

А. Г. АБРАМЯН, А. В. АРУСТАМЯН

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ГИДРАЗИДА МАЛЕИНОВОЙ КИСЛОТЫ И ЭКЗОГЕННЫХ ФИТОГОРМОНОВ В ПРОЦЕССЕ РОСТА КОЛЕОПТИЛЕЙ ПШЕНИЦЫ

Исследовалось взаимодействие ГМК и экзогенных фитогормонов при их воздействии на coleoptили, находящиеся в фазе растяжения.

Установлено, что ГМК подавляет, а фитогормоны стимулируют растяжение клеток. Фитогормоны как в отдельности, так и в сочетаниях снимают или ослабляют ингибирующее действие ГМК. Предполагается, что ингибирующее действие ГМК на растяжение клеток связано с нарушением регуляторных функций эндогенных фитогормонов.

Гидразид малеиновой кислоты (ГМК) как химический регулятор роста получил общее признание [1]. В настоящее время накопилась довольно большая литература, освещающая различные аспекты действия ГМК на рост и жизнедеятельность растений. Обсуждались также вопросы внутреннего механизма действия его [1—4]. Однако единой точки зрения в отношении внутреннего механизма действия ГМК в настоящее время нет. Кроме того, многие стороны физиолого-биохимического действия ГМК остаются невыясненными. В частности, мало изучено взаимодействие ГМК с фитогормонами. Имеющиеся по этому вопросу немногочисленные данные относятся в основном к индоллилуксусной кислоте (ИУК) и противоречивы [5—7].

В наших прежних исследованиях было показано, что ингибирующее действие ГМК каким-то образом сопряжено с функциями эндогенных фитогормонов [8]. Было установлено, что у интактных растений ИУК и гибберелловая кислота (ГК) полностью или частично снимают морфо-физиологические эффекты, вызываемые ГМК. В настоящей работе мы попытались выяснить взаимодействие ГМК и фитогормонов в фазе растяжения. Сложность выяснения этого вопроса заключалась в том, что в растущих тканях растений рост осуществляется одновременно и делением клеток, и их растяжением, внутренние механизмы которых различные. Поэтому необходимо было выбрать объекты, где эти две фазы роста были расчленены во времени. Кроме того, в интактных тканях на процессы роста большое влияние оказывают коррелятивные явления—поступление различных сигналов и метаболитов из других органов, которые часто мешают получению четкой картины действия отдельных факторов на рост делением или растяжением. В этом отношении хорошим объектом являются coleoptили злаковых растений, в частности пшеницы. Исследованиями Мондаевой и Хав-

кина [9] было установлено, что рост колеоптилей кукурузы в первые 70 час. после замачивания семян осуществляется как за счет деления, так и растяжения клеток, после чего следует фаза «чистого» растяжения. По-видимому, подобное явление имеет место и в колеоптилях пшеницы. Однако необходимо было установить это экспериментально. Кроме того, для выяснения пригодности колеоптилей пшеницы как тест объекта для решения нашей задачи необходимо было установить также в какой мере они в фазе растяжения чувствительны к фитогормонам. Ранее нами было установлено, что колеоптили пшеницы в фазе растяжения очень чувствительны к ГМК [10]. Имеется большое количество данных также о чувствительности колеоптилей в этой фазе к ИУК. Отвечая реакции отрезков колеоптилей настолько специфична, что этот тест стал классическим для обнаружения ауксинов [11, 12]. В отношении же ГК и кинетина (К) на рост отрезков колеоптилей в литературе нами сведений не обнаружено, хотя имеются многочисленные данные о влиянии этих фитогормонов на рост растяжением других тканей [13, 14]. Кефели [15] считает, что тест колеоптилей не специфичен для ГК. В то же время Райт [16] находит, что молодые колеоптили проявляют высокую чувствительность к ГК и К.

Таким образом, необходимо было провести предварительные опыты для выяснения причастности отрезков колеоптилей пшеницы как теста для наших целей.

Материал и методика. В опытах использовались колеоптили пшеницы Безостая I. Выращивание семян и приготовление отрезков проводились по Бояркину [11]. Полученные отрезки колеоптилей инкубировались в водных растворах ГМК (натриевой соль) и фитогормонов. Во всех опытах концентрация фитогормонов и ГМК как в отдельности, так и в сочетаниях составляла: ГК— 10^{-4} , К— 10^{-3} , ИУК— 10^{-3} , ГМК— 10^{-1} %. После инкубации при 27°C измерялась длина всех отрезков по вариантам, определялся прирост и по полученным данным составлялись гистограммы.

Результаты и обсуждение. Для того чтобы убедиться, что ткани колеоптилей 72-часового возраста растут действительно только за счет растительных клеток, 6 мм отрезки колеоптилей инкубировались в течение 20 час. в воде, после чего измерялась их длина и подсчитывался прирост, который равнялся 56%. Параллельно в начале и в конце опыта измерялась длина паренхиматических клеток отрезков, которая соответственно равнялась $46 \pm 5,2$ и $72 \pm 8,1$ мк. Прирост клеток растяжением составлял 52%.

Следовательно, рост отрезков колеоптилей пшеницы протекал только за счет растяжения клеток.

Для выяснения чувствительности отрезков колеоптилей к ГК было поставлено несколько опытов, в которых отрезки инкубировались в различных концентрациях ГК в 2% растворе сахарозы (рис. 1). Из кривой видно, что в определенном интервале концентраций ГК заметно стимулирует рост колеоптилей растяжением.

В другом опыте изучалось влияние 10^{-4} и 10^{-6} % растворов ГК и 10^{-3} и 10^{-5} % растворов кинетина на рост отрезков при инкубации в

дистиллированной воде. В этом случае стимулирующее действие ГК было слабее и при $10^{-4}\%$ концентрации достигало 40%. Действие же $10^{-3}\%$ раствора кинетина достигало 25%. В то же время 0,1% ГМК подавлял рост на 60%. Эти данные показали, что отрезки колеоптилей являются удобным тестом для изучения взаимодействия ГМК и фитогормонов.

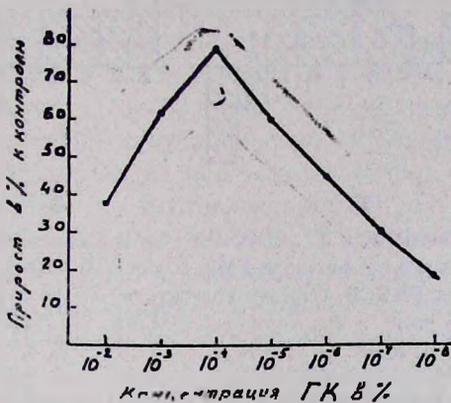


Рис. 1. Кривая зависимости роста отрезков колеоптилей от концентрации ГК.

Отрезки колеоптилей инкубировались 3,5 час. в 0,1% растворе ГМК, после чего они промывались, высушивались фильтровальной бумагой и перекладывались в растворы фитогормонов и воду. Здесь инкубация продолжалась еще 17 час. (рис. 2, А). Как видно из гистограммы, после 3,5 час. инкубации в ГМК и последующей 17-часовой—в воде рост отрезков подавлялся на 30%, а при продолжении инкубации в ГМК—на 65% (рис. 2, А; 8, 9). При инкубации же после ГМК в растворах фитогормонов и их сочетаний во всех случаях наблюдалась стимуляция роста, особенно в вариантах, где участвовала ИУК. Сравнительно слабое усиление роста отмечалось в вариантах с ГК и К в их сочетаниями.

Параллельно был поставлен другой опыт, в котором колеоптили инкубировались 17 час. в среде фитогормонов после 3,5-часовой инкубации в воде. Этот опыт как бы служил контролем для предыдущего (рис. 2, Б). Сравнивая две гистограммы, можно заметить, что действие фитогормонов и их сочетаний после воздействия ГМК и без него почти одинаковое. Исключение составляет ИУК, которая после 3,5-часового воздействия ГМК оказывает более сильное стимулирующее действие, чем после инкубации в воде (варианты А-1 и Б-1). Такое действие ИУК у нас вызвало сомнение. Однако при повторных опытах были получены аналогичные данные.

Таким образом, результаты этого опыта показывают, что ИУК, ГК и К в водной среде как самостоятельно, так и в сочетании друг с другом оказывают стимулирующее влияние на рост отрезков колеоптилей, тогда как ГМК сильно подавляет его. Эти же фитогормоны снимают ингибирующее действие ГМК. Более сильное действие оказывает ИУК как в отдельности, так и в сочетании с другими фитогормонами. Так как в этом опыте экспозиция в ГМК и фитогормонах была различная (3,5 и 17 час.), был поставлен второй опыт, в котором отрезки колеоп-

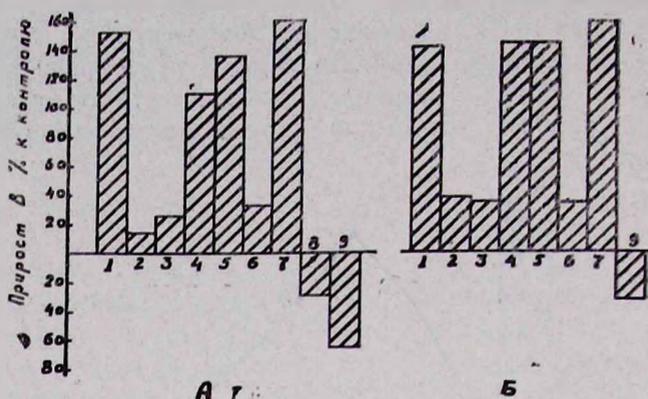


Рис. 2. Гистограммы ГМК и фитогормонов: А. Отрезки coleoptилей 3,5 часа инкубировались в 0,1% растворе ГМК, затем 17,5 часа в растворах фитогормонов, воде и ГМК, Б. Отрезки coleoptилей 3,5 часа инкубировались в воде, затем 17,5 часа в фитогормонах и ГМК. 1. ИУК, 2. ГК, 3. К, 4. ИУК+ГК, 5. ИУК+К, 6. ГК+К, 7. ИУК+ГК+К, 8. H_2O , 9. ГМК.

тилей сначала инкубировались 3,5 час. в фитогормонах или воде, а затем 17 час. в ГМК. Параллельно для выяснения чистого действия испытуемых веществ при 3,5 час. инкубации ставился опыт, в котором последующая инкубация в течение 17 час. проводилась в воде. Из рис. 3, А видно, что ГМК после 3,5-часовой инкубации в воде за 17 час. действия подавлял рост более чем на 30%. Действие же его после первич-

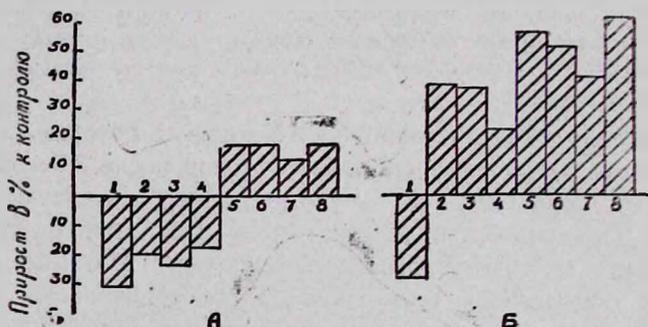


Рис. 3. Гистограммы ГМК и фитогормонов: А. Отрезки coleoptилей 3,5 часа инкубировались в воде или растворах фитогормонов, затем 17,5 часов в ГМК. 1. H_2O , 2. ИУК, 3. ГК, 4. К, 5. ИУК+ГК, 6. ИУК+К, 7. ГК+К, 8. ИУК+ГК+К, Б. Отрезки coleoptилей инкубировались 3,5 часа в ГМК или фитогормонах, затем 17,5 часа в воде. 1. ГМК, остальные значения те же, что и в А.

ной инкубации отрезков в ИУК и ГК заметно ослабевало. Это значит, что даже 3,5-часовая инкубация в среде с фитогормонами в какой-то степени защищает отрезки от ингибирующего действия ГМК. Еще сильнее протекторное действие фитогормонов проявляется при их совместном использовании.

Сравнение гистограмм (рис. 2, Б; рис. 3, Б) показывает, что 17-часовое действие ИУК после инкубации в воде почти в четыре раза сильнее стимулирует рост, чем при первоначальной 3,5-часовой экспозиции. Действие же ГК и К усиливается всего в пределах 10%. Примерно такая же закономерность наблюдалась при сочетании фитогормонов.

При взаимодействии с ГМК характер действия фитогормонов зависит от времени и продолжительности действия (рис. 2, А; рис. 3, А). Когда фитогормоны действуют 17 час. после 3,5-часовой инкубации отрезков в ГМК, ингибирующее влияние последнего полностью снимается во всех вариантах. При обратной же комбинации, когда ГМК действует после 3,5-часовой инкубации в растворах фитогормонов, стимулирующее влияние последних проявляется слабо, особенно при самостоятельном действии их. В отдельности ИУК, ГК и К снижают ингибирующее действие ГМК всего на 10%. В сочетании же они полностью снимают ингибацию роста и в какой-то мере даже стимулируют его, однако их действие бывает заметно слабее, чем без последующего воздействия ГМК. По-видимому, слабое действие фитогормонов на рост колеоптилей в этом опыте надо объяснить кратковременностью экспозиции в их среде или же продолжительным действием ГМК.

Для уточнения этого вопроса был поставлен опыт, где продолжительность действия ГМК и фитогормонов были одинаковые, по 3,5 часа. Отрезки сначала инкубировались в ГМК, а затем в фитогормонах и воде (контроль). Измерения показали, что, по сравнению с вариантом ГМК+вода, прирост отрезков составляет в ИУК—419, в ГК—163, в К—193%. Прирост контрольных отрезков, инкубированных только в воде, также составлял 163%.

Результаты этого опыта показывают, что слабое действие фитогормонов в предыдущем опыте действительно было обусловлено продолжительностью действия ГМК. Интересные результаты были получены в опыте, где отрезки колеоптилей в течение 20 час. инкубировались в среде с ГМК и фитогормонами (рис. 4). Как видно из гистограммы, ГМК подавлял рост более чем на 60%. При совместном же действии с ИУК, при той же концентрации ГМК, рост не только не подавлялся, но и был больше контроля на 50%. ГК и К соответственно на 45 и 55% снижали ингибирующее действие ГМК. Если учесть, что эти фитогормоны самостоятельно стимулировали рост всего на 30 и 20%, то можно констатировать, что они снимают или блокируют действие ГМК.

Таким образом, проведенные исследования показали, что ГМК подавляет рост растяженном отрезков колеоптилей *in vitro*, а фитогормоны стимулируют его. В то же время фитогормоны, как в отдельности, так и в сочетании, снимают или заметно ослабляют ингибирующее действие ГМК, что проявляется как при предварительной обработке, так и последующей или совместной обработке с ГМК.

Как было уже сказано о механизме внутреннего действия ГМК на рост растяженном в литературе данных не имеется. Имеющиеся данные о механизме ингибирующего действия ГМК через подавление синтеза ДНК [1, 3] относятся к меристематическим тканям, где рост идет

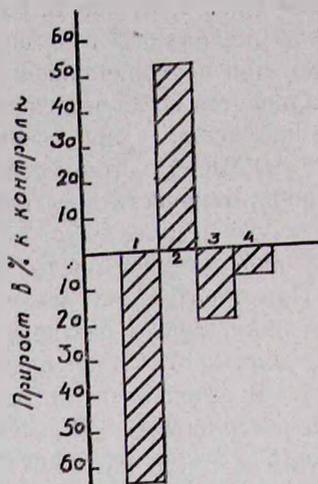


Рис. 4. Гистограммы ГМК и фитогормонов. Отрезки инкубировались 20 часов. 1. ГМК, 2. ГМК+ИУК, 3. ГМК+ГК, 4. ГМК+К.

за счет деления клеток. Поскольку в тканях 70—90-часовых колеоптилей делящихся клеток не имеется, то, следовательно, такой путь действия ГМК в данном случае исключается. Изучение взаимодействия ГМК и фитогормонов в фазе растяжения дает основание предполагать, что они действуют на один и тот же участок метаболической цепи.

Институт ботаники АН АрмССР

Поступило 30.III 1976 г.

Ա. Հ. ԱՐՐԱՀԱՄՅԱՆ, Ա. Վ. ԱՌՈՒՍԱՄՅԱՆ

ՄԱԼԻՆԱՅԻՆ ԹԹՎԻ ՀԻՊՐԱԶԻԴԻ ԵՎ ԷԿՋՈԳԵՆ
ՖԻՏՈՀՈՐՄՈՆՆԵՐԻ ՓՈԽԱԳՅԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ՑՈՐԵՆԻ
ԿՈԼԵՈՊՏԻԼՆԵՐԻ ԱՃՄԱՆ ԸՆԹԱՑՔՈՒՄ

Ա մ փ ո փ ո ս մ

Ուսումնասիրությունները պարզել են, որ ՄԹՀ ճնշում է, իսկ ֆիտոհորմոնները խթանում են կոլեոպտիլների հատվածների անը ձգման ֆազայում: Հաջորդաբար կամ համատեղ ազդման ժամանակ ֆիտոհորմոնները, կախված ազդման ժամանակից, կամ լրիվ վերացնում են կամ նկատելիորեն թուլացնում ՄԹՀ-ի արգելակիչ ազդեցությունը: Ենթադրվում է, որ ՄԹՀ և ֆիտոհորմոնները ազդում են մետարոլիկ շղթայի միևնույն օղակների վրա:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Раткин Ю. В. Сб. Гидразид малеиновой кислоты как регулятор роста растений. М., 1973.
2. Баскаков Ю. А. М., Изд-во АН СССР, 1958.

3. Лобов В. П. Сб. Гидразид малеиновой кислоты как регулятор роста растений. М., 1973.
4. Leopold A. C., Klein W. H. Science, 114, 9, 1951.
5. Яворская В. К., Калинин Ф. Л. Сб. Гидразид малеиновой кислоты как регулятор роста растений. М., 1973.
6. Kuleshka Z. Acta bot. neerl, 4, 3, 404, 1955.
7. Pilet P. Physiol. Plantarum, 10, 4, 791, 1957.
8. Абрамян А. Г. Онтогенез высших растений (Тр. ботанического ин-та АН Арм. ССР), 18, 1972.
9. Манданов Е. Г., Хавкин Э. Е. Сб. Рост и клеточная дифференцировка растений. М., 1967.
10. Абрамян А. Г. Биологический журнал Армении, 26, 5, 1973.
11. Бояркин А. Н. Кн. Методы определения регуляторов роста и гербицидов. М., 1966.
12. Кефели В. И. и Турецкая Р. Х. Кн. Методы определения регуляторов роста и гербицидов. М., 1966.
13. Кулаева О. Н. Цитокинины—их функция и структура. М., 1973.
14. Муромцев Г. С., Агнисткова В. И. Гормоны растений—гибереллины. М., 1973.
15. Кефели В. И. Природные ингибиторы роста и фитогормоны. М., 1974.
16. Wright S. T. Nature. 190 (699), 1961.