

## ВЗАИМОСВЯЗЬ РОСТА КАЛЛУСА И ЧИСЛА КЛУБЕНЬКОВ У ГОРОХА ПОСЕВНОГО *PISUM SATIVUM*

© Ю. П. Петров

*Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург;*  
*электронный адрес: уирезов@mail.ru*

В сравнительном аспекте на 7 сортах гороха посевного *Pisum sativum* изучены процессы образования клубеньков и каллуса. В качестве параметров, характеризующих образование клубеньков, использованы число и масса клубеньков на 1 растение. Соотношение частот клубеньков различной массы определяли с помощью уравнения Лоренца, а рост каллуса — с использованием уравнения S-зависимости. Показано, что максимальная (оптимальная для азотфиксации) масса клубеньков одними растениями достигается за счет увеличения числа клубеньков, а другими — за счет увеличения массы каждого из клубеньков. Эта особенность зависит от сорта гороха. Обнаружено, что максимальный размер каллуса дают сорта, растения которых имеют большое число клубеньков. Небольшие каллусы характерны для сортов, у которых растения имеют крупные клубеньки, но в небольшом количестве. Полученные результаты интерпретируются исходя из предположения о том, что в основе образования клубеньков лежат два процесса — дифференцировка и пролиферация клеток, а каллусообразования — только пролиферация.

**Ключевые слова:** каллус, клубенек, корреляция, дифференцировка, пролиферация.

В последнее десятилетие в практической биологии и медицине значительное место занимают работы, целью которых является создание искусственных органов и тканей (Daar, Sheremeta, 2003; Kobayashi et al., 2011). Как правило, эти исследования базируются на искусственно направленной дифференцировке стволовых клеток (Verma, 2001; Grompe, 2002; Gupta, Chowdhury, 2002). Один из важных этапов такого исследования — культивирование клеток вне организма. Очевидно, что клетки, лишенные централизованного влияния на них макроорганизма, в условиях культуры приобретают относительную самостоятельность. Изучение закономерностей поведения таких клеток — основная задача биологии клеток в культуре. Чем больше мы будем знать о том, как взаимодействуют отдельные клетки в культуре, тем лучше сможем понять и предсказать их поведение при последующем формировании искусственных органов и тканей.

Можно полагать, что любые клетки независимо от их происхождения должны иметь много общего при адаптации к жизни в условиях культуры. Однако это предположение требует тщательного изучения и поиска общих закономерностей для разных типов клеток, в том числе и растительных.

Цель настоящей работы — проверить, существует ли связь между особенностями роста растительных клеток в культуре с их ростом в составе целого растения. В качестве объекта изучения использовали горох посевной *Pisum sativum*. Особенностью гороха, как и вообще бобовых, является формирование дополнительных органов (клубеньков) у сформированного растения. Этот процесс индуцируется азотфиксацией бактерией *Rhizobium leguminosarum* (Gibson et al., 2008). Таким образом, формирование

клубенька можно рассматривать как процесс, аналогичный культивированию клеток, но не в искусственных условиях, а в составе целого растения, т. е. под контролем макрорганизма. Одновременно наблюдали за ростом клеток (каллуса) в культуре. Чтобы быть уверенным в том, что оба процесса находятся под генетическом контролем, а не связаны только с внешними условиями, изучали несколько сортов гороха.

### Материал и методика

В качестве объекта исследования использовали различные сорта и линии гороха *Pisum sativum* из коллекции Всероссийского института сельскохозяйственной микробиологии (Санкт-Петербург—Пушкин). В качестве индуктора клубенькообразования использовали один и тот же штамм 250 азотфиксирующих бактерий *Rhizobium leguminosarum*. Горох выращивали в условиях теплицы в июне—июле, 1 растение на 0.5-литровый цветочный горшок, в песке, содержащем 1 г/л  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ , 0.25 г/л  $\text{KCl}$ , 0.25 г/л  $\text{MgSO}_4$  и 0.25 г/л  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ . Растения поливали ежедневно. Клубеньки собирали в период бутонизации—цветения. Корневую систему растений промывали водой. Каждый клубенек сразу после отделения от растения взвешивали на электронных весах (Sartorius, Germany) с минимальным пределом измерения 0.1 мг и с автоматической регистрацией результата измерения на бумажной ленте. Клубеньки массой менее 2 мг не учитывали. Общее число растений на один сорт составляло от 10 до 20. Наблюдения были выполнены дважды (за два сезона и обозначены далее как 1 и 2).

Для получения каллуса использовали эксплантаты из 3-суточных побегов, нарезанных в асептических условиях на кусочки длиной 2—3 мм. Эти кусочки помещали в чашки Петри на твердую среду Мурасиге—Скуга (Murasige, Skoog, 1962), обогащенную 3%-ной сахарозой и содержащую 0.8 % агара (Difco, США). На каждую чашку сажали до 5 эксплантатов. Культивирование выполняли в специально оборудованном помещении с постоянной влажностью, температурой 20 °C и 14-часовым фотопериодом. На каждую «точку» (сорт) использовали 5—6 растений и соответственно до 30 каллусов.

Размер каллуса измеряли по оригинальной методике, предложенной автором (Петров, 2000). Она основана на следующем. В первом приближении каллус можно рассматривать как полусферу, объем которой легко рассчитать, если известен ее радиус. Диаметр каллуса можно измерить приживленно с помощью стереомикроскопа, имеющего объектив с переменным фокусным расстоянием и шкалой увеличения, градуированной в мм. Зная диаметр полусфера, можно вычислить ее объем, т. е. объем данной каллусной ткани. Приживленное измерение роста каллуса выполняли 1 раз в 5—7 сут. Весь период наблюдения и регистрации размера каллуса продолжался до 2 мес без смены среды. Кривые роста строили на основании среднего объема каллуса для каждого сорта гороха. Эксперименты были выполнены с двойной повторностью. Сорта были отобраны в предварительных опытах так, чтобы в выборку попали контрастные сорта по скорости роста каллуса. В настоящей работе оригинальные названия семи сортов гороха для удобства заменены римскими цифрами от I до VII соответственно уменьшению их максимально достижимого объема каллуса (рис. 1, а).

Статистическую обработку данных выполняли с помощью программ Excel 2007 (MS Corporation, США) и Origin 6.1 (OriginLab Corp., США).

## Результаты

Сорта гороха различаются между собой не только параметрами, характеризующими их растения и плоды, но и особенностями роста каллуса в искусственных условиях. На рис. 1, а представлены кривые роста каллусов разных сортов гороха в порядке уменьшения их потенции к увеличению клеточной массы. Несмотря на то что у всех 7 сортов рост каллуса описывается типичной S-образной кривой, очевидны индивидуальные особенности этих кривых. Графики на рис. 1, б демонстрируют соотношение частот клубеньков разной массы для 7 сортов гороха в 1-м и 2-м сезонах.

Для описания соотношения частот клубеньков различной массы во всех случаях было использовано уравнение Лоренца (сходно с уравнением нормального распределения). Первое, что следует отметить, это сезонные различия. В целом все растения 2-го сезона имели более высокое число клубеньков, чем растения 1-го сезона. При этом индивидуальность кривых для каждого сорта сохранилась. Обращает на себя внимание то, что имеется заметная синхронность в изменении формы кривых роста каллуса и соотношения частот клубеньков разного размера для каждого сорта. Для объективного подтверждения этого наблюдения лучше использовать сравнение формальных характеристик, вытекающих из используемых распределений. Растения каждого сорта можно охарактеризовать такими общепринятыми параметрами, как об-

щее число (N) и общая масса (M) клубеньков на 1 растение.

Для характеристики роста каллусов имеет смысл воспользоваться параметрами, характеризующими S-образное распределение. Программа Origin 6.1 при построении теоретических кривых по опытным значениям одновременно рассчитывает такие параметры. Наиболее важный из них обозначается как Final(A2). Он численно равен ожидаемому (максимальному) объему каллуса при достижении клеточной культуры стационарной фазы роста. В дополнение к этому параметру рассчитываются еще две характеристики — XatY-20 и XatY-80, указывающие расчетное время, к которому размер каллуса достигает соответственно 20 и 80 % от максимально ожидаемого, т. е. условно в первом случае определяется время перехода от лаг-фазы к экспоненциальной, а во втором — от экспоненциальной к стационарной.

Понятно, что при анализе корреляций можно использовать разные комбинации указанных параметров. Такой скрининг был сделан на подготовительном этапе. В настоящей работе представлены лишь те варианты, которые оказались важными для решения поставленной задачи.

Несмотря на то что число клубеньков и их масса на 1 растение представляются как взаимозаменяемые характеристики, их связь неоднозначна. Так, у растений 1-го сезона отчетливо выявляется линейная зависимость между числом клубеньков и их массой на 1 растение (рис. 2, а) с очень высоким коэффициентом корреляции —  $0.99 \pm 0.01$  ( $P < 0.0001$ ). Общее увеличение числа клубеньков у растений 2-го сезона не имеет линейной корреляции с массой клубеньков, которая в целом тоже увеличилась. Однако можно обнаружить связь между этими параметрами, если воспользоваться полиномом 2-й степени, т. е. параболой. В этом случае коэффициент линейной корреляции также высок —  $0.92 \pm 0.06$  ( $P < 0.03$ ), что указывает на тесную связь обоих параметров, но качество этой связи иное, чем у растений 1-го сезона.

Поскольку связь между числом и массой клубеньков оказалась различной у растений разных сезонов, каждую из этих групп следует рассматривать отдельно при выявлении корреляций между образованием клубеньков и ростом каллуса. В случае анализа растений 1-го сезона воспользуемся параметрами XatY-20 и XatY-80, характеризующими рост каллуса, и числом клубеньков на 1 растение (учитывая данные рис. 2 а, можно было бы с тем же успехом использовать и массу клубеньков). Эти данные представлены на рис. 3. Видно, что при использовании параметра XatY-20 отчетливо выявляется его линейная зависимость относительно числа клубеньков. Коэффициент корреляции равен  $0.90 \pm 0.07$  ( $P < 0.03$ ). Однако еще более тесная связь с числом клубеньков выявляется при использовании параметра XatY-80, но через полином 2-го порядка. Коэффициент корреляции в этом варианте еще выше —  $0.96 \pm 0.03$  ( $P < 0.005$ ).

При анализе растений 2-го сезона можно обнаружить линейную зависимость (рис. 4, а) между числом клубеньков и параметром Final(A2) с довольно высоким коэффициентом корреляции —  $0.84 \pm 0.11$  ( $P < 0.02$ ). При этом ни линейной, ни параболической зависимости между Final(A2) и массой клубеньков не выявляется (рис. 4, б). Однако если не учитывать данные по клубенькам растений I и II сортов, то у остальных 5 сортов выявляется очень четкая экспоненциальная зависимость между эти-

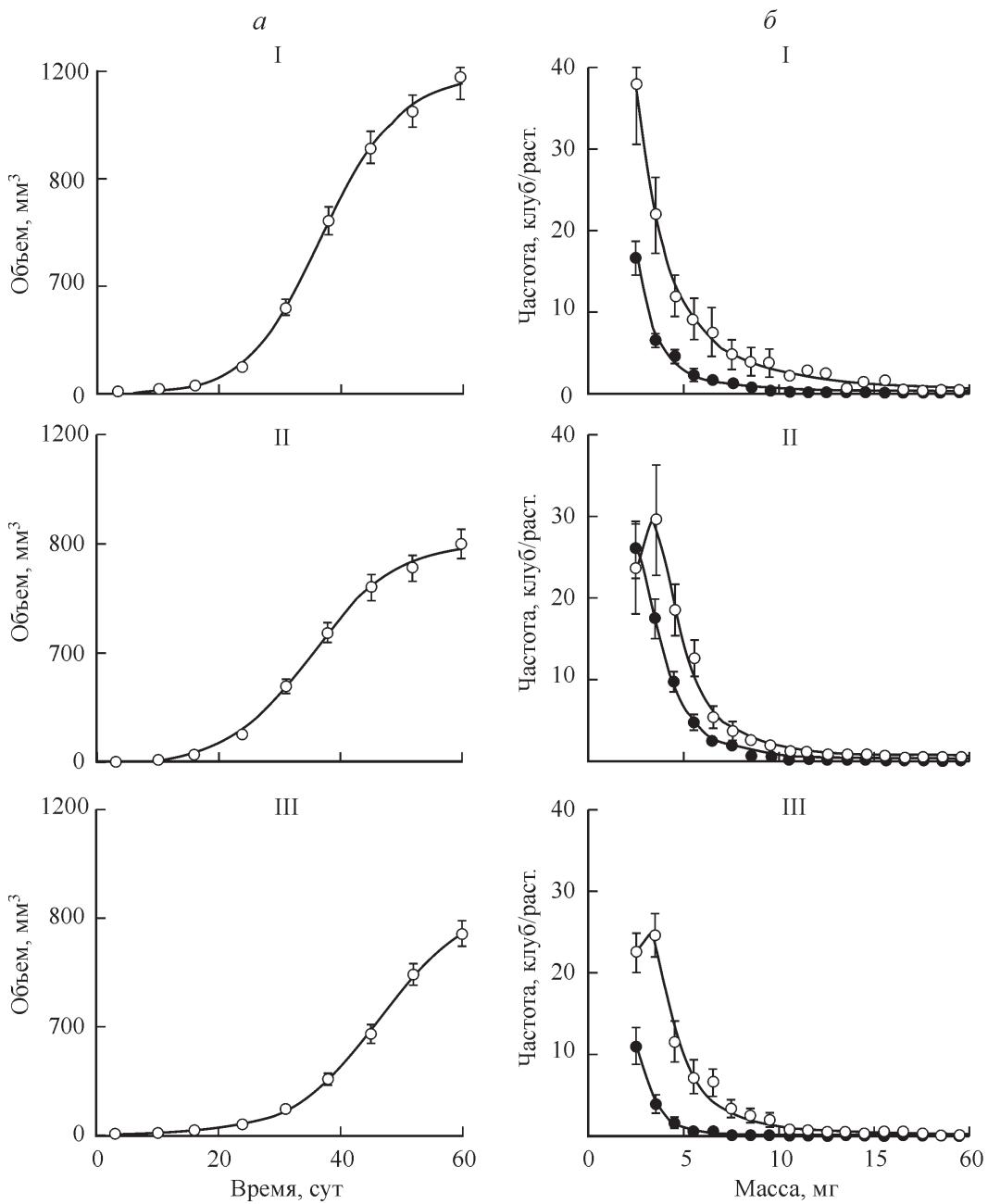


Рис. 1. Сравнение 7 сортов гороха (I—VII) по росту каллуса (a) и количеству клубеньков на одно растение (б) во время 1-го (тёмные кружки) и 2-го (светлые кружки) сезонов. Во всех случаях коэффициенты линейной корреляции не ниже 0.98.

Кружки — опытные значения; линии — расчетные кривые (a — S-кривые, б — распределение Лоренца). Вертикальные отрезки — ошибка среднего.

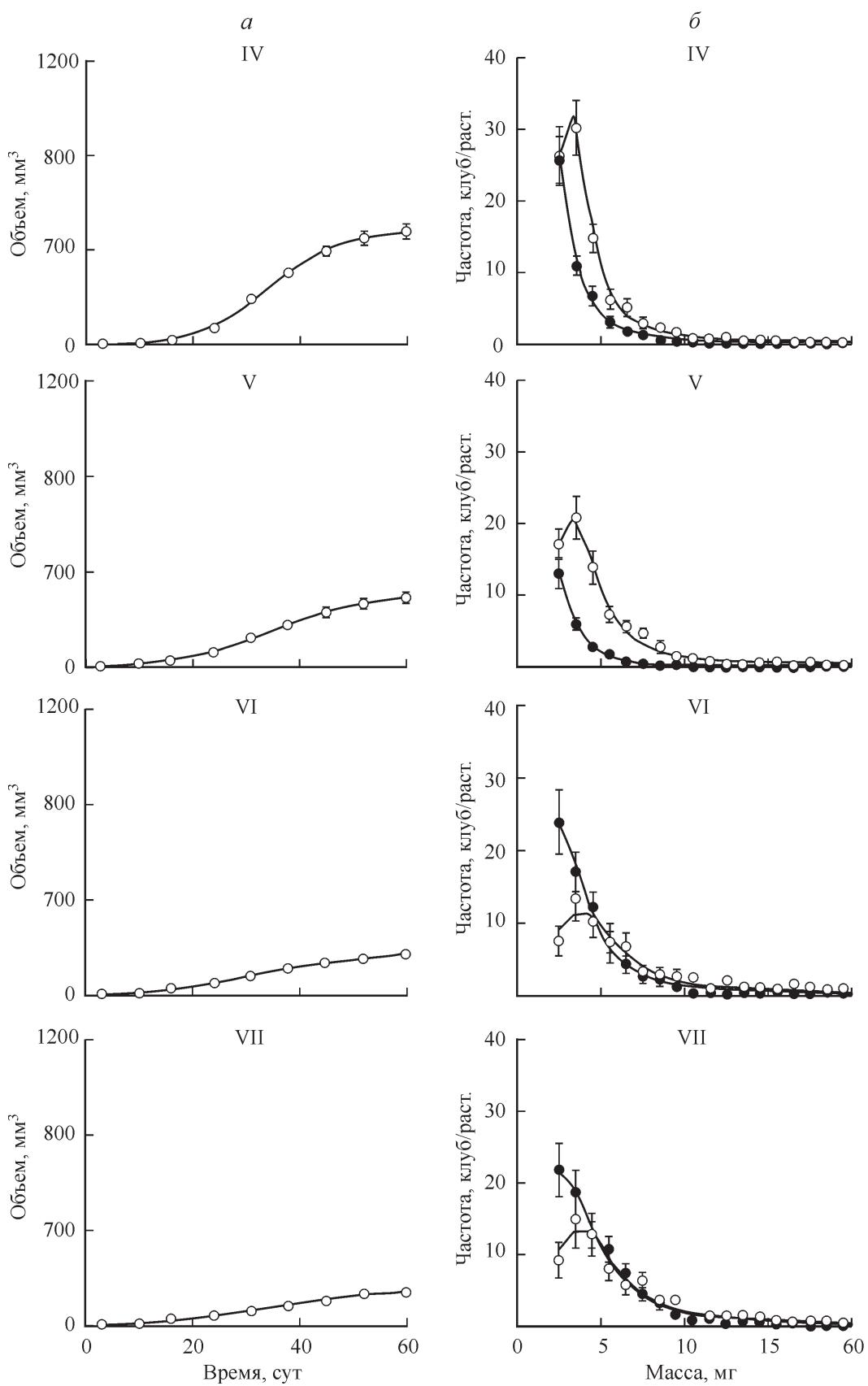
ми двумя параметрами (рис. 4, б). При этом коэффициент корреляции достигает крайне высокого значения —  $0.997 \pm 0.002$ .

### Обсуждение

Прежде чем анализировать полученные данные, следует сделать несколько необходимых пояснений относительно биологии образования клубеньков и каллуса.

Не касаясь тонких механизмов симбиотической азотфиксации (Gibson et al., 2008), отметим лишь ключевые моменты этого процесса, важные для анализа представ-

ленных в настоящей работе результатов. Образование клубеньков — это процесс формирования специализированных органов, эволюционно возникших у бобовых для утилизации атмосферного азота. Процесс этот индуцируется бактериями *Rhizobium leguminosarum*, которые после формирования клубенька с помощью присутствующей в них нитрогеназы дают растению возможность усваивать азот из воздуха. После инфицирования бактериями кортикальные корневые клетки растения начинают пролиферировать и становятся способными к дифференцировке в специализированные клетки клубенька (Tricot et al., 1997; Timmers et al., 1999; Catoira et al., 2001; Hirsch et al., 2001; Perret et al., 2001; Provorov et al., 2002). По сути это процесс трансдифференцировки, т. е. трансформации одних

Рис. 1 (*продолжение*).

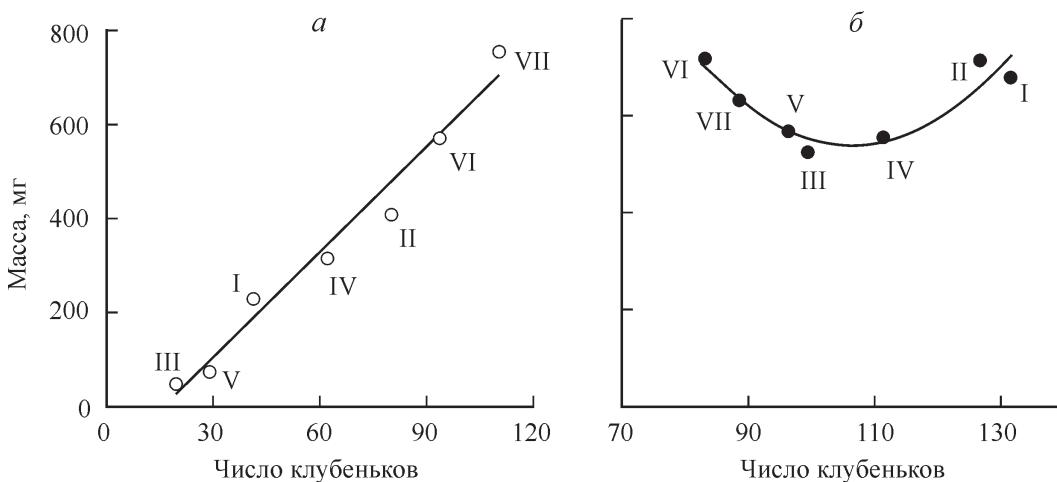


Рис. 2. Сравнение взаимосвязи среднего числа клубеньков и их общей массы (на 1 растение) во время 1-го (а) и 2-го (б) сезонов у 7 сортов гороха.

Кружки — опытные значения; линии — кривые регрессии: линейной (а) и полиномной (параболы) (б). В первом случае коэффициент корреляции равен  $0.99 \pm 0.01$  ( $P < 0.0001$ ), во втором —  $0.92 \pm 0.06$  ( $P < 0.03$ ). Римские цифры — сорта гороха.

специализированных клеток в другие (Eguchi, 1995; Reh, Pittack, 1995; Tosh, Slack, 2002).

Таким образом, клубенек — это специализированная ткань растения, от объема которой зависит количество связываемого растением азота. Логично предположить, что для данного растения существует некоторое оптимальное (предельное) значение количества утилизируемого азота. Из этого следует, что масса клубеньковой ткани, по-видимому, тоже не должна превышать некоторый предел (избыток переработанного для утилизации азота все равно не будет усваиваться). Однако получение максимально полезного объема клубеньковой ткани возможно двумя путями: либо увеличением числа клубеньков в случае их малого размера, либо увеличением массы самих клубеньков при снижении их количества.

Нарастание клубеньковой ткани можно рассматривать как процесс пролиферации, а образование клубенька — как морфогенез (органогенез). Иными словами, образование клубеньков включает в себя и пролиферацию, и дифференцировку. Поскольку при каллусообразовании происходит практически бесформенное нарастание клеточной массы в трех измерениях, его в отличие от образования клубеньков можно рассматривать лишь как процесс клеточной пролиферации. Очевидно, что контроль за образованием клубеньков происходит как со стороны всего растения, так и на уровне клетки, в то время как рост каллуса детерминируется только на клеточном уровне.

Принимая во внимание логические предпосылки, высказанные выше, проанализируем результаты настоящей работы. В рамках поставленной задачи анализ полученных данных логично провести, используя корреляционные зависимости, показанные на рис. 2—4. При этом важно учитывать данные, представленные на рис. 1, где связь между каллусом и клубеньками определяется визуально (качественно) по графикам, соответствующим отдельным сортам гороха.

Результат на рис. 2 наводит на мысль о противоречии полученных данных. К тому же из графиков на рис. 1, б следует, что при сохранении индивидуальности частот распределения клубеньков у растений разных сортов сезонные различия связаны только с изменением ко-

личества клубеньков. Иными словами, данные рис. 1, б формально указывают на то, что вариации сезонных условий должны изменять только положение, но не угол наклона линии регрессии на рис. 2, а, т. е. в уравнении линейной зависимости ( $y = ax + b$ ) можно ожидать изменения только коэффициента  $b$ . На самом же деле изменяются оба коэффициента, причем так, что для данных 2-го сезона коэффициент  $a$  равен 0 (нет наклона расчетной кривой). Это означает, что независимо от числа клубеньков их общая масса колеблется около некоторой постоянной средней величины у растений любого из представленных сортов. Глядя на рис. 2, б, это нетрудно представить даже в отсутствие прямой линейной регрессии.

Это противоречие легко снимается, если исходить из представления о предельной массе клубеньков, выше которой усвоение атмосферного азота для данного растения становится излишним. В 1-м сезоне общая масса клубеньков у растений большинства сортов (возможно, за исключением сортов VI и VII) не достигла этого естественного предела. Напротив, во время 2-го сезона условия окружающей среды оказались настолько благоприятными, что растения всех сортов смогли наработать клубеньковой ткани столько, что ее оказалось достаточно для полного удовлетворения потребностей растений в азоте. Однако каждое растение достигало этого результата разными путями. Сопоставляя данные рис. 1, б и 2, б, можно отметить, что растения I и II сортов, имеющие в основном мелкие клубеньки, достигли необходимого количества клубеньковой ткани за счет увеличения числа клубеньков. Растения же сортов VI и VII, напротив, индуцируя меньшее число клубеньков, но с большей массой, оказались в меньшей зависимости от сезонных изменений внешних условий. Растения остальных сортов заняли промежуточное положение. В целом же, балансируя между числом и размером клубеньков, растения всех сортов оказались ранжированными в соответствии с параболической зависимостью (рис. 2, б).

Поскольку в 1-м сезоне число клубеньков и их масса связаны линейной зависимостью, любой из этих параметров можно брать для сравнительного анализа связи с каллусообразованием. В данном случае рис. 3 демонстриру-

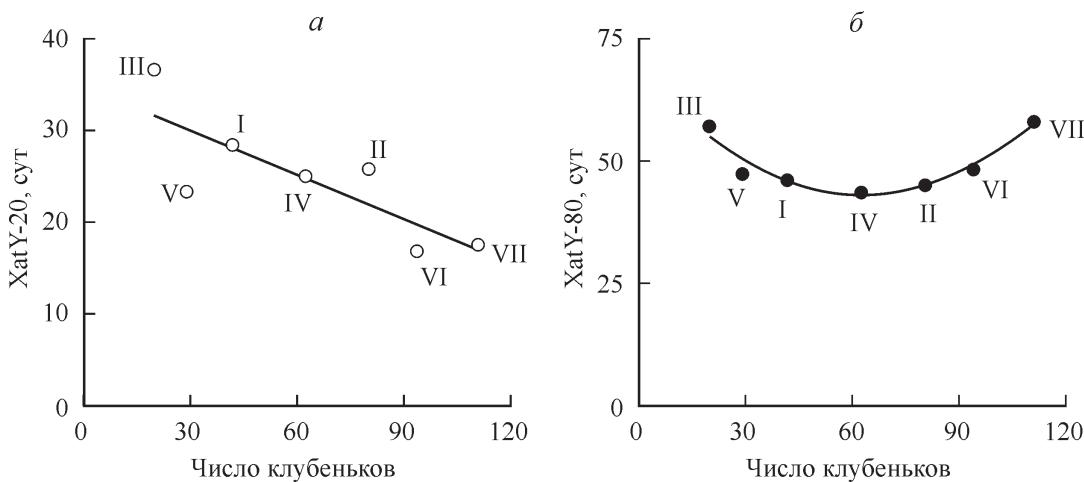


Рис. 3. Связь среднего числа клубеньков на 1 растение в 1-м сезоне у 7 сортов гороха с ростом соответствующего каллуса. Показатели  $XatY-20$  (*а*) и  $XatY-80$  (*б*) — расчетное время (сут) достижения каллусом соответственно 20%-ного и 80%-ного объемов от максимального объема каллуса.

Кружки — опытные значения; линии — кривые регрессии: линейной (*а*) и полиномной (парабола) (*б*). В первом случае (*а*) коэффициент корреляции равен  $0.90 \pm 0.07$  ( $P < 0.03$ ), во втором (*б*) —  $0.96 \pm 0.03$  ( $P < 0.005$ ). Римские цифры — сорта гороха.

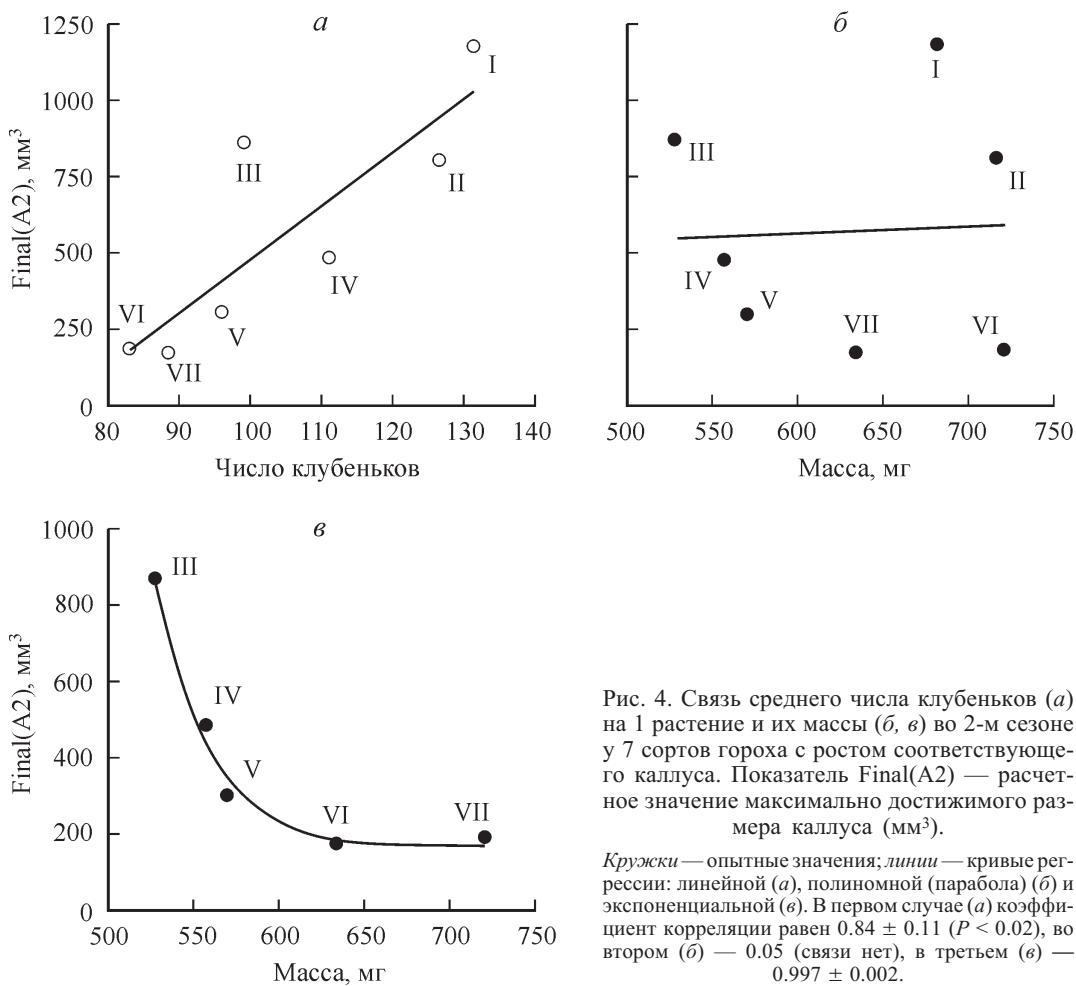


Рис. 4. Связь среднего числа клубеньков (*а*) на 1 растение и их массы (*б*, *в*) во 2-м сезоне у 7 сортов гороха с ростом соответствующего каллуса. Показатель  $Final(A2)$  — расчетное значение максимально достижимого размера каллуса ( $\text{мм}^3$ ).

Кружки — опытные значения; линии — кривые регрессии: линейной (*а*), полиномной (парабола) (*б*) и экспоненциальной (*в*). В первом случае (*а*) коэффициент корреляции равен  $0.84 \pm 0.11$  ( $P < 0.02$ ), во втором (*б*) —  $0.05$  (связи нет), в третьем (*в*) —  $0.997 \pm 0.002$ .

ет наличие связи между числом клубеньков и параметрами XatY-20 и XatY-80, характеризующими рост каллуса. Параметр XatY-20 характеризует рост каллуса при переходе от латентной стадии к экспоненциальной. Поэтому, основываясь на данных рис. 3, а, можно сказать, что между начальным периодом роста каллуса и числом клубеньков у растений данного сорта существует обратно пропорциональная зависимость. Чем больше у растения клубеньков, тем быстрее его каллус достигает 20%-ного размера от ожидаемого максимального. Связь имеет высокий коэффициент корреляции —  $0.90 \pm 0.07$  ( $P < 0.03$ ). Этот результат важен для осознания того, что процессы каллусообразования и клубенькообразования в своей основе имеют общие зависимые от сорта механизмы. Однако нельзя забывать и о том, что 20%-ный уровень объема каллусной ткани — величина относительная, т. е. зависит от максимально достижимой величины размера каллуса растений данного сорта. А эта величина, как наглядно демонстрирует рис. 1, а, у всех сортов разная. О связи числа клубеньков и максимального размера каллуса будет сказано ниже.

Обратимся к рис. 3, б. Он демонстрирует связь числа клубеньков растений 1-го сезона с параметром XatY-80 роста каллуса. Как можно видеть, эти параметры тоже связаны, но не линейной зависимостью, а параболической. Как и в предыдущем варианте, важно отметить именно наличие самой связи между обоими процессами, поскольку параметр XatY-80 тоже относителен. Указывая на время перехода роста каллуса от экспоненциальной фазы к стационарной, он зависит от абсолютного объема, которого может достичь каллус растений данного сорта. Отсутствие линейной зависимости говорит о том, что каллусы всех растений независимо от сорта и числа клубеньков приблизительно к 50-му дню от начала культивирования достигают размера, равного 80 % от максимального, который у всех сортов разный (см. рис. 1, а). Не комментируя пока параболическую зависимость, наблюдавшуюся в этом случае, обратимся к данным, представленным на рис. 4.

Эти данные касаются сравнительного анализа каллуса и клубеньков растений, выращенных во 2-м сезоне. Напомним, что для растений этого сезона характерно максимальное (оптимальное) нарастание массы клубеньковой ткани. Поэтому в качестве характеристики роста каллуса использован параметр Final(A2), численно равный максимально возможному размеру каллуса, рассчитанному для растений каждого сорта. Как можно видеть на рис. 4, а, между этим параметром и числом клубеньков существует довольно выраженная линейная зависимость с коэффициентом корреляции, равным  $0.84 \pm 0.11$  ( $P < 0.02$ ). Однако при замене числа клубеньков другим параметром (их массой) линейная зависимость исчезает (рис. 4, б). Таким образом, с высокой долей вероятности можно утверждать, что чем больше растение гороха индуцирует клубеньков, тем больших размеров может достичнуть каллус, полученный из клеток этого растения. Несмотря на то что этот вывод можно считать основным для данной работы, к нему необходимо добавить некоторые дополнительные следствия, вытекающие из представленных данных.

Причина, вследствие которой часть результатов оказывается в некотором противоречии друг с другом, как уже должно быть понятно, связана с тем, что растения 1-го и 2-го сезонов различаются между собой по реализации своих потенций. Если все растения 2-го сезона смог-

ли полностью реализовать свои потенции в максимально возможной и необходимой утилизации азота за счет оптимального объема клубеньковой ткани, то растения 1-го, за исключением сортов VI и VII, не смогли этого достичь. Очевидно, что это связано с вполне определенными внешними причинами, но их анализ выходит за рамки настоящей работы и не имеет принципиального значения для решения поставленной задачи.

Поскольку рост каллусов проходил в стандартных и оптимальных условиях, можно считать, что культивируемые в таких искусственных условиях клетки всех сортов гороха смогли максимально реализовать свои пролиферативные потенции. Именно поэтому линейная зависимость на рис. 4, а имеет важное значение. Она выявлена в случае, когда индукция клубеньков и рост каллусов, проходя в оптимальных условиях, достигли своей полной реализации. Как дополнение, имеющее частное значение, следует рассматривать результат, показанный на рис. 4, в. По-видимому, экспоненциальной зависимостью, представленной здесь, могут описываться корреляции между каллусом и клубеньками для многих сортов, если не для большинства, но и исключения из этого правила тоже достаточно заметны. В данном случае к такому исключению относятся растения I и II сортов. Одно из объяснений может быть следующим. Растения этих сортов набирают оптимальную клубеньковую массу не за счет роста клубеньков, а за счет их числа. Однако следует заметить, что в начале формирования (сразу после индукции) клубеньки не сразу становятся активными. Это легко заметить — они не окрашены в розовый цвет, т. е. в них еще нет леггемоглобина, необходимого для утилизации азота (Downie, 2005; Sánchez et al., 2011). Таким образом, у растений с большим числом мелких клубеньков их определенная часть может оказаться функционально неактивной.

В заключение еще раз подчеркнем два наиболее важных вывода, вытекающих из представленных результатов. 1. Наличие параболической зависимости указывает на то, что в системе (в растении) существует соединение двух процессов, причем, по мере того как падает влияние одного процесса, роль второго возрастает. При образовании клубеньков — это инициация (индукция) числа клубеньков и нарастание их суммарной массы. Оба процесса связаны с утилизацией атмосферного азота. 2. Образование клубеньков в своей основе состоит из двух процессов — дифференцировки и пролиферации кортикальных клеток. Каллусообразование можно рассматривать как один процесс — пролиферация. Она контролируется на уровне клеток, поскольку они могут размножаться вне организма. Однако особенности этого процесса детерминируются организмом, так как существует корреляция между ростом каллуса и ростом клубеньков, зависящая от сорта.

Автор благодарит за помощь в работе И. И. Верзину и Я. К. Забелину.

### Список литературы

- Петров Ю. П. 2000. Способ оценки роста каллусной культуры. Цитология. 48 (9) : 916—917.  
 Catoira R., Timmers C. J., Maillet F., Galera C., Penmetsa R. V., Cook D., Dénarié J., Gough C. 2001. The HCLgene of medicago truncatulacontrols rhizobium-induced root hair curling. Development. 128 : 1507—1518.

- Daar A. S., Sheremeta L.* 2003. The science of stem cells: ethical, legal and social issues. *Exp. Clin. Transplant.* 1 : 139—146.
- Downie J. A.* 2005. Legume haemoglobins: symbiotic nitrogen fixation needs bloody nodules. *Curr. Biol.* 15 : R196—R198.
- Eguchi G.* 1995. Introduction: transdifferentiation. *Semin. Cell Biol.* 6 : 105—108.
- Gibson K. E., Kobayashi H., Walker G. C.* 2008. Molecular determinants of a symbiotic chronic infection. *Ann. Rev. Genet.* 42 : 413—441.
- Grompe M.* 2002. Adult versus embryonic stem cells: it's still a tie. *Mol. Ther.* 6 : 303—305.
- Gupta S., Chowdhury J. R.* 2002. Therapeutic potential of hepatocyte transplantation. *Semin. Cell Develop. Biol.* 349 : 1—8.
- Hirsch A. M., Lum M. R., Downie J. A.* 2001. What makes the rhizobia-legume symbiosis so special? *Plant Physiol.* 127 : 1484—1492.
- Kobayashi Y., Kato K., Watanabe T.* 2011. Synthesis of functional artificial lymphoid tissues. *Discov. Med.* 12 : 351—362.
- Murashige T., Skoog F.* 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays for tobacco tissue culture. *Physiologia Plantarum.* 115 : 473—479.
- Perret X., Staehelin C., Broughton W. J.* 2001. Molecular basis of symbiotic promiscuity. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 64 : 180—201.
- Provorov N. A., Borisov A. Y., Tikhonovich I. A.* 2002. Developmental genetics and evolution of symbiotic structures in nitrogen-fixing nodules and arbuscular mycorrhiza. *J. Theor. Biol.* 214 : 215—232.
- Reh T. A., Pittack C.* 1995. Transdifferentiation and retinal regeneration. *Semin. Cell Biol.* 6 : 137—142.
- Sánchez C., Cabrera J. J., Gates A. J., Bedmar E. J., Richardson D. J., Delgado M. J.* 2011. Nitric oxide detoxification in the rhizobia-legume symbiosis. *Biochem. Soc. Trans.* 39 : 184—188.
- Timmers A. C. J., Auriac M. C., Truchet G.* 1999. Refined analysis of early symbiotic steps of the Rhizobium—Medicago interaction in relationship with microtubular cytoskeleton rearrangements. *Development.* 126 : 3617—3628.
- Tosh D., Slack J. M. W.* 2002. How cells change their phenotype. *Mol. Cell. Biol.* 3 : 187—194.
- Tricot F., Crozat Y., Pellerin S.* 1997. Root system growth and nodule establishment on pea (*Pisum sativum* L.). *J. Exp. Bot.* 48 : 1935—1941.
- Verma I. M.* 2001. Stem cell research: win, win, win by keeping politics out. *Mol. Ther.* 3 : 641.

Поступила 22 VIII 2012

## CORRELATION BETWEEN GROWTH OF CALLUS AND A NUMBER OF NODULE FOR PEA *PISUM SATIVUM*

*Yu. P. Petrov*

Institute of Cytology RAS, St. Petersburg;  
e-mail: yupe3ov@mail.ru

The processes of nodulation and callusing were studied for pea *Pisum sativum* in a comparative aspect. Seven varieties of pea plants were used. The nodulation was characterized by the number of nodules and their mass per one plant. The frequency ratio of nodules of various weights was described by the Lorentz equation. The growth of callus was described using equation of the S-dependence. It has been shown that plants can produce maximal (optimum for nitrogen fixation) mass of nodules by an increase either in the nodules number or in the mass of each nodule. This feature is specific to the varieties of peas. It has been also found that the plants of the pea varieties, which have a large number of nodules, produce calluses of maximum size. Small calluses are characteristic of the varieties having plants with small amounts of large nodules. The data obtained has been interpreted on the assumption that the nodulation is underlined by both differentiation and proliferation, whereas the callusing is due only to the proliferation process.

К e y w o r d s: callus, nodule, correlation, differentiation, proliferation.