

УДК 582.475.2'4:583.143.6:4:183.143.6

## **ВЛИЯНИЕ ПРИРОДНЫХ И СИНТЕТИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ ЦИТОКИНИНОВОГО ТИПА ДЕЙСТВИЯ НА ОБРАЗОВАНИЕ АДВЕНТИВНЫХ ПОЧЕК В КУЛЬТУРЕ ИЗОЛИРОВАННЫХ ЗАРОДЫШЕЙ PINUS SILVESTRIS (L.) И PICEA ABIES (L.) KARST**

**Е. А. КАЛАШНИКОВА**

(Кафедра с.-х. биотехнологии)

Зрелые зародыши сосны обыкновенной и ели обыкновенной культивировали на агаризованных питательных средах, содержащих разную минеральную основу. Присутствие в среде зеатина в различных концентрациях значительно стимулировало заложение и образование адвентивных почек. Однако этот процесс происходил асинхронно и в разных клеточных слоях. У сосны обыкновенной он осуществлялся непосредственно в эпидермальном и субэпидермальном клеточных слоях семядолей зародыша, у ели — в каллусной ткани зародышей.

В последние годы все чаще стали появляться научные публикации, касающиеся клонального микроразмножения древесных пород, в том числе и хвойных, имеющих большую ценность для народного хозяйства. Авторы этих работ отмечают зависимость морфогенеза от гормональных, физических и трофических факторов выращивания, а также от физиологического состояния первичного экспланта [2, 4, 9]. По данным ряда исследователей [2, 3, 6, 9 и др.], растения, находящиеся на ювенильном этапе развития, обладают большими морфогенетическими потенциями, чем

дифференцированные ткани взрослых растений. В связи с этим основная часть экспериментов была проведена с изолированными зрелыми зародышами или 10—20-дневными проростками [5, 6, 8]. В большинстве случаев клональное микроразмножение осуществляется путем индукции образования адвентивных почек непосредственно в тканях первичного экспланта под воздействием цитокининов или их сочетаний с ауксином [1, 9]. Однако следует отметить, что подобранные в результате экспериментов оптимальные концентрации гормонов для одного ви-

да не всегда могут быть эффективными для другого. Так, для некоторых видов хвойных, таких, как сосна обыкновенная, ель обыкновенная, биота восточная, туя западная, секвойя вечнозеленая, эффективное действие на индукцию заложения почек оказали невысокие концентрации 6-бензиламинопурина (БАП) или кинетина в сочетании с индолил-3-уксусной кислотой (ИУК) [6, 8, 15]. В то же время при работе с секвойей [11] была выявлена способность этого вида хвойных индуцировать почки на среде и без эндогенных регуляторов роста. Из этого следует, что выбор гормона и его концентрации должен проводиться индивидуально для каждого вида и тем более рода растений.

Несмотря на огромное число работ, посвященных изучению особенностей индукции заложения адвентивных почек на первичном экспланте, ни в одной из них не содержалось достаточно подробного описания цитологических особенностей формирования почек под влиянием различных цитокининов [7, 10, 13, 17, 18]. Прежде всего это относится к исследованиям главных лесобразующих пород нашей страны — сосне обыкновенной (*Pinus silvestris* (L.) и ели обыкновенной (*Picea abies* (L.) Karst.), исследование клонального микроразмножения которых, можно сказать, находится на стадии становления.

В соответствии с этим целью настоящей работы было сопоставление физиологических и цитологических особенностей формирования адвентивных почек на изолированных зрелых зародышах *P. silvestris* и *P. abies* под влиянием соединений цитокининового типа действия в условиях *in vitro*.

#### Методика

Семена *P. silvestris* и *P. abies*, относящиеся к I классу качества

и обладающие 96—98 % всхожестью, были собраны в Московской области в 1984 г. Их стерилизовали 0,1 % раствором диоксида в течение 20 мин, промывали 3 раза стерильной дистиллированной водой и оставляли на ночь в воде, что обеспечивало их набухание и облегчало процесс вычленения зародышей. Изолирование зародышей проводили с помощью металлических инструментов в стерильных условиях, а посадку их осуществляли горизонтально на агаризованную питательную среду. Для зародышей сосны использовали модифицированную питательную среду Грехофа и Доу (ГД) [12], содержащую инозит 100 мг/л, тиамин-НСI, никотиновую кислоту и пиридоксин-НСI — по 1 мг каждого на 1 л, сахарозу — 2 %, агар — 0,7 %, а для зародышей ели — питательную среду по Мурасиге и Скугу (МС) [14], содержащую биологически активные вещества (инозит — 100 мг/л, тиамин-НСI — 5 мг/л, никотиновую кислоту — 5 мг/л, пиридоксин-НСI — 0,5 мг/л, сахарозу — 2 %), а также агар — 0,7 %. рН питательной среды во всех вариантах доводили до 5,6—5,8 перед автоклавированием 0,1 н. раствором КОН или НСI.

Для индукции образования адвентивных почек в питательные среды добавляли природные и синтетические соединения цитокининового типа действия: 6-(4-окси-3-метилтранс-2-бутениламино)пурин (зеатин), 6-изопентениламинопуридин (2 ip), 6-бензиламинопуридин (БАП), 6-фурфуриламинопуридин (кинетин), N-(1,2,3-тиадиазолил-5)-N-фенилмочевину (Дропп), N-(2-хлорфенилсульфонил)-N-(4-метокси-6-метил-симтриазинил-2) - мочевину (ДПХ-4189) — в различных концентрациях в сочетании с 0,1 мг индолил-3-уксусной кислотой (ИУК) на 1 л.

Изолированные зародыши выращивали в камере фитотрона Института физиологии растений АН СССР при температуре  $25 \pm 1$  °С, освещенности 5000 лк, 16-часовом фотопериоде и относительной влажности воздуха 70 %.

Каждый эксперимент проводили дважды в 30—50 повторностях, а наблюдения осуществляли один раз в три недели. Для сосны учитывали: 1 — количество развивающихся зародышей (%), 2 — количество зародышей, формирующих зеленые семядоли (%); 3 — количество зародышей, образующих адвентивные почки (% от общего числа жизнеспособных зародышей); для ели: 1 — количество зародышей, образующих каллус (% от общего числа жизнеспособных зародышей); 2 — количество каллусов, способных к морфогенезу (% от общего числа каллусов). Все полученные результаты обрабатывали статистически. Эта работа была проведена совместно с Н. В. Катаевой.

Для цитологического изучения образования адвентивных почек на зародышах сосны и ели использовали постоянные препараты, подготовленные следующим образом. Зародыши с образовавшимися почками или каллусом извлекали из пробирок через 23 дня с момента их посадки, фиксировали в смеси Карнуа, проводили через серию спиртов и растворителей, заключали в парафин и затем микрофотографировали на ротационном микротоме "Reichert" (Австрия). Срезы толщиной 10 мкм окрашивали гематоксилином по Эрлиху и Мейеру. Постоянные препараты изучали с помощью микроскопов МББ-1А и "Ergaval" (ГДР). Микрофотографии срезов были сделаны на установке mf-matic ("Carl Zeiss", ГДР). Цитологические исследования выполнены совместно с Э. Л. Миляевой.

## Результаты

Испытывалось 6 соединений цитокининового типа действия, из которых четыре — зеатин, 2 ip, кинетин, БАП — наиболее часто применяются в культуре тканей для индукции образования адвентивных почек, а два — Дропп и ДПХ-4189 — новые синтетические соединения — производные мочевины, обладающие ярко выраженным гормональным действием. Влияние их на микроразмножение древесных растений, в том числе и хвойных, не изучено. В качестве ауксина в питательную среду во всех вариантах был добавлен ИУК в концентрации 0,1 мг/л, поскольку в предварительных экспериментах было установлено, что именно в этой концентрации ИУК оказывает наибольшее влияние на индукцию заложения адвентивных почек. Оптимальные концентрации цитокининов, в частности БАП, определялись в специальных опытах.

Результаты морфобиологических исследований. Культивирование изолированных зрелых зародышей сосны обыкновенной на разных средах, отличающихся друг от друга по типу цитокинина и его концентрации, приводило к формированию адвентивных почек, в основном на семядолях зародыша. К характерным для всех вариантов особенностям постэмбрионального развития изолированных зародышей в условиях *in vitro*, определяемых визуально, можно отнести, во-первых, то, что зародышевый корешок не развивался, и уже через 2 нед после эксплантирования наблюдалась постепенная некротизация и гибель той его части, которая находилась в непосредственном контакте с питательной средой. Во-вторых, процессу образования адвентивных по-

чек предшествовало заметное набухание и разрастание семядолей, в результате чего они принимали шарообразную форму. В-третьих, гипокотиль зародыша разрастался, что приводило к формированию внутреннего каллуса, в котором дифференциации адвентивных почек не отмечалось.

Вместе с тем были выявлены и различия, связанные с разной эффективностью почкообразования в изучаемых вариантах (табл. 1). Так, из всех цитокининов наибольшее влияние на образование адвентивных почек оказывал зеатин в концентрациях 1—10 мг/л (16,6—

40,0 %). При этом почки формировались с краев семядолей, не соприкасающихся со средой, по 5—8 шт. на один зародыш. Присутствие в среде кинетина, 2 ip или БАП в изученном интервале концентраций не приводило к значительному индуцированию заложения адвентивных почек (0—12,0 %). Однако в варианте с БАП появившиеся почки отличались интенсивным ростом и впоследствии развились в побеги. Добавление в среду Дропп или ДПХ-4189 также способствовало формированию почек de novo, однако в этих вариантах они были еле заметными и

Таблица 1

Образование адвентивных почек при культивировании зародышей сосны обыкновенной *in vitro* на средах с разными цитокининами и их аналогами

Концентрация цитокинина, мг/л	Количество зародышей, %			Среднее число адвентивных почек, шт./зародыш
	развивающихся	образующих зеленые семядоли	образующих адвентивные почки	
<i>Зеатин</i>				
10,0	100	53,3±3,2	40,0±1,2	8,1±0,4
1,0	100	66,7±2,5	16,6±0,8	5,0±0,2
0,1	80,0±3,7	75,0±4,6	10,0±0,6	1,3±0,2
<i>2 ip</i>				
10,0	100	20,0±1,0	3,4±0,3	3,0±0,4
1,0	80,0±4,9	41,7±2,5	0	0
0,1	100	43,3±2,3	0	0
<i>Кинетин</i>				
10,0	60,0±3,4	5,5±0,5	0	0
1,0	100	23,3±1,9	0	0
0,1	100	46,6±4,0	6,6±0,6	2,3±0,2
<i>БАП</i>				
10,0	100	51,4±3,1	8,8±0,4	8,0±0,7
1,0	100	100	12,0±0,9	5,0±0,2
0,1	100	98,0±8,3	3,4±0,2	1,2±0,1
<i>Дропп</i>				
0,01	100	36,7±1,8	3,8±0,3	3,4±0,2
0,001	100	40,1±2,0	6,6±0,5	4,0±0,1
<i>ДПХ-4189</i>				
0,01	90,0±4,4	33,4±2,2	4,7±0,3	2,8±0,2
0,001	100	43,3±3,5	8,3±0,5	3,0±0,2

сильно отставали в развитии от почек в перечисленных выше вариантах.

После переноса эксплантов из сред, содержащих минеральные соли по ГД, биологически активные вещества (см. методику), а также различные цитокинины, на питательную среду с той же минеральной основой и биологически активными веществами, но содержащую 0,5 % активированного древесного угля почки развивались, формируя побеги, которые достигали через 5—6 нед культивирования высоты 5 мм. Наилучшие результаты были получены при нали-

чии в первоначальных средах БАП или зеатина. Почки, полученные на средах с кинетином, 2 ip, Дропп или ДПХ-4189, после перенесения на среду с активированным углем отличались замедленным ростом, в их базальной части формировался светлый каллус.

При культивировании зародышей ели обыкновенной на испытываемых средах формирование адвентивных почек происходило иначе, чем у сосны. У них образовывался первичный каллус, в котором асинхронно закладывались почки, отличающиеся друг от друга темпами роста. Было выделено 2 ти-

Т а б л и ц а 2

Морфогенез зрелых зародышей ели обыкновенной при их культивировании *in vitro* на средах с разными цитокининами и их аналогами

Концентрация цитокинина, мг/л	Каллусогенез, %	Эффективность органогенеза, %	Тип почек
<i>Зеатин</i>			
10,0	80,0 ± 4,8	70,0 ± 4,4	Одиночные
1,0	76,0 ± 3,8	60,0 ± 4,1	»
0,1	56,0 ± 2,8	30,8 ± 1,2	»
<i>2 ip</i>			
10,0	88,0 ± 5,3	36,8 ± 2,3	Щеткообразные
1,0	80,0 ± 4,8	24,0 ± 1,6	»
0,1	76,0 ± 3,6	20,0 ± 1,2	»
<i>Кинетин</i>			
10,0	92,0 ± 5,1	0	—
1,0	92,0 ± 5,2	37,9 ± 2,3	Щеткообразные
0,1	84,0 ± 5,0	25,2 ± 1,6	»
<i>БАП</i>			
10,0	76,0 ± 3,2	0	—
1,0	76,0 ± 4,4	0	—
0,1	68,0 ± 4,3	0	—
<i>Дропп</i>			
0,01	79,0 ± 4,7	5,0 ± 0,5	Одиночные
0,001	81,0 ± 6,4	6,3 ± 0,5	»
<i>ДПХ-4189</i>			
0,01	75,0 ± 3,7	5,8 ± 0,3	Одиночные
0,001	75,0 ± 3,7	10,0 ± 0,4	»

па почек: 1 — одиночные, имеющие развитый апекс и хвоинки; 2 — многочисленные сближенные, у которых наблюдалось интенсивное образование и вытягивание зачатков хвоинок, но развитие апикальной зоны меристемы было заторможено. Такие почки напоминали щетку и были условно названы нами щеткообразными (табл. 2).

Как видно из табл. 2, все цитокинины вызывали каллусогенез, но наиболее эффективным был кинетин в концентрациях 0,1—10 мг/л, обеспечивший каллусообразование в 84—92 % случаев. В то же время присутствие в среде БАП в использованных концентрациях определило образование каллуса по всей поверхности зародыша лишь в 68—76 % случаев.

Регенерацию почек ели из первичного каллуса в наших опытах стимулировали все испытанные цитокинины в изученном диапазоне концентраций, за исключением БАП, хотя, по данным большинства исследователей, БАП является наиболее эффективным цитокинином для индукции заложения адвентивных почек в культурах ели обыкновенной и других видов хвойных в условиях *in vitro*. По всей вероятности, такое несопадение результатов объясняется биологическими различиями изучаемых образцов ели обыкновенной. В работах Арнольда и Эриксона, Джонсона и Борнмана [6, 7, 13], показавших высокую эффективность БАП, ис-

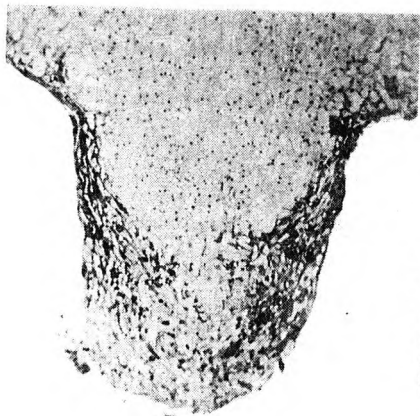
пользовались семена ели, экотипически отличающиеся от семян, собранных нами в Центральном районе Нечерноземной зоны РСФСР.

Наиболее эффективным в наших опытах оказался зеатин в концентрациях 1—10 мг/л. При этом в 60—70 % случаев отмечалось образование нормальных по морфологии почек (1-й тип). Добавление в среду кинетина (0,1—1 мг/л) или 2 ip (0,1—10 мг/л) приводило к формированию щеткообразных почек (2-й тип). Последние после пересадки на безгормональную питательную среду МС не развивались в нормальные побеги. В вариантах с ДРОПП или ДПХ-4189 эффективность образования почек была невысокой и составляла всего 5—10 %. Хотя почки были нормальными по внешнему виду, развития их в побеги на безгормональной среде не наблюдалось.

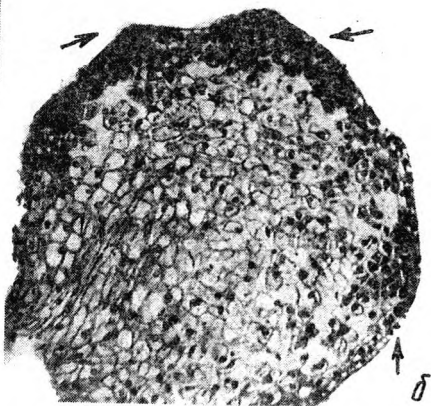
Результаты цитологических исследований. Цитологический анализ, который был проведен на 23-й день с момента посадки зародышей сосны на изучаемые среды, показал, что в процессе культивирования произошла лигнификация наружных слоев клеток зародышевого корешка, а клетки покоящегося центра корневой меристемы сильно разрослись и вакуолизировались. Все это приводило к некротизации и впоследствии к гибели корневой части зародыша (рис. 1, а). Одновременно с этим на срезах было видно, что почечка

**Рис. 1.** Цитологические особенности образования адвентивных почек в культуре зрелых зародышей сосны обыкновенной. ▶

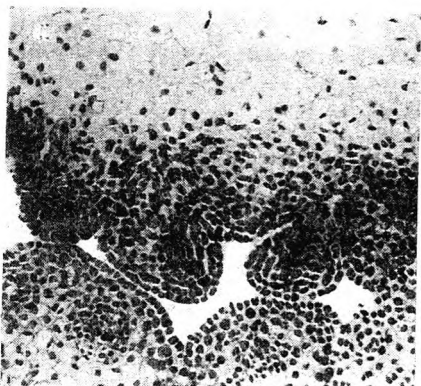
а — лигнификация и некротизация клеток зародышевого корешка (ув. 7×3,5); б — разрастание семядоли и образование меристематических очагов, на что указывают стрелки (ув. 7×10); в — формирование волнистой, рассеченной поверхности семядолей из меристематических очагов (ув. 7×10); г — формирование меристематических очагов на поверхности семядолей зародыша под воздействием зеатина в концентрации 10 мг/л (ув. 7×40); д — образование адвентивных почек под действием Дропп в концентрации 0,01 мг/л (ув. 7×20); е — образование адвентивных почек под действием ДПХ-4189 в концентрации 0,01 мг/л (ув. 7×10).



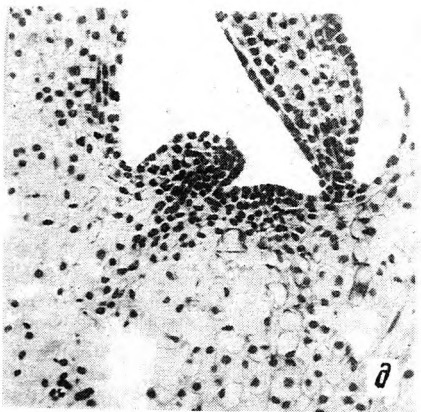
a



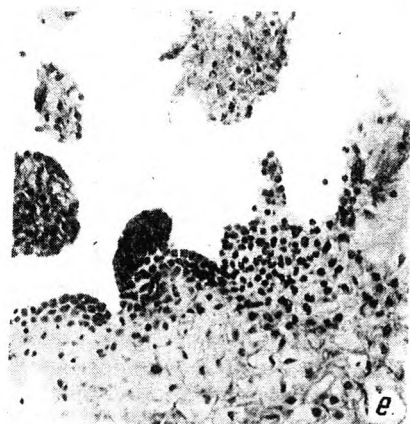
B



F



d



e

самого зародыша не развивалась, а семядоли разрастались за счет интенсивных клеточных делений, увеличения размера клеток и их вакуолизации. По мере культивирования семядоли значительно увеличивались в размере, приобретая форму шара (рис. 1, б). Главной особенностью видоизмененных семядолей являлось образование в них межклеточных пространств и полостей, что приводило к разрыву контакта между клетками. Субэпидермальные слои семядолей зародыша были представлены мелкими, интенсивно окрашивающимися и мало вакуолизированными клетками с крупными ядрами. В процессе деления этих клеток образуются многочисленные участки меристематических клеток, из которых постепенно формируются по всей поверхности семядолей выросты, создавая при этом эффект волнистой, рассеченной поверхности (рис. 1, в). В дальнейшем такие выросты в некоторых вариантах развивались в хорошо дифференцированные адвентивные почки с апексом и зачатками хвоинок.

Как было показано в табл. 1, наиболее интенсивный морфогенез у сосны наблюдался при наличии в среде зеатина в концентрациях 1—10 мг/л. Это видно и на микрофотографии, где представлено большое число меристематических очагов, равномерно расположенных по всей длине семядолей (рис. 1, г). Образовавшиеся в этом варианте почки имели хорошо развитую проводящую систему, которая связывалась с проводящей системой зародыша. При использовании пониженных концентраций зеатина (0,1 мг/л) часто наблюдалось развитие самого зародыша. Хотя на семядолях в этих вариантах и возникали меристематические выросты, формирование почек шло менее интенсивно, чем в вариантах

с зеатином в концентрациях 1—10 мг/л. Введение в среду БАП или 2 ip приводило, как и в случае с зеатином, к образованию в эпидермальном и субэпидермальном слоях семядолей адвентивных почек. Однако интенсивность образования их была значительно ниже (см. табл. 1). При культивировании зародышей на среде с кинетином в повышенных концентрациях адвентивные почки не формировались. С одной стороны, это можно объяснить тем, что в местах непосредственного контакта зародышей с питательной средой происходила лигнификация 10—15 слоев клеток зародыша, что и являлось барьером для поступления необходимого количества цитокинина и трофических веществ в ткань зародыша. С другой стороны, при лигнификации клеток, возможно, происходит выделение токсичных веществ (фенолов), препятствующих образованию адвентивных почек. Образование меристематических очагов и межклетников внутри зародыша отмечалось лишь на среде, содержащей кинетин в низкой концентрации (0,1 мг/л).

Изучение влияния новых синтетических веществ цитокининового типа действия (Дропн и ДПХ-4189) на заложение адвентивных почек у сосны показало, что после 23 дней культивирования клетки гипокотыля зародыша превращались в каллусные клетки, в которых и происходила дифференциация адвентивных почек. В редких случаях, как и в предыдущих вариантах, адвентивные почки формировались в эпидермальном и субэпидермальном клеточных слоях семядолей. Однако развития их в побег не наблюдалось (рис. 1, д, е).

Цитологический анализ образования адвентивных почек на зародышах ели обыкновенной подтвердил результаты наших визуальных на-



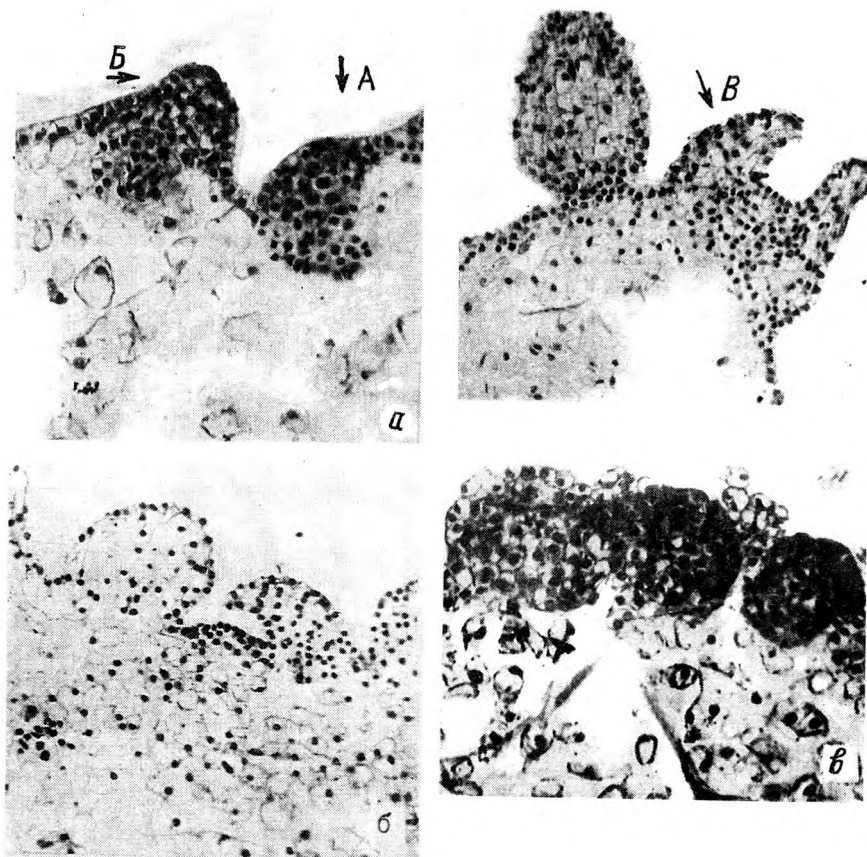


Рис. 2. Цитологические особенности образования адвентивных почек в культуре зрелых зародышей ели обыкновенной.

*a* — этапы формирования адвентивных почек (ув.  $7\times 40$ ); *A* — образование меристематического центра; *B* — дифференциация меристемы конуса нарастания; *B* — ранняя стадия формирования почки; *b* — продольный срез витрифицированной почки (ув.  $7\times 10$ ); *c* — формирование проэмбриоидоподобных структур под действием кинетина в концентрации 10 мг/л (ув.  $7\times 40$ ).

блюдений. Независимо от применяемого цитокинина этот процесс происходил в каллусной ткани, которая образовывалась за счет внутреннего разрастания семядолей, почечки и гипокотила зародыша. Каллусная ткань состояла из сильновакуолизированных клеток, гетерогенных по размеру, с некрупными ядрами. По наружному участку каллу-

са возникали меристематические выросты, которые иногда развивались в почки, состоящие из хорошо сформировавшегося апекса и примордий хвостиков. Как правило, заложение и развитие почек по всей поверхности первичного каллуса происходило асинхронно в эпидермальном и субэпидермальном слоях семядолей. На микрофотографи-

ях видно несколько этапов формирования почек *de novo*: 1 — образование меристематического центра в эпидермальном и субэпидермальном слоях; 2 — дифференцировка меристемы конуса нарастания; 3 — ранняя стадия формирования почки (апекс и первые примордии хвоинок; рис. 2, а).

Одновременно с образованием нормальных по морфологии почек наблюдалось возникновение на одном и том же экспланте витрифицированных почек, которые состояли из укороченных толстых примордиев хвоинок, и, как правило, развития апикальной почки в побег не происходило. На рис. 2, б, где представлен продольный срез такой почки, видно, что у нее отсутствуют меристематические клетки, а апекс и примордии хвоинок состоят из сильно вакуолизированных, слабокрашенных клеток.

Наряду с процессом заложения адвентивных почек, который наблюдался во всех вариантах, в варианте с кинетином (10 мг/л) было отмечено в единичных случаях образование проэмбриоидоподобных структур. Однако утверждать, что образовавшиеся структуры являются эмбриоидами, мы не можем, так как дальнейшее развитие этих меристематических структур в проростки не происходило из-за некротизации и гибели каллусной ткани (рис. 2, в).

Присутствие в среде Дропп или ДПХ-4189 во всех испытанных концентрациях не оказывало специфического влияния на морфогенетические потенции зародышей ели, и процесс образования адвентивных почек в этих вариантах был сходным с процессом заложения почек при использовании других цитокининов.

В результате цитологических исследований не было выявлено существенных различий в основном пути образования адвентивных почек на зародышах ели в зависимости от

применяемого цитокинина.

Таким образом, проведенная работа однозначно показала, что для индукции заложения почек необходимо присутствие в среде культивирования соединений цитокининового типа действия. Причем в наших экспериментах существенных различий влияния природных и синтетических соединений на процесс заложения почек не было обнаружено. Все же следует отметить, что в опытах с зародышами сосны и ели наилучшие результаты были получены при культивировании их на питательной среде, содержащей зеатин. В этом случае эффективность образования почек возросла примерно в 2—3 раза по сравнению с другими вариантами.

Вместе с тем полученные результаты позволили ответить на вопрос, в каких клеточных слоях происходит заложение меристем, по которому еще не сложилось единого мнения у исследователей. Так, Арнольд и Эриксон [7], Джонсон и Борнман [13] считают, что образование почек на хвое ели обыкновенной под действием БАП или 2 ip происходит в эпидермальном слое культивируемого экспланта, по мнению Чин и Ченга [10], у псевдотсуги — в субэпидермальном слое, а Вилалобос с соавторами [17] и Янг с соавторами [18] утверждают, что при культивировании семядолей сосны замечательной (*Pinus teada* (L.)) на среде, содержащей БАП, этот процесс происходит одновременно в эпидермальном и субэпидермальном слоях. Тран Тан Ван в своих работах показала, что именно эпидермис является наиболее активной тканью, способной образовывать почки, каллус или корни в зависимости от гормонального баланса питательной среды [16]. Согласно нашим данным, образование адвентивных почек происходит асинхронно в эпидермальном и субэпидермальном

слоях семядолей зародышей сосны обыкновенной и в каллусной ткани — зародышей ели обыкновенной независимо от вида применяемых цитокининов.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Бутенко Р. Г. Экспериментальный морфогенез и дифференциация в культуре клеток растений.— 35-е Тимирязевские чтения.— М.: Наука, 1975.— 2. Бутова Г. П. Клональное микроразмножение лесных древесных растений.— Лесоводство, лесоразведение, лесные пользования. Экспресс-информация, 1987, вып. 7, с. 1—24.— 3. Высоцкий В. А. Клональное микроразмножение растений.— В кн.: Культура клеток растений и биотехнология.— М.: Наука, 1986, с. 92—102.— 4. Катаева Н. В., Бутенко Р. Г. Клональное микроразмножение растений.— М.: Наука, 1983.— 5. Момот Т. С. Действие ауксинов и цитокининов на морфогенез хвойных в культуре *in vitro*.— Тез. докл. I Всесоюз. конф. «Регуляторы роста и развития растений».— М.: Наука, 1981, с. 167.— 6. Ar-

nold S. V.— Plant Sci. Lett., 1982, vol. 2, N 3, p. 275—287.— 7. Arnold S. V., Eriksson T.— Plant Sci. Lett., 1979, vol. 15, N 4, p. 363—372.— 8. Ball E. A.— Growth, 1950, vol. 19, N 3, p. 295—325.— 9. Bonga J. M., Durzan D. Y.— Tissue culture in forestry. 1982.— 10. Chean K. T., Cheng T. Y.— Amer. J. Bot., 1975, vol. 65, N 8, p. 845—849.— 11. Coleman W., Thorpe T. A.— Plant Physiol., 1976, vol. 57, N 1, p. 76.— 12. Greshoff P. M., Doy C. H.— Planta, 1972, vol. 107, N 1, p. 101—107.— 13. Jansson E., Bornman C. H.— Physiol. Plant., 1981, vol. 53, N 1, p. 191—197.— 14. Murashige T., Skoog F.— Physiol. Plant, 1962, vol. 15, N 3, p. 473—497.— 15. Thomas M. J., Duhowx E., Vazart J.— Plant Sci., Lett., 1977, vol. 8, N 4, p. 395—400.— 16. Tran Thanh Van K.— Inter. Rew. Cytol. (Supl. 11A), Perspectives in Plant Cell and Tissue Cult., 1980, p. 175—194.— 17. Villalobos V. M., Leung D. W., Thorpe T. A.— Physiol. Plant., 1984, vol. 61, N 3, p. 497—504.— 18. Yeung E. C., Aitken J., Biondi S., Thorpe T. A.— Bot. Gaz., 1981, vol. 142, N 4, p. 494—501.

Статья поступила 1 февраля 1991 г.

## SUMMARY

Mature germs of common pine and common spruce were cultivated on agarized nutrient media containing different mineral base. The presence of zeatin in the medium in different concentrations greatly stimulated the establishment and formation of adventive buds. However, this process was asynchronous and took place in different cellular layers. In common pine it proceeded directly in epidermal and subepidermal cellular layers of germ cotyledons, in spruce—in callus tissue of common spruce germs.