

and tissue cultures were rich in stigma sterol, fucosterol, esters of steroids and triterpenoids as well as in admixture of amirine and possibly ubiquinone-9. Secondary metabolites synthesized in the cell suspension of cotton are of interest in connection with the possibility to use suspension in biotechnology for obtaining different biologically active substances or their sum in specific proportions.

УДК 581.343.6:633.511

О. Я. Весманова, С. Н. Зуева, А.-К. Э. Эргашев

## ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ КЛЕТОК КАЛЛУСНОЙ ТКАНИ ХЛОПЧАТНИКА

*Изучены цитологические особенности ткани хлопчатника вида *Gossypium arboreum* L., культивируемой *in vitro*. Проведен анафазный анализ хромосомных нарушений при длительном культивировании ткани. Изучены спектры хромосомных чисел и их изменение в ранних и последующих пассажах культивирования.*

**Введение.** Каллусная ткань хлопчатника вида *Gossypium arboreum* L. была впервые получена в работе [1]. Изучение действия различных регуляторов роста в культуре данного вида проводилось ранее [2].

В литературе показано, что для большинства культур клеток растений *in vitro* характерна генетическая гетерогенность, высокая хромосомная изменчивость [3—7]. При длительном культивировании меняется спектр хромосомных чисел клеток, морфология хромосом и т. д. [8, 9]. Однако сравнительные цитогенетические особенности клеток ткани хлопчатника *in vitro* и *in vivo* изучены крайне слабо. Целью данного исследования явилось изучение цитогенетических особенностей гипокотильного каллуса *G. arboreum* L. при длительном культивировании.

**Материалы и методы.** Каллусную ткань получали из отрезков гипокоты стерильных проростков *G. arboreum* var. *salvinum* L. Проростки и ткани культивировали при люминесцентном освещении лампами дневного света (3,5 клк, фотопериод 16 ч) и температуре  $30 \pm 2$  °С. Среда для индукции каллусогенеза и дальнейшего культивирования состояла из минеральной части по Мурасиге-Скугу, инозита (100 мг/л), тиамина·HCl (0,4 мг/л), глюкозы (3 %), агар-агара (0,75 %), рН 5,7,  $\alpha$ -нафтилуксусной кислоты (НУК,  $1 \cdot 10^{-6}$  М), N-фенил-N-(1, 2, 3-триазазол-5) мочевины (дефолиант «дропп» фирмы «Schering», ФРГ,  $1 \cdot 10^{-6}$  М).

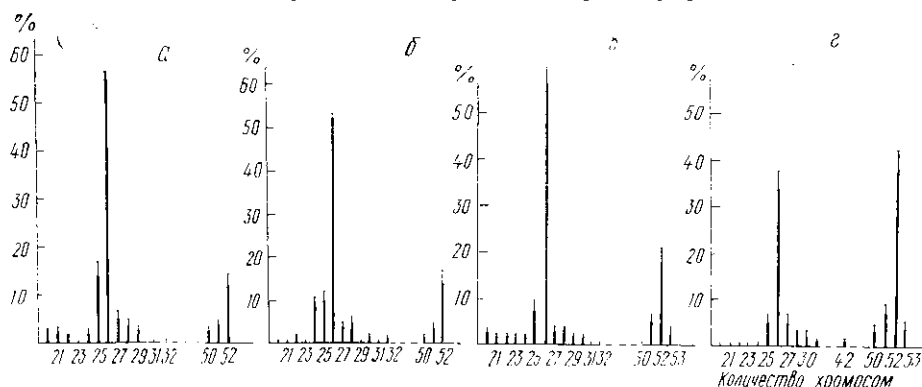
Ткани исследовали в течение 16 пассажей культивирования. Фиксацию (в фиксаторе Кларка) производили на 21-й день культивирования каждого пассажа. В качестве красителя использовали ацетожезегематоксилин. Изменения генома анализировали мета- и анафазными методами при увеличении  $60 \times 10 \times 2,5$  и  $90 \times 10 \times 2,5$ .

*Анафазный анализ хромосомных нарушений в ткани хлопчатника вида *G. arboreum* L.  
Anaphase analysis of chromosomal breach in tissue of cotton species *G. arboreum* L. during*

Пассаж	Количество изученных клеток	Клетки с абберациями		Типы хромосомных			
		Число	% $\pm m$	Отстающие хромосомы	Множественные отстающие хромосомы	Делеции	Множественные делеции
1-й	515	41	7,96 $\pm$ 1,19	1,55	1,36	1,36	0,39
2-й	700	71	10,14 $\pm$ 1,14	2,14	1,29	1,43	1,43
3-й	639	62	9,70 $\pm$ 1,17	2,82	0,94	1,56	1,25
11-й	597	85	14,24 $\pm$ 1,43	2,18	1,68	1,01	0,67
Контроль	1178	29	2,46 $\pm$ 0,45	0,61	0,09	0,35	0,26

Примечание. Контролем служили клетки меристемной ткани растений. Разница с

**Результаты и обсуждение.** Исследовали каллусную ткань рыхлого типа зеленой окраски с высоким темпом роста. Цитологический анализ показал, что ткань представлена однородной популяцией недифференцированных клеток с отдельными дифференцированными участками. Начиная с 1-го пассажа закладываются трахеальные элементы разного возраста и конфигурации. На 1—2-м пассажах это, в основном, одиночные вытянутые, специфически спирально структурированные клетки и



Спектр хромосомных чисел в культуре ткани *G. arboreum* L. при длительном культивировании: а — в — 1—3-й; г — 11-й пассажи

Spectrum of chromosomal numbers in tissue culture *G. arboreum* L. during prolonged cultivation: а — в — 1st-3d passages, г — 11th passage

кольцевые структуры, состоящие из 5—10 клеток. Происходит утолщение клеточной стенки, лигнификация и отмирание клетки. На более поздних пассажах наряду с вновь возникающими трахеидами имеются сформировавшиеся сосудистые пучки и число их последовательно увеличивается от пассажа к пассажи. Нарастание числа трахеид при длительном культивировании свидетельствует о прохождении в каллусной ткани процессов дифференцировки и гистогенеза.

Начиная с 1-го пассажа появляются крупные клетки (в 2—3 раза превосходящие размерами делящиеся клетки), заполненные крахмальными зернами. В процессе культивирования число клеток этого типа, а также плотность заполнения их зернами крахмала значительно нарастают.

В общей массе клеток встречаются компактные участки, представленные мелкими, сильно окрашивающимися гематоксилином клетками, близкими по форме и строению к клеткам меристемной ткани. Предположительно — это зона морфогенеза, что подтверждается обнаружением в ряде подобных зон образования одноклеточных волосков, заостренных к периферии и уплощенных в основании, несущих неизвестную функцию, возможно, функцию всасывания.

при культивировании *in vitro*  
cultivation *in vitro*

нарушений							Достоверность различий
" Микро-фрагменты	Множественные микро-фрагменты	Хроматидные мосты	Множественные хроматидные мосты	Хромосомные мосты	Множественные хромосомные мосты	Амитоз	
0,97	0,58	0,39	0,19	0,39	0,78	—	1—2-й — $p > 0,05$
1,57	0,86	0,43	0,43	0,29	0,29	—	2—3-й — $p > 0,05$
0,94	0,78	0,31	0,47	0,31	0,31	—	3—11-й — $0,01 < p < 0,05$
1,01	0,84	0,50	0,67	0,34	0,34	5,03	
0,88	0,09	—	0,09	0,09	—	—	1—11-й — $p < 0,001$

контролем  $p < 0,001$ .

Анализ структурных aberrаций хромосом анафазным методом показал (таблица), что при культивировании *in vitro* в ткани достоверно нарастает число клеток с aberrациями по сравнению с контролем (клетки меристемы растения *in vivo*). В спектре нарушений встречаются хроматидные и хромосомные aberrации. Это, в основном, одиночные и множественные отстающие хромосомы, делеции и микрофрагменты. Различия по числу клеток с нарушениями между первыми пассажами культивирования статистически недостоверны, однако длительное пассирование ведет к достоверному нарастанию процента aberrантных клеток. При длительном культивировании возникает значительное число двуядерных клеток, клеток с неравноценными или несинхронно делящимися ядрами, встречается амитоз и другие аномалии деления.

Карпологиический анализ метафазным методом показал, что ткань хлопчатника *in vitro* характеризуется дестабилизацией генома, сильной генетической гетерогенностью (рисунок). Исходное число хромосом  $2n=26$  сильно варьирует, возникают анеуплоидные, тетраплоидные клетки. Следует отметить, что при длительном культивировании происходят качественные изменения спектра хромосомных чисел. Так, в первых пассажах культивирования (рисунок, а—в) большинство клеток имеет характерное для вида число хромосом  $2n=26$ , имеется также определенная доля анеуплоидных клеток, постепенно нарастает от 1-го к 3-му пассажу число тетраплоидных клеток  $4n=52$ . При длительном пассировании ткани (рисунок, г) более половины клеток становятся тетраплоидными. Клеточная популяция длительно культивируемой ткани представлена диплоидными и тетраплоидными клетками в равном количестве или с большим числом тетраплоидных клеток; варьирование спектра хромосомных чисел идет в пределах двух основных:  $2n=26$  и  $4n=52$ .

Одной из причин наблюдаемой гетерогенности культуры ткани *G. arboreum* L. может быть различное тканевое происхождение первичных каллусных клеток [10]. Сами условия культуры, в частности уровень фитогормонов, могут вызывать гетерогенность ткани. Кроме этого, хромосомная изменчивость определяется генотипом и различается у видов и сортов растений в культуре [6].

Таким образом, для ткани хлопчатника вида *G. arboreum* L. *in vitro* характерен высокий уровень гетерогенности как по составу клеток, так и по спектру хромосомных чисел. Наблюдается большой процент клеток с хромосомными aberrациями. Гетерогенность ткани увеличивается при длительном культивировании.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Price H. J., Smith R. H., Grumbles R. M. Callus cultures of six species of cotton (*Gossypium* L.) of defined media // Plant Sci. Lett.—1977.—10, N 2.—P. 115—119.
2. Лев С. В., Ходжаева Г. А., Мусаев Д. А. Регуляторы роста для культуры ткани некоторых видов рода *Gossypium* // Докл. АН УзССР.—1985.—№ 6.—С. 52—53.
3. D'Amato F. Frontiers of plant tissue culture.—Calgary: IAPTC, 1978.—295 p.
4. D'Amato F. Applied and fundamental aspects of plant cell, tissue, and organ culture.—Berlin: Springer, 1977.—357 p.
5. Sunderland N. Plant tissue and cell culture.—Oxford: Blackwell, 1973.—190 p.
6. Глеба Ю. Ю., Сытник К. М. Слияние протопластов и генетическое конструирование высших растений.—Киев: Наук. думка, 1982.—104 с.
7. Baserga R. The biology of cell reproduction.—Harvard: Univ. press, 1985.—400 p.
8. Зосимович В. П., Кунах В. А. Уровень, типы и происхождение aberrаций хромосом в культуре изолированных тканей растений // Генетика.—1975.—№ 6.—С. 37—46.
9. Фролова Л. В. Особенности популяций культивируемых клеток // Культура клеток растений.—М.: Наука, 1981.—167 с.
10. Клеточная инженерия / Р. Г. Бутенко, М. В. Гусев, А. Ф. Киркин и др.—М.: Высш. шк. 1987.—127 с.

Ин-т эксперим. биологии растений АН УзССР, Ташкент

Получено 05.07.88

## CYTOGENETICAL VARIABILITY OF COTTON CALLUS TISSUE CELLS

O. Ya. Vesmanova, S. N. Zueva, A.-K. E. Ergashev

Institute of Experimental Biology of Plants,  
Academy of Sciences of the Uzbek SSR, Tashkent

### Summary

The cytogenetical peculiarities of *Gossypium arboreum* L. hypocotyle callus are studied during prolonged cultivation (in 16 passages). It can be seen, that callus tissue of this cotton species is presented as homogenous cell population with some differentiated sites. Prolonged passing of the tissue is shown to result in true increase of aberrating cells percent. Chromatide and chromosome aberrations are revealed in disturbance spectrum. Cotton tissue in vitro is characterised by a significant genetic heterogeneity, while during prolonged cultivation there are qualitative changes of chromosome number spectrum.

### Вниманию подписчиков!

---

ВСЕСОЮЗНЫЙ НАУЧНО-ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ ОТДЕЛЕНИЯ БИОХИМИИ,  
ФИЗИОЛОГИИ И ТЕОРЕТИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ АН УССР

---

# БИОПОЛИМЕРЫ И КЛЕТКА

---

Публикует результаты фундаментальных и прикладных исследований взаимосвязи структуры и функции биополимеров, их взаимодействия при образовании и функционировании надмолекулярных структур, участия биополимеров в таких процессах, как регуляция экспрессии генетической информации, дифференцировка, онкогенез, взаимодействие клетка—вирус и т. д., а также направленного изменения генотипа и фенотипа клетки.

В журнале представлены рубрики: «Структура и функция биополимеров», «Клеточная биология», «Геном и его регуляция», «Молекулярные механизмы дифференцировки», «Вирусы и клетка», «Генноинженерная биотехнология». Оперативная публикация приоритетных материалов осуществляется в рубрике «Краткие сообщения». Открыта новая рубрика «Дискуссии».

Кроме оригинальных статей, публикуются обзорные статьи, хроника, информация о съездах и конференциях, рецензии.

Журнал рассчитан на научных работников, преподавателей вузов, специалистов в области биологии, медицины и сельского хозяйства, ведущих исследования по проблемам молекулярной и клеточной биологии и генетической инженерии.

Периодичность — 6 номеров в год. Подписная цена на 12 мес. 7 руб. 80 коп. Цена одного экземпляра 1 руб. 30 коп.

Индекс 70200.

Подписка принимается в агентствах и отделениях «Союзпечать», отделениях связи и общественными распространителями печати.