

*Т. И. Фоменко, М. К. Малуш,
Центральный ботанический сад НАН Беларуси, г. Минск*

ВИДОВЫЕ ОСОБЕННОСТИ ЛЮПИНА ПРИ КАЛЛУСО- И МОРФОГЕНЕЗЕ В КУЛЬТУРЕ ТКАНИ IN VITRO

Изучение бобовых в культуре ткани *in vitro* направлено на выявление видов с высоким уровнем органо-генеза. Разработке методов соматического эмбриогенеза с характеристикой конкретных этапов на морфогенетическом и биохимическом уровне уделяется значительное внимание. Исследуется влияние фитогормонов на индукцию, пролиферацию каллусной ткани и морфогенетическую реакцию на различных этапах культивирования. Генетическая изменчивость обуславливает проведение исследований не только на организменном, но и на клеточном и молекулярном уровнях. Анализ работ по культуре тканей и клеток бобовых показывает разноплановость целей и задач, видовое и сортовое разнообразие материала, широкую вариабельность состава питательных сред и эксплантов. Однако накопленный фактический материал по культуре люпина *in vitro* не позволяет дать однозначного ответа об оптимальном составе питательных сред для получения каллусо- и морфогенеза конкретного генотипа.

Целью наших исследований являлось изучение особенностей развития тканей люпина в культуре *in vitro*. Формирование каллуса и регенерацию растений изучали у четырех видов люпина: многолистный (*Lupinus polyphyllus*), многолетний (*L. perennis*), узколистный (*L. angustifolius*) и желтый (*L. luteus*). На тканевых эксплантах листа, эпикотилия, гипокотилия и семядолей исследовали влияние ИУК, 2,4-Д, БАП, α -НУК и кинетина на инициацию каллуса и скорость его пролиферации в интервале концентраций гормонов 0,5—5 мг/л. Оценку результатов проводили каждую неделю по следующим показателям: изменение цвета экспланта, формы и размера, интенсивность изгиба, активность инициации каллуса и интенсивность его образования. Было исследовано 16 вариантов питательных сред, отличающихся по гормональному составу.

По способности каллусообразования эксплантов листа и гипокотилия при использовании среды, содержащей 1 мг/л α -НУК, 1 мг/л 2,4-Д, 1 мг/л БАП, виды люпина можно расположить в следующий убываю-

ший ряд: многолистный, узколистый, желтый, многолетний. При этом масса каллуса при одинаковом сроке культивирования у люпина многолетнего составила около 50 % по отношению к люпину многолистному. Инициация каллуса быстрее проявлялась на тканях эпикотилия и гипокотилия по сравнению с листом и семядолей, причем каллус на эксплантах гипокотилия нарастал интенсивнее. Индукция каллуса происходила как на свету, так и в темноте, однако характер роста и тип формирующегося каллуса зависели от условий культивирования. На свету наблюдали образование плотного зеленого или рыхлого глобулярного светло-салатового каллуса, тогда как в темноте пролиферировала рыхлая светло-желтая ткань. Для тканей эпикотилия и гипокотилия имеет значение полярность экспланта с наиболее ярко выраженным эффектом у люпина желтого. Ткань семядоли различных видов проявляет себя неоднозначно. Активное развитие отмечено для люпина многолетнего на среде МС, содержащей 1—2 мг/л 2,4-Д, для люпина узколистого и многолистного на среде с 0,5—1,0 мг/л α -НУК, 2,4-Д, БАП.

Микроскопические исследования инициации каллусообразования показали, что меняется коррелятивный механизм деления, но неупорядоченно делящиеся клетки еще сохраняют структуру, присущую тканям экспланта, и лишь после серии делений приобретают особенности каллусной ткани. Установлено, что в инициации каллуса листа принимают участие отдельные клетки верхнего эпидермиса и столбчатой паренхимы мезофилла листа с последующим расширением процесса. В рост пассируемого каллуса вовлекаются клетки всех тканей.

Рассматривая состояние пассируемых культур тканей люпина, можно отметить ряд особенностей. Так, при длительном культивировании на развитии ткани сказывается состав среды инициации каллуса. Например, бело-желтый каллус семядоли при развитии на свету получен только при инициации на среде, содержащей БАП, α -НУК, 2,4-Д, и не отмечено аналогичное развитие на среде с содержанием БАП и α -НУК. Экспланты эпикотилия формировали ярко-зеленый каллус, морфологически адекватный темно-зеленому медленно растущему каллусу гипокотилия. Каллус семядоли в нулевом и первом пассаже отличался высокой скоростью пролиферации, превышающей скорость роста каллуса гипокотилия и эпикотилия в 2,5—3 раза, что требовало пассирования через 2—3 недели, и при задержке пересадки возникал быстрый некроз ткани. В последующих пассажах скорость роста каллусов на одинаковых средах в основном выравнивалась.

Побегообразование было получено на каллусной ткани гипокотилия люпина многолистного. При переносе первичного каллуса на среду с относительно высокой концентрацией цитокининов (3—5 мг/л БАП) и низкой концентрацией ауксинов (0,1—0,2 мг/л) наблюдали появление адвентивных почек и побегов. Отмечено также прямое образование побегов не из каллуса, образующегося по периферии экспланта, а из не успевших полностью дедифференцироваться тканей гипокотилия. Побеги укореняли на среде с половинным содержанием солей МС, включающей 0,2 мг/л ИУК и α -НУК. Растения люпина, полученные в культуре *in vitro*, нормально развивались при переносе в почву.

Т**Б****П**