

Г. Г. БАТИКЯН, С. Н. МОВСЕСЯН, С. Г. ЕРВАНДЯН

ВЛИЯНИЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ НА МЕРИСТЕМАТИЧЕСКИЕ КЛЕТКИ КОРЕШКОВ *Vicia faba* L.

Изучением физиологически активных ростовых веществ все больше накапливается данных о том, что они резко меняют обменные процессы в растениях, ускоряют рост, вызывают сильные морфологические изменения: искривление, утолщение стебля, редуцирование цветка, деформацию листовой пластинки и т. д. Из веществ, стимулирующих рост растений, наибольшее распространение имеют ауксины, которые были обнаружены в выделениях не только многих почвенных микроорганизмов, но и в болезнетворных бактериях, вызывающих рак растений. Сотрудниками Института микробиологии АН АрмССР Р. М. Галачян и др. [2, 3] из возбудителей бактериальных болезней, вызывающих опухоли или наросты на растениях (*Pseudomonas tumefacens*) и туберкулез свеклы (*Xanthomonas beticola*), синтезированы растворы сырцов, которые являются продуцентами физиологически активных веществ, в особенности ауксинов. М. Х. Чайлахян и др. [13, 14] на основании многочисленных опытов пришли к заключению, что эти вещества вызывают глубокие физиологические изменения у растений кукурузы, табака, увеличивая длину, вес и воздушно-сухой вес надземных и подземных частей. Помимо всего, за последнее время физиологически активные ростовые вещества находят все большее применение в практике—усиливают корнеобразование черенков винограда.

Опыты показали, что на присутствие этих веществ реагируют не только черенки, давая более ускоренный рост, корнеобразование, но даже отдельная ткань растений в культуре, выращенная в течение 15 суток на агаризованной среде с L-нафтилуксусной кислотой, приводит к увеличению митотического индекса [5].

На основании многочисленных экспериментов авторы [2, 14, 15] пришли к выводу, что наиболее подходящей дозировкой для обработки высушенных растений является 1% водный раствор сырца.

Поскольку влияние полученного ростового вещества было выявлено на основании учета длины, веса надземных и подземных частей организма, то оставалась невыясненной степень реакции на данное вещество клеток меристематической ткани корешков. Стало необходимым провести микроскопическое исследование клеток для выяснения причины

активации роста в корешках—за счет усиленного деления или растяжения клеток.

С этой целью дважды проведен опыт для выяснения влияния водных растворов следующих веществ:

1. Проточная вода—контроль (I вариант).
2. ИУК—индолилуксусная кислота (0,02% II вариант).
3. ИМК—индолилмасляная кислота (0,01% III вариант).
4. Сырец 145 (1%—IV вариант).
5. Сырец 1 (1%—V вариант).

В качестве объекта исследования были использованы семена бобовых—*Vicia faba* var. *major* L., сорт Харфрея, репродукции 1965 г. Воздушно-сухие семена замачивали в вышеуказанных растворах в течение 24 час., после чего переносили в кюветы на фильтровальную бумагу, увлажненную соответствующими растворами. Сверху кюветы покрывались стеклом. Для поддержания одинаковой влажности в кюветах в течение суток производилось увлажнение (2 раза) идентичными растворами в равном количестве.

При замачивании и прорастании семян температура была постоянной (20—21°C).

Фиксация проводилась в течение четырех дней в 9, 12, 15 и 20 час. Готовились постоянные препараты по общепринятой цитологической методике.

Учет клеток, находящихся в митозе, и определение их размеров проводилось в определенной меристематической зоне корешков. В каждом интервале времени было проанализировано пять корешков, в каждом корешке — пять срезов (при увеличении об. 40, ок. 7). Получение среднего размера клеток достигалось измерением ста клеток.

Анализ полученных данных показывает, что одна группа физиологически активных веществ (при определенной концентрации) имеет явно стимулирующее (сырец 45 и 1), а другая—ингибирующее действие (ИУК, ИМК). Сильное подавляющее действие веществ группы гетероауксинов видно при прорастании семян. В этих веществах корешки семян не достигали нормальной длины даже на четвертый день после замачивания (5—6 мм). В обоих случаях (ИМК, ИУК) угнетению роста сопутствуют нарушения в морфогенезе—искривление проростков, образование укороченных опухолевых корешков.

Поэтому в первом опыте фиксацию корешков стало возможным проводить только на седьмой день после замачивания. Чаше воздействие ауксинов зависит от их концентрации. Так, например, исследуя влияние ауксина на рост первого листа и корнеобразование у отрезков кукурузы [4], оказалось, что с повышением концентрации увеличивается образование и рост корней, а рост листа ослабляется. В то же время ростовые вещества типа β -индолилмасляной кислоты вызывают наибольшую активность процесса корнеобразования [12], а другие примененные вещества—гетероауксин, β -нафтилуксусная кислота—менее активны.

Прорастание семян, обработанных сырцами, по сравнению с семе-

нами контрольного варианта, протекало дружно и интенсивно. Анализ корешков семян контрольного варианта показал, что число клеток в митозе постепенно нарастает в течение дня (табл.), в клетках наблюдается довольно резкий переход от интеркинеза к митотическому делению к 20 час., число клеток в митозе достигает 11%. У корешков, обработанных ИУК, в первой половине дня намечается отсутствие митозов, а во второй половине—он не превышает 8%. Индолилмасляная кислота (ИМК) оказывает столь сильное ингибирующее действие, что у семян в течение четырех дней корешки лишь только наклюнулись. Иная картина наблюдалась у семян, обработанных сырцами, как по сравнению с предыдущими веществами (ИУК, ИМК), так и с контрольными. В корешках семян, обработанных сырцом 145, наблюдается довольно высокий процент митотической активности в первый час фиксации (12,5%), в последующие часы происходит резкое снижение (до 6%), а к вечеру—вновь повышается. Иначе проявляет свое влияние на клеточное деление сырец 1. Во-первых, число делящихся клеток вдвое меньше по сравнению с корешками предыдущего варианта (IV вар.), а во-вторых, митотическая активность не имеет резких колебаний. Однако, если в корешках без обработки в течение дня происходит прогрессивное нарастание клеток в митозе, то у корешков, выращенных в сырцах 145 и 1, наблюдается обратная картина, т. е. число клеток в митозе уменьшается, и наибольшая митотическая активность наблюдается в 9 ч. утра.

Следовательно, на 4-ый день после замачивания в корешках, обработанных ИУК и ИМК, намечается сильное торможение деления клеток.

На пятый день во всех вариантах опыта в корешках происходит скачок в сторону увеличения митотической активности. Безусловно, активация деления клеток имеет различную картину в разных испытуемых средах, но общим можно считать не только возрастание числа клеток в митозе по сравнению с четвертым днем опыта, но и общность поведения корешков в IV и V вариантах. Одинаковая реакция корешков семян контроля IV—V вариантов заключается в том, что в этих трех вариантах митотическая активность достигает наивысшей точки именно в утренние часы (9 ч.), а в последующие часы дня происходит спад с незначительными колебаниями. Следующим важным моментом является возрастание в корешках в течение одного дня количества клеток в митозе (I и IV варианты). В последующие дни в корешках V варианта число клеток в митозе в несколько раз возросло. Некоторое стимулирование митотической активности наблюдается также в корешках II и III вариантов, по сравнению с предыдущим днем.

Из приведенных данных видно, что митотическая активность в течение дня под влиянием ИУК, ИМК ингибируется, а под влиянием сырца 145 и 1—стимулируется. Поэтому в I, IV, V вариантах у бобовых в большинстве случаев пик митотической активности наблюдается в утренние часы, а у корешков, обработанных ИМК и ИУК, он не совпадает с

Т а б л и ц а

Суточный ритм митотической активности у *Vicia faba* при обработке физиологически активными веществами

№	Вариант	Часы	Митотическая активность				Площадь клеток, μK^2	Размеры клеток (ширина), длина
			4-й день	5-й день	6-й день	7-й день		
			после замачивания					
I	Контроль	9	5,90 $\pm$ 0,1	16,07 $\pm$ 0,80	7,90 $\pm$ 0,89	6,0 $\pm$ 0,14	311,2416	12,12/25,68
		12	10,38 $\pm$ 0,51	11,5 $\pm$ 0,20	7,4 $\pm$ 0,56			
		15	10,90 $\pm$ 1,08	13,4 $\pm$ 0,77	9,8 $\pm$ 0,63			
		20	11,08 $\pm$ 0,02	13,5 $\pm$ 0,86	8,9 $\pm$ 0,70			
II	ИУК 0,02%	9	—	10,4 $\pm$ 1,01	12,9 $\pm$ 0,67	7,7 $\pm$ 0,95	430,1227	16,17/26,60
		12	—	9,4 $\pm$ 1,0	11,9 $\pm$ 1,22			
		15	4,5 $\pm$ 0,01	10,1 $\pm$ 0,98	8,1 $\pm$ 0,60			
		20	8,0 $\pm$ 0,02	13,0 $\pm$ 1,18	7,9 $\pm$ 0,15			
III	ИМК 0,01%	9	—	0,45 $\pm$ 0,78	8,7 $\pm$ 1,1	—	232,566	12,45/18,68
		12	—	1,93 $\pm$ 0,81	10,2 $\pm$ 0,42			
		15	—	—	6,9 $\pm$ 0,38			
		20	—	3,58 $\pm$ 0,22	7,4 $\pm$ 0,40			
IV	Сырец 145, 1%	9	12,5 $\pm$ 1,09	13,08 $\pm$ 0,98	11,2 $\pm$ 0,72	6,7 $\pm$ 0,33	419,348	16,40/25,57
		12	6,7 $\pm$ 0,67	7,7 $\pm$ 0,66	10,17 $\pm$ 0,80			
		15	7,8 $\pm$ 0,64	8,7 $\pm$ 0,14	6,5 $\pm$ 0,5			
		20	9,6 $\pm$ 0,28	10,3 $\pm$ 1,14	5,5 $\pm$ 0,75			
V	Сырец 1, 1%	9	5,2 $\pm$ 0,26	27,6 $\pm$ 1,81	12,7 $\pm$ 0,18	19,7 $\pm$ 1,14	291,8856	14,06/20,76
		12	4,7 $\pm$ 0,20	13,3 $\pm$ 0,50	20,5 $\pm$ 10,02			
		15	4,3 $\pm$ 0,61	16,36 $\pm$ 0,81	27,4 $\pm$ 1,5			
		20	4,7 $\pm$ 0,33	14,44 $\pm$ 1,48	15,4 $\pm$ 0,22			

пиком контрольного варианта: они проявляют своеобразное колебание суточного ритма.

По мнению Максимова [8], функцией ростовых веществ является усиление поступления воды и питательных веществ в клетки. Поэтому под их воздействием резко меняются обменные процессы, интенсивность роста и морфологические особенности растения. Это, безусловно, неоспоримо даже в отношении ИУК и ИМК, но в конкретном случае взятая нами концентрация этих веществ не является стимулирующей. Следовательно, ростовые вещества могут вызвать как стимулирование, так и ингибирование при соответствующих концентрациях. Испытанные нами концентрации (0,01% и 0,02%) этих веществ отрицательно действуют на клеточное деление, в силу чего их пики не превышают 10—13% общего количества клеток.

На шестой и седьмой дни опыта в корешках контрольного варианта число клеток в митозе уменьшается и в течение суток колебание митотической активности незначительное.

При обработке семян сырцом 1 получается совершенно иная картина: примечателен факт стимулирующего действия этого вещества на клеточное деление, в силу чего пики его намного превышают пики контрольного варианта. Причем под его воздействием происходит своеобразное колебание суточного ритма не только в течение дня (в 9 ч., 12 ч., 15 ч., 20 ч.), но и в последующие дни.

Изучение суточной периодичности митотической активности позволяет оценить действие испытуемых веществ (ИУК, ИМК, сырец 1 и 145), которые в конкретном случае стимулируют или, наоборот, тормозят деление клеток, ибо без знания динамики суточных изменений митотической активности полученные данные отразят не результат воздействия, а естественный ход суточного ритма [16]. Известно, что у растений существует естественная суточная периодичность, которая для одних выражается в наличии отчетливого максимума днем и минимума ночью [9, 16], а для других—наоборот [10]. Существование суточного ритма интенсивности митозов у растений, безусловно, связано с периодичностью их физиологической деятельности. Тщательный анализ митотической активности естественного суточного ритма, а также его сопоставление с данными анализа корешков, обработанных различными веществами, показал их своеобразную реакцию на деление клеток корешков бобовых. В то же время в различных средах корешки по длине почти не отличались, за исключением корешков, обработанных ИУК и ИМК.

Доказано, что чем чаще происходит деление клеток и чем длительней рост, тем клетки меньше и наоборот. Наблюдения Максимова [8] показали, что вследствие клеточных делений в точке роста непрерывно увеличивается число клеток эмбриональной ткани, но их средний размер не увеличивается. Размеры меристематических клеток как у *Vicia faba*, так и у различных растений не остаются постоянными, а увеличиваются по мере удаления от зоны деления кончика корня. Некоторые ученые считают, что стимуляция клеток к делению может происходить без стимуляции к растяжению и наоборот [6].

Наши наблюдения показали, что увеличение размера клеток в корешках происходит после того, как деление прекращается. Корешки же контрольного и подопытного вариантов в этом плане особенно не отличаются.

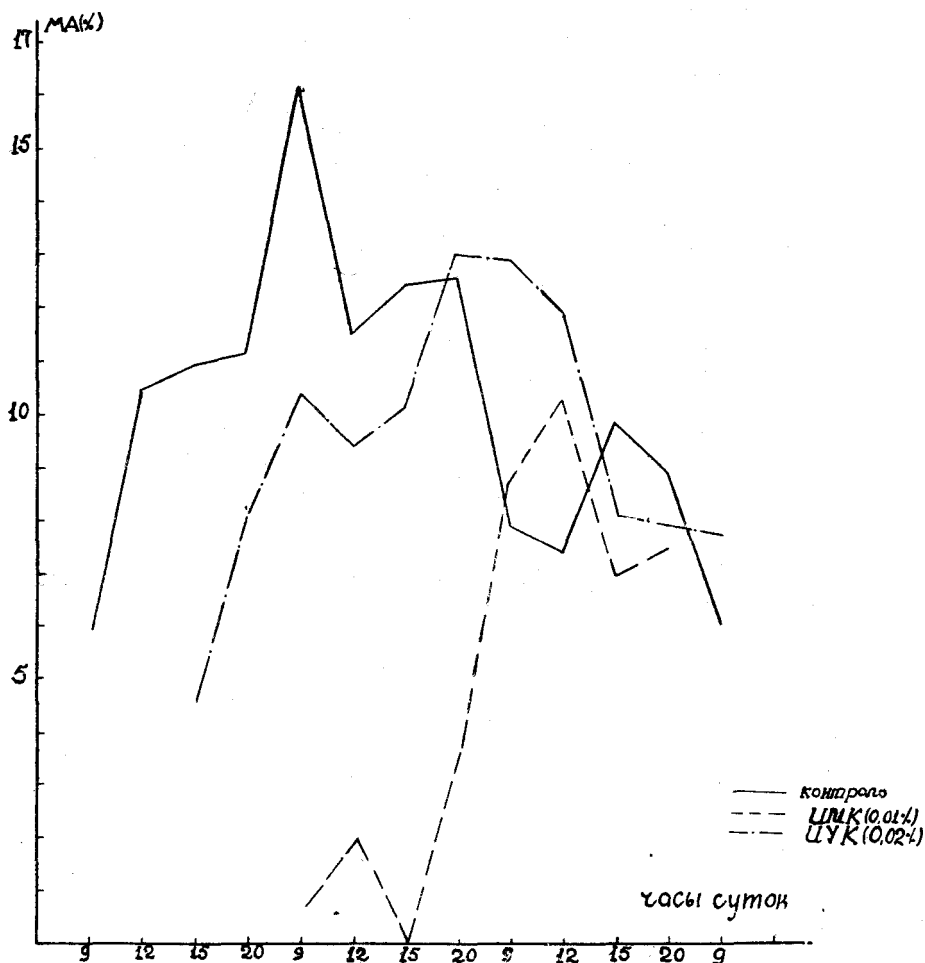


Рис. 1. Суточный ритм митотической активности у *Vicia faba* L. при обработке семян ИУК и ИМК. По оси абсцисс — время суток (часы), по оси ординат — митотическая активность (в %).

Как видно из данных таблицы, под воздействием физиологически активных веществ размеры клеток не увеличились. Длина клеток корешков во всех вариантах колеблется от 20—26 μ за исключением III варианта. Микроскопические исследования показали разницу в поведении корешков, проращиваемых в двух различных сырцах. Оказалось, что клетки корешков в сырце I имеют высокую митотическую активность, но по объему они не крупные, в противоположность корешкам семян, обработанных сырцом 145 (таблица). Приблизительно такая же закономерность наблюдается в корешках семян, обработанных ИУК и ИМК. Таким образом, стимуляция деления клеток не ведет также к их растяжению. Поэтому мы предполагаем, что длина корешков семян в одном

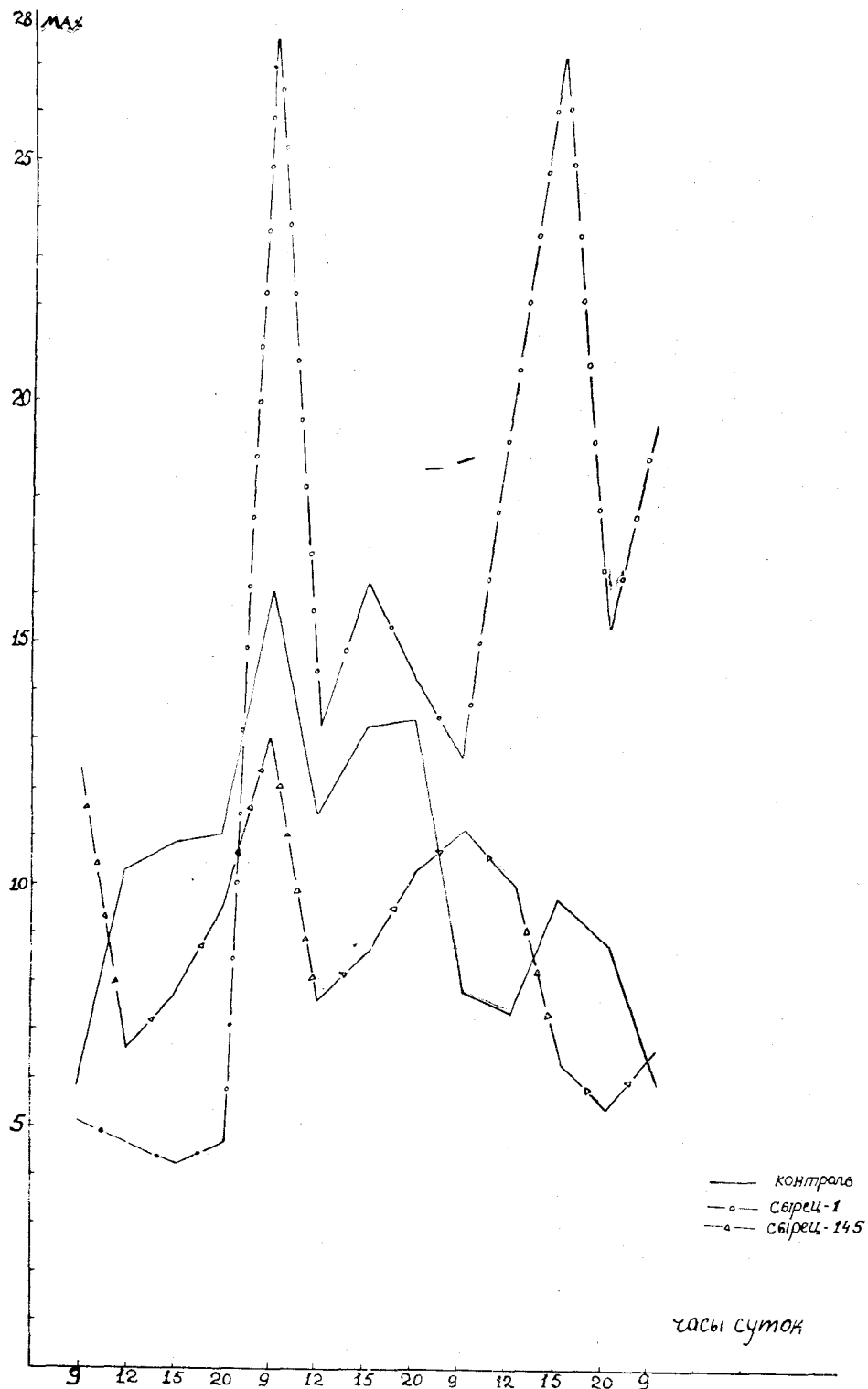


Рис. 2. Суточный ритм митотической активности у *Vicia faba* L. при обработке семян сырцами. По оси абсцисс — время суток (часы), по оси ординат — митотическая активность (в %).

случае обеспечивается за счет деления (сырец 1), а в другом (сырец 145)—растяжения.

Нужно отметить, что в клетках корешков испытуемые вещества не вызывают каких-либо нарушений в клеточном ядре. Наоборот, обработка растений физиологически активными веществами вызывает быструю защитную реакцию у растений, значительно уменьшает лучевое повреждение [1]. Результаты повторного опыта привели нас к выводу, что вещества группы сырцов значительно стимулируют прорастание семян и рост проростков, усиливая деление клеток в меристематических тканях.

Цитологические исследования еще раз подтверждают данные об ускорении и резкой активации роста корешков семян и черенков, обработанных в сырцах. Эти вещества ускоряют сложные физиологические, биохимические и другие процессы, которые приводят, по-видимому, с одной стороны, к сокращению прохождения клеточного цикла [10], а с другой—включению большей части клеток в митотическое деление.

Следовательно, создавая определенную среду для проращивания семян, мы можем менять темп, скорость деления клеток, тем самым сокращая цикл клеточного деления. В силу этого происходит сдвиг естественной митотической активности у корешков семян, обработанных сырцами.

Ереванский государственный университет,
научно-исследовательская лаборатория цитологии

Поступило 22.VII 1968 г.

Հ. Գ. ԲԱՏԻԿՅԱՆ, Ս. Ն. ՄՈՎՍԵՍՅԱՆ, Ս. Գ. ԵՐՎԱՆԴՅԱՆ

ՖԵԶԻՈԼՈԳԻԱՊԵՍ ԱԿՏԻՎ ՆՅՈՒԹԵՐԻ ԱԶԴԵՅՈՒԹՅՈՒՆԸ VICIA FABA L-Ի ԱՐՄԱՏԱԾԱՅՐԵՐԻ ՄԵՐԻՍՏԵՄԱՏԻԿ ԲԶԻԶՆԵՐԻ ՎՐԱ

Ա մ փ ն փ ու մ

Արմատածայրերի մերիստեմատիկ բջիջների վրա ինդոլիլքացախաթթու (ԻՔԹ) և ինդոլիլլուզաթթու (ԻՅՈՒԹ) հետերոտուքսինների ազդեցության բջջաբանական պատկերի պարզաբանման նպատակով մենք կրկնակի անգամ փորձ ենք դրել *Vicia faba*-ի սերմերի վրա:

Հետազոտությունները կատարվել են հետևյալ տարբերակներով.

1. Ջուր (ստուգիչ), 2. (ԻՔԹ) ինդոլիլքացախաթթու— 0,02% ջրային լուծույթ, 3. (ԻՅՈՒԹ) ինդոլիլլուզաթթու— 0,01% ջրային լուծույթ, 4. հումք 145—1% ջրային լուծույթ, 5. հումք 1—1% ջրային լուծույթ:

Vicia faba-ի օդաչոր սերմերը 1 օր մնացել են համապատասխան լուծույթների մեջ և ապա՝ ցանվել: Արմատածայրերի ֆիքսացիան կատարվել է սերմերի ծլելուց 1 օր հետո, որոշակի ժամերի (ժ. 9, 12, 15, 20), մինչև 4-րդ օրը: Որպես ֆիքսաթ օգտագործվել է սպիրտ-քացախաթթվային 3:1 հարաբերությամբ խառնուրդը: Ընդունված բջջաբանական մեթոդով պատրաստվել են հեմատոքսիլինով ներկված մշտական պրեպարատներ:

Յուրաքանչյուր ժամի համար միտոզում գտնվող բջիջների թիվը որոշվել է 5 արմատածայրում (յուրաքանչյուրից՝ 5 տեսադաշտ), իսկ մեծությունը՝ 100 բջջի միջինից:

Կատարված աշխատանքի արդյունքների անալիզը բերում է այն հետևության, որ հումքերի շարքին պատկանող նյութերը (հումք 145 և հումք 1) նպաստում են սերմերի արագ և համերաշխ ծլելուն, ակնհայտորեն խթանում արմատածայրերի մերիստեմատիկ բջիջներում ընթացող միտոտիկ պրոցեսը:

Հետերոաուքսիններից ինդոլիլբացախաթթուն և հատկապես՝ ինդոլիլլուզաթթուն, խիստ կասեցնում են արմատածայրերի աճը, առաջ բերում մորֆոլոգիական փոփոխություններ, արգելակում միտոզը:

Միտոտիկ ակտիվության օրական ռիթմը միևնույնը չէ տարբեր տարբերակներում, այն մաքսիմումի է հասնում 2—3-րդ օրը (տարբեր ժամերի): Միտոտիկ ակտիվության բարձրացումը չի ուղեկցվում բջիջների ձգմամբ-երկարացմամբ: Ֆիզիոլոգիապես ակտիվ նյութերի ազդեցությունից բջիջների մեծությունը չի փոխվում:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Араратян Л. Г. Биол. ж. Армении АН АрмССР, т. XX, 9, 1967.
2. Галачян Р. М. Изв. АН АрмССР (биол. н.), т. XXI, 5, 1963.
3. Галачян Р. М. Изв. АН АрмССР (биол. н.), т. XVIII, 2, 1965.
4. Гамбург К. З. ДАН СССР, т. 145, 4, 1962.
5. Гамбург К. З. Цитология, т. X, 3, 1968.
6. Гамбург К. З., Мальцева В. Н., Кебыльский Г. И. Физиология растений, 12, 1, 1965.
7. Еласкова Т. Н., Закиров С. З., Конарев В. Г. Биология нуклеинового обмена у растений, 1959.
8. Максимов Н. А. Бюлл. Моск. общ. исп. природы (отд. биол.), т. 41, вып. 2, 1946.
9. Мовсесян С. Н. Суточный ритм кариокинеза растительной клетки и изменение ее кариотипа в результате измененных условий. Автореферат, Ереван, 1951.
10. Мэзия Д. Митоз и физиология клетки деления, М., 1963.
11. Полевой В. В. Сборник «Регуляторы роста растений и нуклеиновый обмен», 1965.
12. Турецкая Р. Х. Влияние ростовых веществ на корнеобразование, 1944.
13. Турецкая Р. Х. Бот. журн. АН СССР, т. XXXIII, 1, 1948.
14. Чайлахян М. Х., Галачян Р. М., Саркисова М. М. ДАН СССР, т. 146, 5, 1962.
15. Чайлахян М. Х., Галачян Р. М., Саркисова М. М. Известия АН АрмССР (биол. н.), т. XIII, 8, 1964.
16. Carleton J. Anat., 68, 1934. (Цитировано по Залкинеду С. Я. и И. А. Уткину. Успехи современ. биологии, т. XXXI, вып. 2, 1951).