анатомическое строение корневища *Iris hybrida* hort. в культуре *in vitro* в зависимости от состава питательных сред и схем культивирования.

Объекты, методы и условия исследований. Объекты исследований – сорта и гибриды *I. hybrida* селекции НИИСС им. М.А. Лисавенко.

Экспериментальные работы с использованием метода культуры тканей проведены по общепринятым методикам (Калинин и др., 1980). На этапе собственно микроразмножения для *I. hybrida* использовали питательные среды, содержащие 1.0, 2.5 и 5.0 мкМ 6-БАП, а также среды, содержащие такие концентрации цитокинина, дополненные 0,1 мкМ НУК и 0,1 мкМ ИМК. Одновременно были поставлены опыты по использованию разных схем культивирования.

Растения выращивали в лабораторных условиях при искусственном освещении (2000–4000 лк) в условиях фотопериода: 16/8 часов свет/темнота и температуре 24–26 °С.

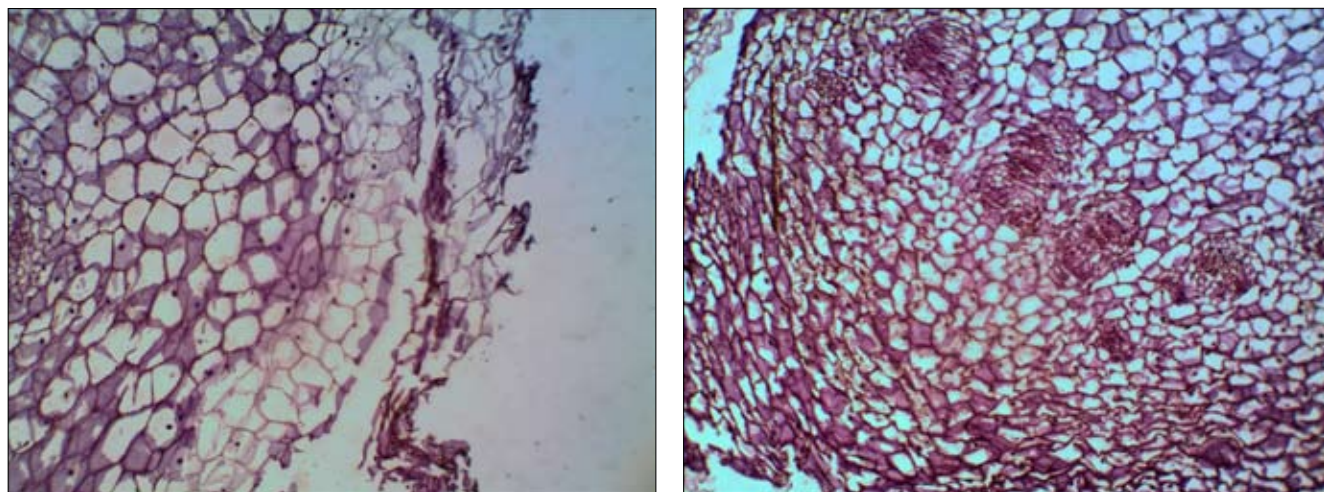


Рис. 1. Интактное растение *Iris hybrida*: а) опробковевшие наружные слои эпидермиса (увел. 10×40), б) первичная кора (увел. 10×10).

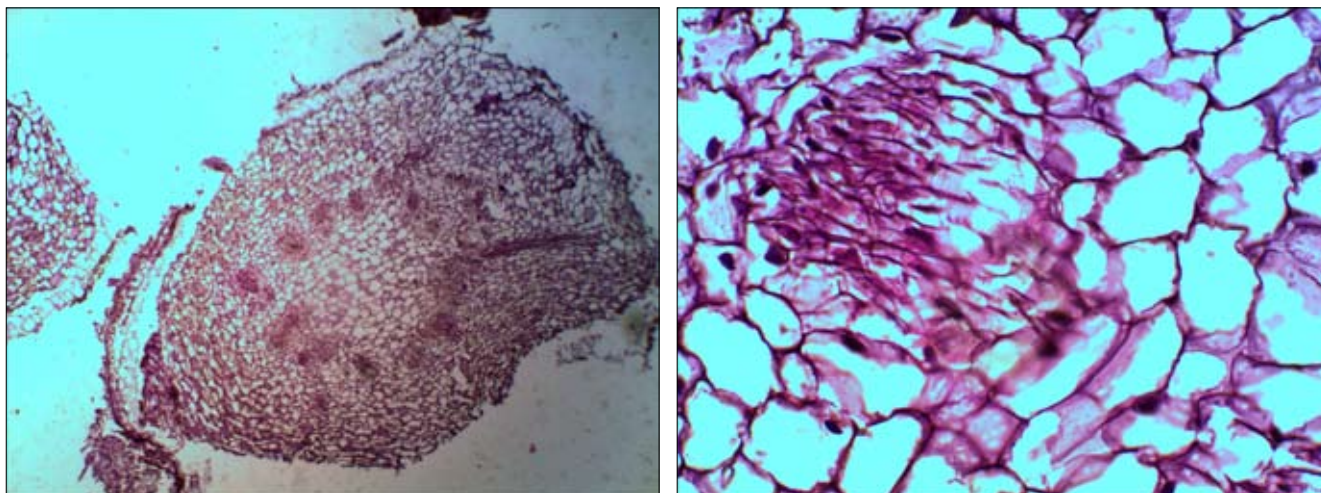


Рис. 2. Интактное растение *Iris hybrida*: а) увел. 10×10, б) проводящий пучок (увел. 10×40).

Анатомическое строение эксплантов изучали на постоянных препаратах, изготовленных по общепринятой методике (Барыкина и др., 2004).

Результаты и их обсуждение. Анатомическая структура подземного побега – корневища определяется его функциональным назначением, способностью транспортировать и запасать питательные вещества, формировать банк подземных меристем. Анализируя данные литературы и собственные результаты, можно отметить, что анатомическое строение корневищ ириса обусловлено многолетним развитием, запасующей функцией и снижением опорной нагрузки.

Для корневищ растений-сеянцев *I. hybrida* характерно примерно одинаковое развитие запасующей паренхимы и проводящих тканей. Корневище покрыто перидермой, наружные слои которой постепенно отслаиваются. Так как ирис – однодольное растение, здесь имеет место превращение основной паренхимы в защитную ткань путём опробковения (суберинизации) её клеток. Количество слоёв покровной ткани варьирует в связи с возрастом растения. У *I. sibirica* и *I. ensata* первичная кора отделена от центрального цилиндра кольцом склеренхимы. Для *I. hybrida* наличие такого кольца не характерно (рис. 1).

По окружности центрального цилиндра расположены закрытые коллатеральные проводящие пучки. Так как побег находится в стадии роста, хорошо заметны развивающиеся адвентивные побеги (рис. 2).

У *I. hybrida* сорт Chardette на питательных средах, содержащих 1,0 мкМ 6-БАП, коэффициент размножения составил 2,2, а среднее значение высоты растений равно 48,44 мм. На продольном анатомическом срезе корневища хорошо просматривается основная паренхима, наружный слой первичной коры состоит из опробковевших клеток. В пазухе листа развивается адвентивный побег. Отмечена активизация клеточных делений в зоне центрального цилиндра, там же были обнаружены единичные гидроцитные клетки (рис. 3)

На питательных средах, содержащих 2,5 мкМ 6-БАП, у *I. hybrida* при гистологическом исследовании было обнаружено слабое побегообразование, коэффициент размножения составлял 1,15. На базальной части побега при продольном срезе была обнаружена защитная пробка из некротизированных тканей. Пазушные почки и придаточные корни закладывались одновременно. В клетках паренхимы были видны крахмальные зёрна (рис. 4).

При чередовании питательных сред, содержащих 2,5 мкМ 6-БАП, и безгормональной среды на основе MS на поперечном срезе отчётливо видны основные ткани побега. В наружных слоях первичной коры некротизированные клетки образуют защитную пробку из эпидермы и паренхимы. Паренхимная ткань первичной коры более глубоких слоёв хорошо прокрашена, представлена клетками почти округлой формы. Ближе к центральному цилиндру несколько слоёв клеток образуют слабоокрашенную зону. В области центрального цилиндра отмечена активная побегообразовательная деятельность.

При добавлении ауксинов в питательные среды, содержащие 2,5 мкМ 6-БАП, побегообразовательная деятельность у *I. hybrida* сорт Chardette оставалась на прежнем уровне. Коэффициент размножения составлял 1,38. При анатомическом исследовании побегов отличий связанных с введением ауксинов обнаружено не было.

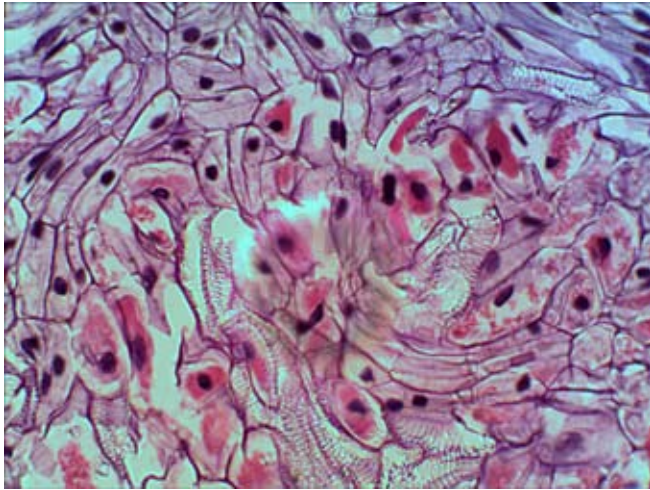


Рис. 3. Внутреннее строение побега *Iris hybrida* сорт Chardette на питательной среде, содержащей 1,0 мкМ 6-БАП, единичные гидроциты (увел. 10×40).

Среды, содержащие 5,0 мкМ 6-БАП, оказывали токсическое действие на побеги *I. hybrida*. Растения на данных средах плохо размножались, имели угнетённый вид и со временем гибли. Введение ауксинов несколько сглаживало токсический эффект высоких доз цитокинина, но в последующих пассажах происходила витрификация. На поперечных срезах корневища при гистологическом анализе определялась хорошо окрашенная паренхима первичной коры и центрального цилиндра. Поверхностные слои первичной коры состоят из некротизированных тканей. В более глубоких слоях паренхимы первичной коры определяются зоны меристематической активности и зачаточные побеги. Более активно регенерационные процессы идут в области центрального цилиндра. Но рост адвентивных побегов отмечен в слабой степени, коэффициент размножения на данных питательных средах составил 1,4, при средней высоте побегов 63,2 мм. Вероятно, большая часть зачаточных побегов не имеет возможности развиваться в нормальные побеги ввиду высокой концентрации 6-БАП.

Использование схемы культивирования с чередованием сред позволило повысить коэффициент размножения в среднем до 2,28 при высоте растений 70,0 мм. На анатомических срезах отмечен гемогенез высокой степени. Зачаточные побеги формируются в области первичной коры и центрального цилиндра. Исключение гормональной нагрузки в последующем пассаже позволяет зачаткам развиваться в морфологически нормальные адвентивные побеги.

Заключение. Таким образом, изучая действие разных концентраций 6-БАП и схем культивирования на изменение анатомического строения побегов *I. hybrida* в культуре *in vitro*, было отмечено, что наиболее близким к интактным растениям является строение побегов, выросших на средах, содержащих 1,0 мкМ 6-БАП. Использование более высоких концентраций цитокинина приводило к угнетению меристематической активности при 2,5 мкМ и витрификации при 5,0 мкМ 6-БАП. Чередование сред, содержащих гормоны, и безгормональных сред повышало регенерационную способность побегов.

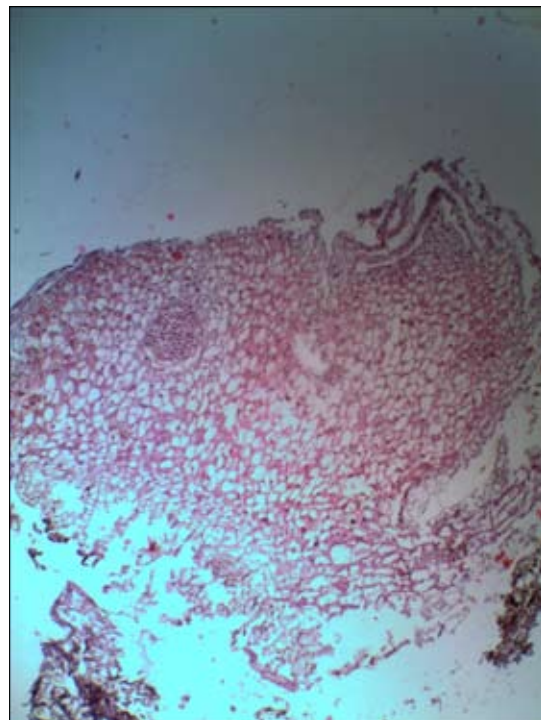


Рис. 4. Внешнее и внутреннее строение побега *Iris hybrida* сорт Chardette на питательной среде, содержащей 2,5 мкМ 6-БАП: а) побег, б) продольный срез (увел. 10×10).

ЛИТЕРАТУРА

Барыкина Р.П., Веселова Т.Д., Девятков А.Г. Справочник по ботанической микротехнике. Основы и методы. – М.: МГУ, 2004. – 312 с.

Калинин Ф.Л., Сарнацкая В.В., Полищук В.Е. Методы культуры в физиологии и биохимии растений. – Киев, 1980. – 488 с.

Veitez A.M., Ballester A., San-Jose M.C., Veitez E. Anatomical and chemical studies of vitrified shoots of chestnut regenerated *in vitro* // *Physiol. Plant*, 1985. – Vol. 65. – P. 177–184.

SUMMARY

Concentration of 6-BAP and application of different cultivation diagrams influence on anatomic structure of *Iris hybrida* roots in culture *in vitro*. Application of high cytokinin concentrations depressed meristematic activity at 2.5 mkM and vitrification at 5.0 mkM of 6 BAP. Interchanging of media containing hormones and media without hormones contributed to initiation of shoots embryo.