

ОБРАЗОВАНИЕ КОЛЕТЕР НА ЛИСТЬЯХ МИКРОКЛОНОВ БАТАТА (*Ipomoea batatas* L.) В УСЛОВИЯХ *in vitro*

© 2023 г. Р. Н. Киракосян^{a, *}, Я. Ю. Голиванов^{a, b}, В. И. Трухачев^a, С. М. Зайцева^a,
М. Р. Халилуев^b, Е. Н. Баранова^{b, c}, Е. А. Калашникова^a

^a Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
“Российский государственный аграрный университет — МСХА им. К.А. Тимирязева”, Москва, Россия

^b Федеральное государственное бюджетное научное учреждение “Всероссийский научно-исследовательский
институт сельскохозяйственной биотехнологии”, Москва, Россия

^c Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина Российской академии наук, Москва, Россия

*e-mail: mia41291@mail.ru

Поступила в редакцию 03.03.2023 г.

После доработки 28.04.2023 г.

Принята к публикации 28.04.2023 г.

Получены микроклоны *in vitro* овощного батата (*Ipomoea batatas* L.) и исследовано образование колетер на их листьях. Исследования проводили на трех сортах батата, отличающихся цветом мякоти и кожурой клубнеплодов, а также разными сроками созревания — Пурпл, Jewel и Мускатный. Изучено влияние ½ нормы минеральных солей МС, 1 нормы МС и 1½ нормы МС на морфометрические показатели микроклонов батата. Установлено, что применение ½ нормы минеральных солей по МС приводило к получению быстро растущих пазушных и адвентивных побегов и формированию мощной корневой системы в базальной части микрочеренков. Впервые на листьях микроклонов батата при введении и выращивании в культуре *in vitro* обнаружено образование секреторных выростов. Новообразования были отнесены к колетерам и дана их характеристика. Показана зависимость образования колетер на листьях микроклонов от циклов культивирования.

Ключевые слова: *Ipomoea batatas*, микроклоны, минеральный состав питательной среды, колетеры

DOI: 10.31857/S0015330323600201, **EDN:** CWCXWX

ВВЕДЕНИЕ

В последнее время все чаще говорят о ценной сельскохозяйственной культуре — батате, или сладком картофеле (*Ipomoea batatas* L.). Интерес к ней связан, прежде всего, с тем, что батат является источником минералов, витаминов, антиоксидантов, а также инулина и бета-каротина — предшественника витамина А [1]. Благодаря содержанию в клубнях различных компонентов, овощной батат диетологи считают более ценным продуктом, чем картофель. Он менее калориен, обладает низким гликемическим индексом, а значит, не влияет на уровень сахара в организме. Поэтому овощной батат смело можно использовать диабетикам в своем рационе. Одно из достоинств батата — это накопление в клубнях природного полисахарида инулина, который является хорошим иммуномодулятором, очищает организм от токсинов, радионуклидов и “плохого” холестерина [2].

Основной способ размножения *I. batatas* — вегетативный, однако при этом часто происходит передача вирусов от растения-донора к новому посадочному материалу. Решить данную проблему

можно с использованием биотехнологии, в частности, метода клонального микроразмножения [3, 4]. Для расширения ареала возделывания батата в Российской Федерации это направление исследований приобретает особое значение при создании новых сортов, обладающих устойчивостью к низким положительным температурам. Поэтому разработка эффективных методов размножения батата *in vitro* является актуальной проблемой.

Для повышения эффективности производства, снижения материальных затрат, а также улучшения качества микроклонов необходимо проводить оптимизацию технологии клонального микроразмножения на каждом этапе. Известно, что первый этап технологии предусматривает получение не только стерильной культуры первичных эксплантов, но и дифференцировку культивируемых клеток и тканей, реализацию их морфогенетического потенциала и получение хорошо растущей культуры *in vitro*. При переводе изолированных органов растений из условий *in vivo* в условия *in vitro*, они претерпевают стресс, который может проявляться в изменении морфологи-

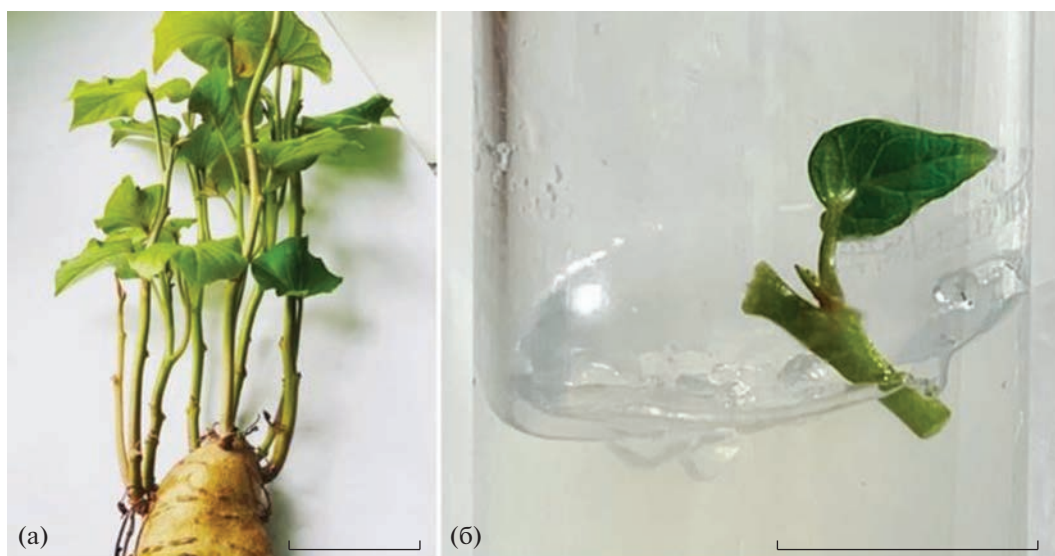


Рис. 1. Внешний вид проросших клубнеплодов батата (а) и черенки для культивирования *in vitro* (б). Масштабная линейка — 1 см.

физиологических показателей. Известно, например, что для некоторых представителей семейства *Lamiaceae* характерно образование железистых волосков на листьях или почках как в естественных условиях произрастания, так и в культуре *in vitro*. Они защищают данные органы от стрессового воздействия факторов условий культивирования за счет секреторных выделений [5, 6]. Что касается батата, то в настоящее время аспекты образования железистых волосков на его листьях при изменении условий культивирования плохо изучены.

Цель работы — изучение образования железистых волосков на листьях микроклонов батата в культуре *in vitro*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе исследовали три сорта овощного батата *Ipomoea batatas* L., отличающихся цветом мякоти и кожурой клубнеплодов, а также разными сроками созревания — Пурпл (ранний, фиолетовый), Jewel (среднеранний, оранжевый) и Мускатный (среднепоздний, белый). Первичным эксплантом служили черенки, содержащие одну пазушную почку, изолированные с проросших клубнеплодов батата (рис. 1). Перед введением в культуру *in vitro* клубнеплоды помещали во влажный почвенный субстрат для активации роста спящих меристем. Формирование побегов из почек начиналось уже на седьмые сутки, а на 21 сут наблюдалось образование хорошо развитых побегов (рис. 1а), с которых мы нарезали первичные экспланты (рис. 1б).

Перед введением в культуру *in vitro* первичные экспланты подвергали поверхностной стерилизации 0.1% раствором сулемы (HgCl_2) в течение 10 мин, после чего их промывали трижды стерильной дистиллированной водой и помещали в биологические пробирки на агаризованную МС-среду [7] без добавления регуляторов роста. Во всех вариантах питательной среды pH доводили до 5.6–5.8 перед автоклавированием. Биологические пробирки с растительным материалом помещали на стеллажи под белые линейно-люминесцентные лампы (OSRAM AG, Osram GmbH, Германия) с интенсивностью освещения 150 мкмоль/м² с и культивировали при температуре $23 \pm 1^\circ\text{C}$ и 16-часовом световом дне.

Изучали влияние минеральных солей в концентрации $\frac{1}{2}$ нормы МС, 1 МС и 1 $\frac{1}{2}$ МС на морфофизиологические показатели сформировавшихся микропобегов. Каждые шесть недель микроклоны пересаживали на свежую питательную среду, предварительно разделив их на микрочеренки, содержащие одну пазушную почку. При этом учитывали биометрические и морфологические показатели микропобегов. Все работы по стерилизации первичных эксплантов, введению в культуру *in vitro*, изучению морфогенетического потенциала проводили в асептических условиях ламинарного бокса (BIOBASE BBS-H1800(X), КНР).

Для изучения колетер использовали методы световой, стереоскопической и сканирующей микроскопии. Исследования с использованием светового и стереоскопического микроскопа проводили на временных препаратах, которые готовили по стандартной методике. Листья изолировали с



Рис. 2. Батат (сорт Jewel) *in vitro* на 7 сут (а), 14 сут (б), 30 сут (в). Масштабная линейка — 1 см.

30-суточных микроклонов батата с разных положений на стебле. Лист с колетерами помещали на предметное стекло в капле воды и анализировали на световом микроскопе Olympus CX23 (Япония) и стереоскопическом микроскопе Zeiss (Германия), модель Primo Star, при увеличении $40\times$ и $100\times$. Всего было проанализировано более 500 листьев. Колетеры срезали с листа и помещали на предметное стекло в капле воды и глицерина в соотношении 1 : 1. Препараты анализировали на стереоскопическом микроскопе Zeiss (Германия), модель Primo Star, при увеличении $400\times$. Фотографии были сделаны с помощью фотонасадки TourCam.

Для сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) фрагменты участков листьев (размером 2×4 мм), извлеченных из *in vitro* растений, отсекали острой бритвой и фиксировали в 2.5% глутаральдегиде в 0.1 М буфере Зоренсона, pH 7.2, с добавлением 15 мг сахарозы на 1 мл. После промывки в буфере образцы обезвоживали серией этанола (30% 30', 50% 30', 70% 30', 96% 30', $2 \times 100\%$ 30') и помещали в абсолютный ацетон. Затем была применена функция сушки в атмосфере CO_2 (сушка в критической точке) (Hitachi HCP-2 Critical Point Drier, Япония). Сухие фрагменты листьев, верхней и боковой (поперечный срез) поверхности были смонтированы на SEM-заглушке с углеродными проводящими язычками и покрыты золотом и палладием с использованием устройства для ионного покрытия Eiko IB-3 (Япония). Образцы на-

блюдали на СЭМ JSM-6380LA (JEOL, Япония) в лаборатории электронной микроскопии (межфакультетской лаборатории биологического факультета МГУ им. М. В. Ломоносова).

Локализацию вторичных соединений определяли гистохимическими методами: для определения суммы фенольных соединений материал окрашивали 0.08% раствором реактива Fast Blue [8]; для изучения локализации флаванов (катехинов и проантоцианидинов) использовали реакцию с ванилиновым реактивом в парах соляной кислоты; для изучения локализации терпеноидов проводили реакцию с НАДИ [9, 10]. Препараты просматривали с помощью светового микроскопа KERN OBS 114 (Германия).

Средние значения данных были рассчитаны с использованием Microsoft Excel 2013 (Microsoft, США). Дисперсионный анализ (ANOVA) проводили с использованием Statistica версии 10.0, средние значения сравнивали с использованием критерия наименьшей значимой разницы Фишера (LSD) при уровне значимости $P \leq 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В результате проведенных исследований установлено, что минеральный состав питательной среды оказывал существенное влияние на рост пазушных побегов микрочеренков батата *in vitro*. Выявлены некоторые закономерности роста и развития микропобегов из вегетирующих боковых почек. Так, уже на седьмые сутки с начала культивирования *in vitro* мы наблюдали активацию роста существующих меристем, а спустя еще семь суток — образование корневой системы. К концу первого цикла культивирования (40 сут) формировались побеги высотой в среднем до 5–6 см с хорошо развитой корневой системой (рис. 2).

Следует отметить, что уменьшение концентрации минеральных солей в составе питательной среды приводило к интенсивному росту пазушных почек и формированию побегов. Наилучшие результаты по росту побегов и укоренению были получены на среде, содержащей минеральные соли МС в $\frac{1}{2}$ нормы (рис. 3). С увеличением концентрации солей в среде учитываемые биометрические показатели уменьшались. При этом ярко выраженный эффект влияния минеральных солей проявился на формировании побегов, в то время как на рост корней минеральный состав не оказал существенного влияния. Во всех вариантах средняя длина корней составила 6.5–7 см. Исключение составил вариант, в котором концентрация минеральных солей была увеличена в 1.5 раза. В этом варианте наблюдали ингибирующий эффект по отношению к росту корней, а средняя длина корня не превышала 4 см, что примерно в 2 раза ниже, чем в наилучшем варианте ($\frac{1}{2}$ нор-

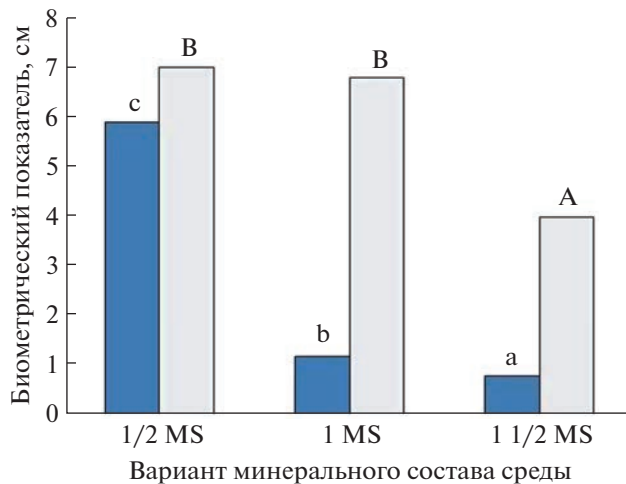


Рис. 3. Влияние минерального состава питательной среды на высоту побега (синие столбцы) и длину корней (белые столбцы) (сорт Jewel). Значения длины корней и высоты побегов, обозначенные одинаковыми буквами, несущественно отличаются между собой при $P \leq 0.05$ на основании LSD.

мы MS). Такую ответную реакцию на состав питательной среды можно объяснить тем, что овощной батат может расти в различных условиях окружающей среды, не требуя наличия в почве большого количества элементов минерального питания [2]. Таким образом, применение $\frac{1}{2}$ нормы минеральных солей по MS приводило к получению быстро растущих пазушных и адвентивных побегов и формированию мощной корневой системы в базальной части микрочеренков. Аналогичные результаты по активации развития пазушных и адвентивных почек, а также их активному росту были получены и для других исследуемых сортов батата.

Следует отметить, что при визуальном обследовании сформировавшихся микропобегов было обнаружено, что на нижней части вновь образовавшихся молодых листьев разных ярусов формировались в массовом количестве прозрачные наросты. При более тщательном изучении установлено, что это секреторные образования — колетеры (клейкие волоски) (рис. 4). В них синтезируется клейкое вещество, состоящее, как правило, из слизи и смолы, но могут быть и другие компоненты. [11]. Колетеры могут образовываться в разных частях растений, например, в пазухе листа, на прилистниках, по краю листьев или в основании черешков [12]. Разными авторами показано, что образовавшийся в колетерах экссудат предотвращает растительные ткани и органы от высыхания и перегрева [13–15].

Согласно нашим исследованиям, начало формирования колетер на листовой пластинке началось в середине цикла культивирования, примерно через 15–20 суток с начала выращивания *in vitro*, когда наблюдалось образование первого нормального листа из боковых почек. Колетеры образовывались по всей нижней площади листа и этот процесс происходил асинхронно. Поэтому под бинокулярной лупой можно одновременно было увидеть только что образовавшиеся колетеры (они имеют светло-зеленую окраску), так и колетеры, которые переставали функционировать и приобретали темно-бурую окраску, и которые, как правило, формировались к концу цикла культивирования (на 40 сут). По морфо-анатомическому строению колетеры микроклонов батата близки к железистым волоскам, состоящим из прозрачных сильно вакуолизированных эпидермальных клеток. Все колетеры располагались группой и были отнесены к кистевидному типу. При этом в центральной части листа колетеры формировались



Рис. 4. Колетеры на листьях микроклонов батата *in vitro*: а — кончик листа, б — средняя часть листа. Масштабная линейка — 0.1 см.

пучками (рис. 4б), а на конце листа были единичными или двойными (рис. 4а). На поверхности колетер были обнаружены секреторные клетки, которые равномерно распределялись по всей поверхности выростов. Вероятно, образование колетер является адаптационной/защитной реакцией растений батата к новым условиям выращивания *in vitro*, в то время как для растений батата, произрастающих в условиях *in vivo*, секреторные образования на листьях не формируются.

Следует отметить, что массовое образование колетер на листьях характерно для всех изучаемых сортов батата на первом цикле культивирования. Было отмечено, что в среднем на одном листе формировалось от 50 до 60 колетер. Однако, при последующем культивировании *in vitro* интенсивность образования и число колетер на листьях уменьшались, и к третьему циклу культивирования ни у одного из исследуемых сортов батата образование колетер на листьях *in vitro* не было отмечено. Это свидетельствует о частичной или полной адаптации микроклонов к условиям *in vitro* в отсутствие внешних стрессовых факторов, которые и обуславливают изменение морфологических признаков в сторону редукции колетер. Таким образом, мы стали свидетелями физиолого-анатомического атавизма у микроклонов батата в условиях *in vitro*, когда глобальное изменение факторов внешней среды заставляет интактные растения проявлять утраченные анатомические структуры.

Все колетеры имели белую окраску и являлись секреторными. При небольшом сдавливании из колетер выделялось прозрачное вещество, не растворяемое в воде. Известно, что в колетерах могут присутствовать различные белки, жиры, полисахариды и соединения фенольной и терпеноидной природы [11, 12, 16], качественный и количественный состав которых изменяется в процессе жизненного цикла колетер. Так, показано присутствие веществ фенольной природы, в частности танинов и полифенолов, в колетерах, формирующихся на листьях интактных растений *Pentas lanceolata*, *Betula pendula* и различных видов *Juglans* [11, 17, 18]. Наши исследования продемонстрировали, что и в колетерах батата происходит локализация фенольных соединений. Однако из-за их небольшого количества окраска была не ярко выражена. Кроме того, в колетерах нами были обнаружены и устьица (рис. 5е).

При исследовании поперечных срезов листа батата на сканирующем микроскопе мы отмечали образование тканей, различающихся по форме и размеру (рис. 5). Как правило, наблюдали формирование разросшейся ткани с округлыми паренхимными клетками (рис. 5а, б). Ряд образований сохранял обособленность и имел общую эпидермальную структуру (рис. 5с). В зависимости от своего размера, такие колетеры имели на поверх-

ности одно или несколько устьиц (рис. 5с, д, е), которые отличались от устьиц, расположенных в эпидермисе листа (рис. 5г).

Эпидермис батата представлял собой относительно гладкую структуру, сформированную кутикулой, на поверхности которой не наблюдали большого количества выпуклых, кристаллических структур или каких-либо других образований (рис. 6а). Около устьиц иногда можно было видеть разного рода кристаллоподобные структуры. Эпидермис имел типичную структуру с устьицами, количество которых значительно отличалось в зависимости от расположения на листе. Часть эпидермальных клеток деформировались и содержали выросты или разрастания (рис. 6б, д), некоторые образовывали гигантские структуры колетер размером до нескольких миллиметров. Поверхность колетер, не имеющих устьиц, тоже по большей части была гладкой (рис. 6г). Единичные устьица, расположенные в эпидермисе, были окружены неким секретом с кристаллическими образованиями (рис. 6с). Подобные структуры можно было отметить на колетерах, на поверхности которых наблюдали образование устьиц в открытом состоянии (рис. 6д). На внутренней поверхности клеток колетер также отмечали похожие игольчатые образования (рис. 6е).

Особенностью формирования колетер на поздних стадиях является образование каллусоподобных структур из паренхимных клеток (рис. 7а). Однако небольшие формирующиеся колетеры имели на своей поверхности клетки, схожие с клетками эпидермиса, и на начальных стадиях сохраняли некое подобие организованных выростов или утолщений (рис. 7б, с). В ряде случаев можно было наблюдать выросты единичных клеток, имеющих типичную паренхимную природу. Чаше они состояли из пары клеток, четко отличающихся по структуре от обычных триом, которые на листе батата, как правило, ассоциированы с поверхностью сосуда. Новообразующиеся колетеры, по видимому, изначально связаны с преобразованием клеток устьица (рис. 7б). На поздних стадиях колетеры состояли из большого числа длинных булавовидных клеток. Отмечено, что данные клетки не связаны между собой и, скорее всего, делятся хаотично и беспорядочно (рис. 7д). Наблюдаемая утрата межклеточной связи в виде общего эпидермиса и отсутствие плазмодесм, вероятно, вызывает изменения в клетках и их последующую гибель в результате избыточного испарения и механического высыхания поверхности клеточных стенок, обеспечивающих в паренхиме апопластный и симпластный транспорт.

В силу того, что продукты вторичного метаболизма играют непосредственную медиаторную роль не только в значимых физиологических процессах растений (дыхание, фотосинтез, защита от стресса),

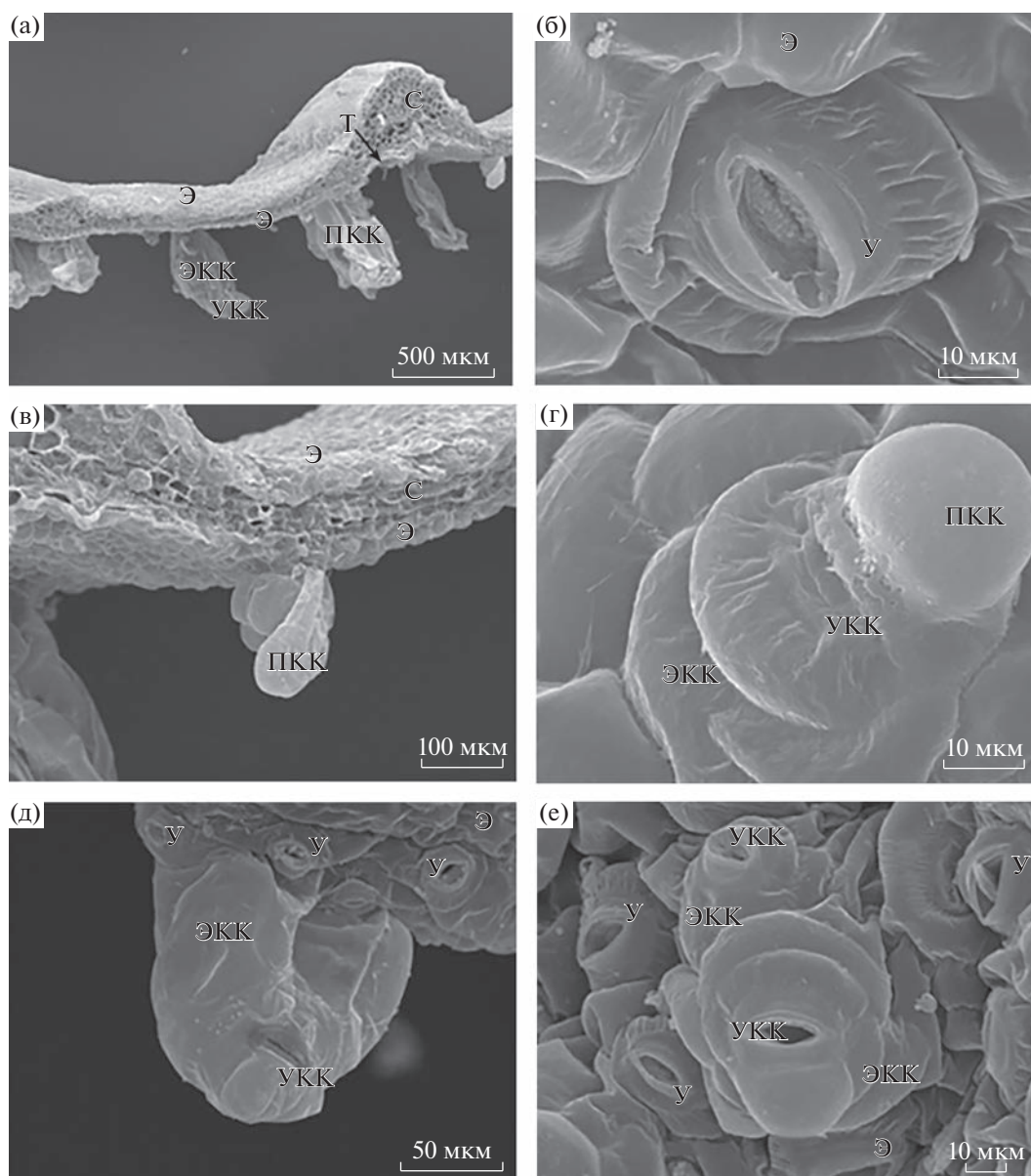


Рис. 5. Изображения фрагментов поперечного среза и нижней части листа батата, полученные с помощью сканирующей электронной микроскопии: поперечный срез листа с расположенными на нижней (абаксальной) стороне колетерами (а); увеличенный фрагмент колетер с разрозненными клетками (б) и с общей системой эпидермиса (в); клетка устьица в ткани нижнего эпидермиса (г); модифицированный фрагмент эпидермиса и устьица формирующейся колетеры (д); изменение морфологии нижнего эпидермиса и устьиц при образовании колетер (е). Обозначения: С – колетеры; Т – трихома; Э – эпидермис; У – устьица; ЭКК – эпидермальные клетки колетер; ПКК – паренхимные клетки колетер; УКК – устьичные клетки колетер.

но и являются мажорными компонентами в процессах взаимодействия растений с окружающей средой (аллелопатия, аттрактирующие и инсектицидные компоненты, гормоноподобное и регуляторное действие и т.д.), вопросы локализации данных веществ имеют важное значение для понимания механизмов введения и адаптации растений к условиям *in vitro*.

С использованием специфических гистохимических реакций нами показано, что вторичные

метаболиты в листьях микроклонов батата представлены фенольными и терпеноидными соединениями (рис. 8). Установлено, что вторичные метаболиты локализуются в проводящих и эпидермальных тканях. Гистохимическая реакция на флаваны с ванилиновым реактивом показала доминирование в фенольном комплексе растений батата низкомолекулярных веществ флаванового ряда. Эпидермальные ткани листа микроклонов батата содержали вторичные метаболиты в виде

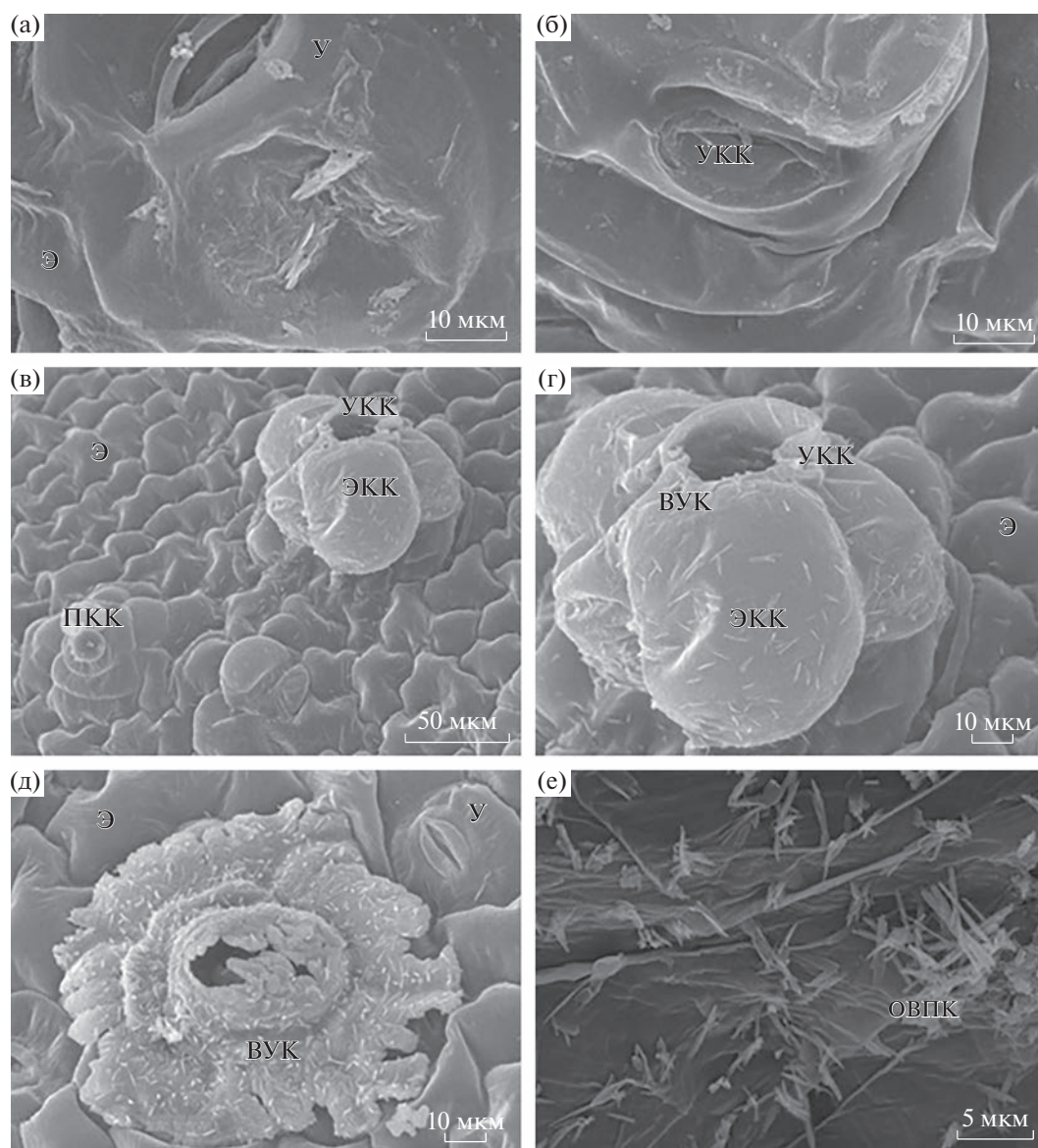


Рис. 6. Изображения фрагментов нижней (абаксиальной) поверхности клеток эпидермиса и устьиц колетер листа батата, полученные с помощью сканирующей электронной микроскопии: устьице на абаксиальной стороне листа (а); полностью открытое устьице на абаксиальной стороне листа, в окружении раздувшихся клеток (б); устьице на абаксиальной стороне листа, покрытое секреторными выделениями, рядом с устьищем без изменения морфологии (в); устьице на поверхности колетеры, с незначительными секреторными выделениями (г); увеличенный фрагмент рисунка бб с ярко выраженными секреторными выделениями на поверхности окружающих устьице клеток (д); увеличенный фрагмент поверхности секреторных выделений вокруг клетки устьища, размещенного на рисунке бв (е). Обозначения: Э — эпидермис; У — устьица; ЭКК — эпидермальные клетки колетер; ПКК — паренхимные клетки колетер; УКК — устьичные клетки колетер; ВУК — выделения устьичных клеток; ОВПК — образования внутренних паренхимных клеток.

аморфного вещества в клеточных стенках и вакуолях. Накопление веществ изопреноидной природы осуществлялось в клеточных стенках и межклетниках эпидермальных тканей листа, а также в виде слоистых отложений на поверхности кутикулы (рис. 8д). Еще одной характерной особенностью в локализации вторичных метаболитов являлось наличие терпеноидов в оболочках замыкающих и побочных клеток устьиц. При этом частичное со-

держание терпеноидов наблюдали только в тонких участках клеточных стенок, обращенных к устьичной щели. Устьичная щель была полностью заполнена полифенолами и терпеноидами.

ОБСУЖДЕНИЕ

Успех клонального микроразмножения зависит от сбалансированного минерального и гормо-

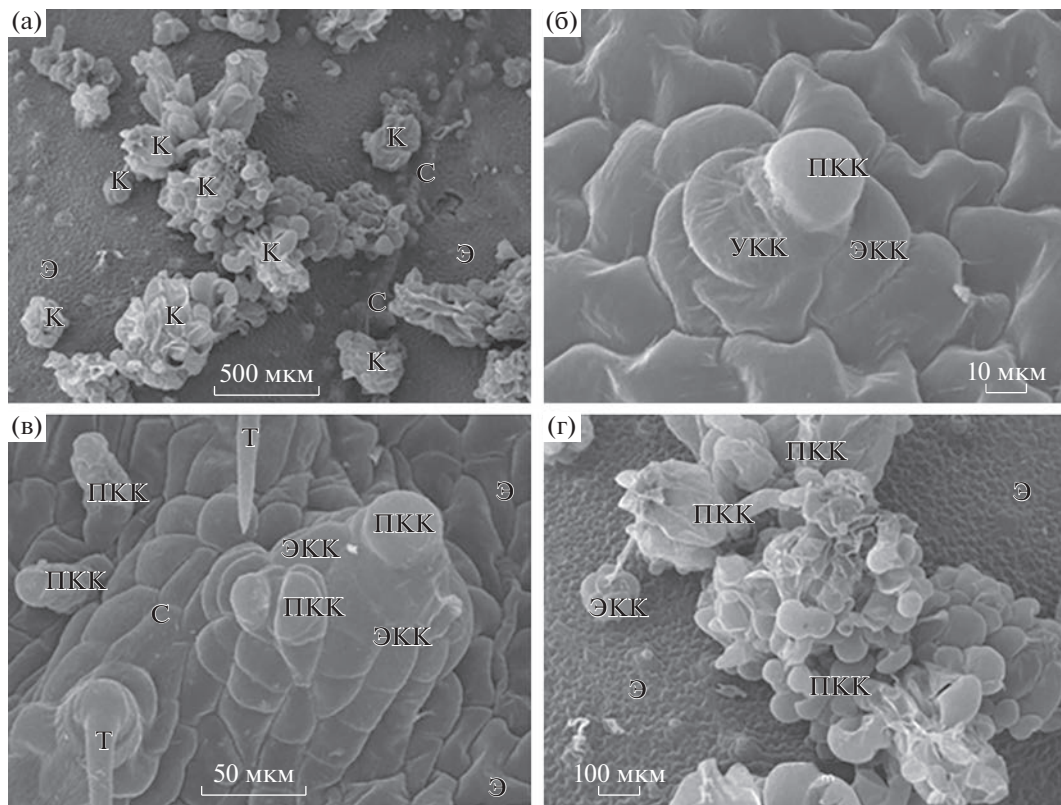


Рис. 7. Изображения фрагментов абаксиальной стороны листа батата множественными колетерами, полученные с помощью сканирующей электронной микроскопии: разнообразие и обилие колетер на нижней поверхности листа (а); небольшое изменение устьичной клетки, сопровождающее подъем над эпидермисом и асимметричное увеличение одной из устьичных клеток (б); образование крупной колетеры с сохранением эпидермальных клеток, рядом с сосудистым пучком (в); крупные образования колетер, состоящие из удлиненных клеток, имеющих крепление у основания, но не имеющих связи между собой (г). Обозначения: К, С – колетеры; Т – трихома; Э – эпидермис; ЭКК – эпидермальные клетки колетер; ПКК – паренхимные клетки колетер; УКК – устьичные клетки колетер.

нального состава питательной среды. По данным ряда авторов, среда на основе минеральных солей по МС является наиболее подходящей для роста пазушных и адвентивных почек у батата. Однако для некоторых сортов батата показано, что среда, содержащая $\frac{1}{2}$ норму минеральных солей по прописи МС, является наилучшей для размножения и укоренения микропобегов [19].

В результате проведенных нами исследований показано, что минеральный состав питательной среды оказывает существенное влияние на рост пазушных побегов и укоренение микрочеренков батата. Нами выявлены некоторые закономерности роста и развития микропобегов из вегетирующих почек. Установлено, что с увеличением концентрации солей в среде уменьшаются учитываемые биометрические показатели. При этом ярко выраженный эффект влияния концентрации минеральных солей проявился на формировании побегов, в то время как на рост корней концентрация минеральных солей не оказала существенного влияния. Вероятно, такая ответная реакция на состав питательной среды обусловлена тем,

что овощной батат может расти в различных условиях окружающей среды, не требуя наличия в почве большого количества элементов минерального питания [2].

Следует отметить, что при выращивании овощного батата *in vitro* было обнаружено образование на нижней части молодых листьев прозрачных наростов – колетер. Колетеры представляют собой многоклеточные секреторные структуры паренхимального происхождения, которые окружены эпидермальными клетками [20, 21]. Чаше всего их можно обнаружить на адаксиальной стороне прилистников и/или чашелистиков среди 60 семейств покрытосеменных растений [21]. Структурно они могут выглядеть как трихомы или выступы, которые образуются из эпидермальных или субэпидермальных тканей [22]. Анатомическую структуру колетер можно описать как паренхиматозную клеточную ось, окруженную слоем палисадоподобных эпидермальных клеток [21, 23]. Известно, что эпидермальные клетки колетер являются секреторными. Иногда по их средней оси развиваются сосудистые пучки [21]. Данные структуры диффе-

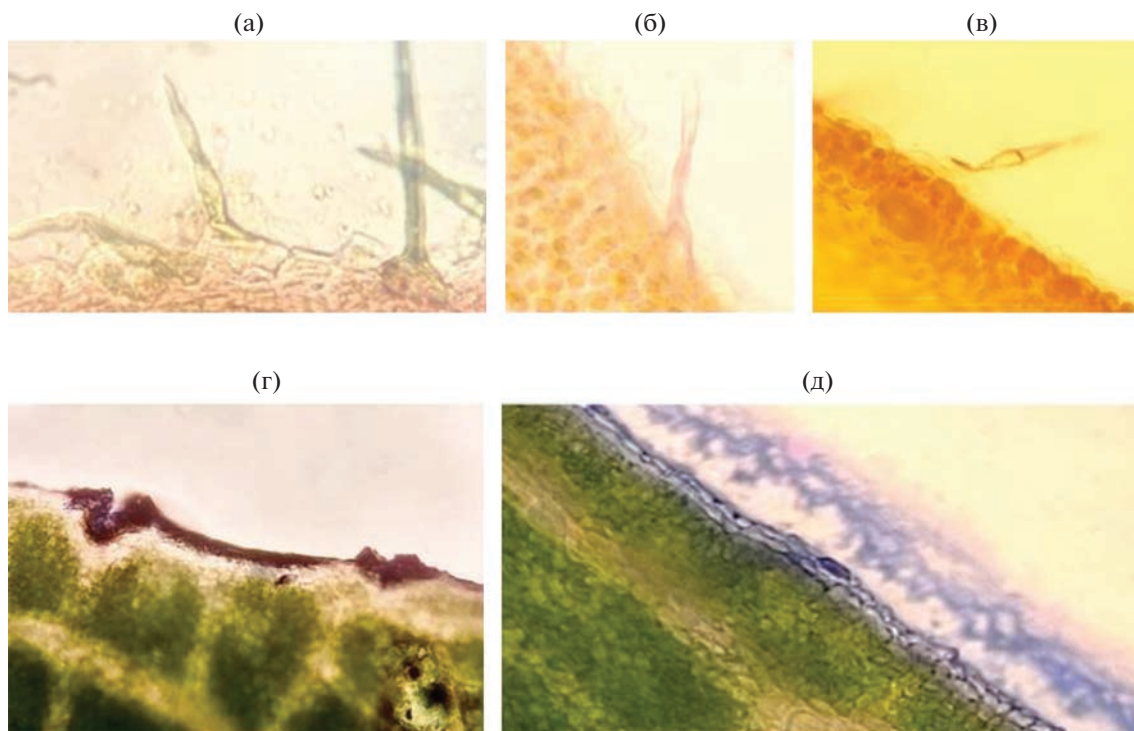


Рис. 8. Локализация фенольных соединений в листе (а–в) и терпеноидов в клетках эпидермы и кутикулы листа батата (д, е). Реакция с ванилином реактивом на флаванолы (а, б), на сумму растворимых фенольных соединений с реактивом Fast Blue (в), на наличие терпеноидов с реактивом НАДИ (г, д). Увеличение: а, г, д – 100 мкм, б, в – 50 мкм.

ренцируются на ранних этапах онтогенеза в области апикальных побеговых и латеральных меристем. Также колетеры могут встречаться на репродуктивных органах [24].

Функции колетер в большинстве своем не ясны. По некоторым данным, колетеры выполняют защитную функцию за счет покрытия верховой части побега слизистым секретом [21, 25]. Также существуют предположения, что секрет колетер защищает молодые побеги от обезвоживания в жарких тропических условиях за счет покрытия им меристемы [22, 26].

Природа липкого вещества, которое содержится и выделяется колетерами, очень вариабельна. В них могут присутствовать различные белки, жиры и полисахариды, а также низкомолекулярные биологически активные вещества [16]. Как известно, в растительных клетках представители фенольного метаболизма, в большинстве случаев, находятся в виде гликозидированных либо этерифицированных форм. Наши исследования показали, что в колетерах накапливаются соединения фенольной и терпеноидной природы. Синтез некоторых представителей вторичного метаболизма связан с наличием пластид (хлоропластов и лейкопластов) в клетках [27]. В процессе культивирования отмечается изменение окраски колетер с прозрачного на темный цвет. Вероятно,

это происходит за счет старения колетер, сопровождающегося изменением биохимического состава экссудата. В литературе связывают образование темноокрашенных колетер с содержанием в них веществ фенольной природы, в частности, танинов и биофлаваноидов [27]. В свою очередь, полифенолы являются наиболее распространенными представителями вторичных метаболитов растений. Биосинтез и накопление этих низкомолекулярных и высокореакционных соединений отличается пластичностью и зависит не только от видовой принадлежности растений, но и от органов, стадии онтогенеза и периода вегетации, а также от выполняемых ими функций.

Вероятно, развитие колетер у батата связано с изменениями дифференцировки клеток устьиц. Развитие и рост колетер зависят от того, происходит ли их разрастание под эпидермальной поверхностью или они сразу формируются паренхимоподобными клетками. Однако во всех случаях при разрастании структур их целостность оказывается нарушенной, и паренхимные клетки, оказавшись без ограничивающего действия кутикулы и эпидермальных клеток, формируют хаотичную структуру с низким уровнем связей между клетками. Если на первой стадии работа этих структур как секреторных явно наличествует, то на поздних стадиях, когда клетки теряют связь между собой и,

будучи незащищенными (вероятно, не имея возможности пройти дифференцировку по пути эпидермальных клеток и образовать кутикулу), подвергаются воздействию окислительного и подсушивающего влияния воздушной среды, они переходят в состояние стресса и, вероятно, более или менее быстро погибают. Это совпадает с тем, что секреция характерна для молодых листьев [28]. Клетки колетер имеют значительно большие размеры, чем паренхимные или эпидермальные клетки, и должны характеризоваться избыточным давлением и содержать гигантскую вакуоль для обеспечения роста и секреции веществ наружу [29]. Кроме того, колетеры могут иметь разные формы, в том числе, булавовидные и грушевидные, что используется рядом авторов в работах по систематике [30].

Экспериментально установлено, что в клеточных стенках и содержимом вакуолей колетер интактных растений и микроклонов присутствуют полифенолы, представленные, в том числе, флаванами. Немногочисленные зоны аккумуляции веществ терпеноидной природы (рис. 6г, д) имеют идентичный, но менее выраженный характер, чем локализация полифенолов. Данная тенденция может быть следствием особенностей как первичного, так и вторичного метаболизма в выделительных тканях, где продукты углеводного метаболизма при участии ароматических аминокислот дают начало вторичному метаболизму. Приведенные данные еще раз наглядно свидетельствуют о тесной взаимосвязи между биосинтезом изопреноидов и фенольных соединений.

Таким образом, для растений батата характерно формирование секреторных образований на листовых пластинках микроклонов *in vitro* в ответ на изменение условий культивирования. Данная ответная реакция растений *in vitro* в существующей литературе не обсуждается. Нами это явление было обнаружено впервые. Вероятно, формирование колетер связано с тем, что перевод растений батата из условий *in vivo* в *in vitro* является стрессом, поскольку при этом меняется газовый состав и водный баланс условий выращивания (в пробирке). Поэтому для защиты листьев, например, от обезвоживания, для регуляции транспирации или образования мест для локализации ценных для растения веществ (полисахаридов, вторичных соединений) и происходит формирование колетер. Однако данное явление характерно не для всех растений *in vitro* и требует дополнительных исследований.

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в соответствии с соглашением № 075-15-2023-220 на поддержку программы развития университета “Приоритет – 2030”. Исследование также поддержано заданиями № 18-118021490111-5 (ФГБНУ ГИС РАН) и № 0574-2019-0002 (ФГБНУ

ВНИИСБ) Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

Авторы выражают благодарность Анатолию Георгиевичу Богданову и ЦКП УНО “Электронная микроскопия в науках о жизни”, уникальной научной установке для трехмерной электронной микроскопии и спектроскопии (биологический факультет МГУ им. М. В. Ломоносова).

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов. Настоящая работа не содержит каких-либо исследований с участием людей и животных в качестве объектов исследования.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Tumwegamire S., Kapinga R., Rubaihayo P.R., LaBonte D.R. Evaluation of dry matter, protein, starch, sucrose, β -carotene, iron, zinc, calcium, and magnesium in East African sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam) germplasm // Hort. Sci. 2011. V. 46. P. 348. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.46.3.348>
2. Abubakar A.S., Yahaya S.U., Shaibu A.S., Ibrahim H. *In vitro* propagation of sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) cultivars // Agric. Sci. Digest. 2018. V. 38. P. 17. <https://doi.org/10.18805/ag.D-128>
3. Калашиникова Е.А. Клеточная инженерия растений: Учебник и практикум. М.: Юрайт. Сер. 76. Высшее образование. (2-е изд.). 2020. 378 с.
4. Калашиникова Е.А., Куракосян Р.Н. Современные аспекты биотехнологии. М.: РГАУ–МСХА. 2016. 145 с.
5. Tresmondi F., Canaveze Y., Guimarães E., Machado S.R. Colleters in Rubiaceae from forest and savanna: The link between secretion and environment // Sci. Nat. 2017. V. 104. P. 17. <https://doi.org/10.1007/s00114-017-1444-x>
6. Voigt D., Kim J., Jantschke A., Varenberg M. Robust, universal, and persistent bud secretion adhesion in horse-chestnut trees // Sci. Rep. 2020. V. 10. P. 16925. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-74029-5>
7. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // Physiol. Plant. 1962. V. 15. P. 473. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>
8. Soukupova J., Cvikrova M., Albrechtova J., Rock B.N., Eder J. Histochemical and biochemical approaches to the study of phenolic compounds and peroxidases in needles of Norway spruce (*Picea abies*) // New Phytol. 2000. V. 146. P. 403. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2000.00666.x>
9. Разаренова К.Н., Бабушкина Е.В., Смирнов П.Д., Костина О.В., Муравник Л.Е. Гистохимия трихом официальных представителей семейства Lamiaceae // Медицинский альманах. 2017. Т. 3. С. 193.
10. Gardner R.O. Vanillin-hydrochloric acid as a histochemical test for tannin // Stain Technol. 1975. T. 50. P. 315. <https://doi.org/10.3109/10520297509117081>
11. Костина О.В., Муравник Л.Е. Колетеры прилистников *Pentas lanceolata* (Rubiaceae) ультраструктур-

- ные и функциональные особенности // Ботанический журнал. 2017. Т. 102. С. 733.
12. Gonzalez M., Tarragó R. Anatomical structure and secretion compounds of colleters in nine *Ilex* species (Aquifoliaceae) from southern South America // Bot. J. Lin. Soc. 2009. V. 160. P. 197.
<https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.2009.00969.x>
 13. Miguel E.C., Klein D.E., Oliveira M.A., Cunha M. Ultrastructure of secretory and senescence phase in colleters of *Bathysa gymnocarpa* and *B. stipulate* (Rubiaceae) // Rev. Braz. Bot. 2010. V. 33. P. 425.
<https://doi.org/10.1590/S0100-84042010000300006>
 14. Paiva E.A.S. Occurrence, structure and functional aspects of the colleters of *Copaifera langsdorffii* Desf. (Fabaceae, Caesalpinioideae) // Comp. Rend. Biol. 2009. V. 332. P. 1078.
<https://doi.org/10.1016/j.crv.2009.08.003>
 15. Canaveze Y., Machado S.R. Leaf colleters in *Tabernaemontana catharinensis* (Apocynaceae, Rauvolfioideae): structure, ontogenesis, and cellular secretion // Botany. 2015. V. 93. P. 287.
<https://doi.org/10.1139/cjb-2014-0229>
 16. Miguel E.C., Gomes V.M., Oliveira M.A., Cunha M.D. Colleters in *Bathysa nicholsonii* K. Schum. (Rubiaceae): ultrastructure, secretion protein composition and antifungal activity // Plant Biol. 2006. V. 8. P. 715.
<https://doi.org/10.1055/s-2006-924174>
 17. Муравник Л.Е. Морфология и ультраструктура трихом околоплодников у видов *Juglans* (Juglandaceae) в связи с синтезом вторичных метаболитов // Ботанический журнал. 2007. Т. 92. P. 96.
 18. Valkama E., Salminen J.-P., Koricheva J., Pihlaja K. Comparative analysis of leaf trichome structure and composition of epicuticular flavonoids in Finnish birch species // Ann. Bot. 2003. V. 91. P. 643.
<https://doi.org/10.1093/aob/mcg070>
 19. Kirakosyan R.N., Kalashnikova E.A., Abubakarov H.G., Sleptsov N.N., Dudina Y.A., Temirbekova S.K., Khuat Q.V., Trukhachev V.I., Sumin A.V. Influence of mineral treatment, plant growth regulators and artificial light on the growth of Jewel sweet potato (*Ipomoea batatas* Lam. cv. Jewel) *in vitro* // Life. 2023. V. 13. P. 52.
<https://doi.org/10.3390/life13010052>
 20. Klein D.E., Gomes V.M., Silva-Neto S.J., Cunha M. The structure of colleters in several species of *Simira* (Rubiaceae) // Ann. Bot. 2004. V. 94. P. 733.
<https://doi.org/10.1093/aob/mch198>
 21. Thomas V. Structural, functional and phylogenetic aspects of the colleter // Ann. Bot. 1991. V. 68. P. 287.
 22. Appezzato-da-Gloria B., Estelita M.E.M. Development, structure and distribution of colleters in *Mandevilla illustris* and *M. velutina* (Apocynaceae) // Braz. J. Bot. 2000. V. 23. P. 113.
<https://doi.org/10.1590/S0100-84042000000200001>
 23. Da Cunha M., Vieira R.C. Anatomia foliar de *Psychotria velloziana* Benth. (Rubiaceae) // Rodriguésia. 1993. V. 45–49. P. 39.
<https://doi.org/10.1590/2175-7860199319974549717504>
 24. Mayer J.L.S., Cardoso-Gustavson P., Appezzato-da-Glória B. Colleters in monocots: new record for Orchidaceae // Flora. 2011. V. 206. P. 185.
<https://doi.org/10.1016/j.flora.2010.09.003>
 25. De-Paula O.C., Oliveira D.M.T. Ocorrência de colleters em embriões de três espécies de *Chamaecrista* Moench (Fabaceae: Caesalpinioideae) // Rev. Bras. Biocienc. 2007. V. 5. P. 348.
 26. Klein D.E., Gomes V.M., Silva-Neto S.J., Cunha M. The structure of colleters in several species of *Simira* (Rubiaceae) // Ann. Bot. 2004. V. 94. P. 733.
<https://doi.org/10.1093/aob/mch198>
 27. Muravnik L.E., Kostina O.V., Shavarda A.L. Development, structure and secretion compounds of stipule colleters in *Pentas lanceolata* (Rubiaceae) // South African J. Bot. 2014. V. 93. P. 27.
<https://doi.org/10.1016/j.sajb.2014.03.007>
 28. Paiva E.A.S. Colleters in *Cariniana estrellensis* (Lecythidaceae): structure, secretion and evidences for young leaf protection // J. Torrey Bot. Soc. 2012. V. 139. P. 1.
<https://doi.org/10.3159/TORREY-D-11-00046.1>
 29. Zanotti A., Fernandes V.F., Azevedo A.A., Meira R.M.S.A. Leaf and sepal colleters in *Calolisianthus speciosus* Gilg (Gentianaceae): a morphoanatomical comparative analysis and mechanisms of exudation // Acta Bot. Bras. 2021. V. 35. P. 445.
<https://doi.org/10.1590/0102-33062020abb0424>
 30. Silva M.D.S., Coutinho Í.A.C., Araújo M.N., Meira R.M.S.A. Colleters in *Chamaecrista* (L.) Moench sect. *Chamaecrista* and sect. *Caliciopsis* (Leguminosae-Caesalpinioideae): anatomy and taxonomic implications // Acta Bot. Bras. 2017. V. 31. P. 382.
<https://doi.org/10.1590/0102-33062016abb0339>