

М. Х. ЧАЙЛАХЯН, Э. Л. МИЛЯЕВА, Л. И. ЯНИНА

## ВЛИЯНИЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ НА РОСТ, РАЗВИТИЕ И ДИФФЕРЕНЦИАЦИЮ АПЕКСОВ РУДБЕКЦИИ ДВУЦВЕТНОЙ

Среди других физиологически активных соединений наиболее сильное действие на рост и цветение растений оказывают гиббереллины. Особенно ярко это видно при воздействии растворами гиббереллинов на розеточные формы длиннодневных видов в условиях короткого дня [4, 13, 15]. Весьма существенным является то обстоятельство, что возникновение и рост стеблей и последующее цветение у розеточных форм на коротком дне (и у подавляющего большинства длиннодневных видов) является широко признанным правилом.

Вместе с тем попытки вызвать формирование стеблей и цветение у длиннодневных видов на коротком дне с помощью обработки растений другими физиологически активными веществами имели ограниченный успех. В условиях длины дня, близкой к критической, было получено цветение растений длиннодневных видов *Atmeria silene*, *Hyoscyamus niger* и *Lolium temulente* при обработке их гетероауксином [14, 16]. Цветение на коротком дне было вызвано у розеточных растений *Rudbeckia speciosa* путем обработки их фурфуриловым спиртом [18], у растений *Arabidopsis thaliana* — при обработке их кинетином, и у того же *Arabidopsis* и *Calendula officinalis* — под влиянием токоферола или витамина Е [11, 17]. Образование стеблей и цветение растений рудбекии *Rudbeckia bicolor*, выращенных в стерильных условиях в пробирочной культуре из изолированных верхушечных почек, было получено при введении в питательную среду 5-бромурацила и феруловой кислоты и образование стеблей — при введении хлорамфеникола [1].

Эффект, полученный с фурфуриловым спиртом, кинетином, токоферолом, 5-бромурацилом, феруловой кислотой и хлорамфениколом в индукции образования стеблей и цветения длиннодневных видов на коротком дне отличается от эффекта гиббереллина тем, что был получен в единичных опытах с отдельными видами растений и не воспроизводился позднее ни самими авторами, ни другими исследователями.

Испытание действия других физиологически активных соединений, помимо гиббереллинов, неоднократно проводилось в лаборатории роста и развития Института физиологии растений АН СССР на розеточных растениях рудбекии двуцветной (*Rudbeckia bicolor*) в условиях короткого дня. При этом было установлено, что аскорбиновая кислота, тиамин,

каротин, гетероауксин и альфанафтилуксусная кислота не вызывают образования стеблей и цветения у этих растений [5, 6]. Позднее были испытаны еще 35 соединений, среди которых были стимуляторы и ингибиторы роста: метаболиты и антиметаболиты нуклеинового обмена, полифенолы, органические кислоты, витамины, антибиотики и фурфуриловый спирт. Ни одно из испытанных веществ не вызвало образования стеблей и последующего цветения растений рудбекии на коротком дне [7].

Наконец было проведено испытание действия регуляторных веществ на рост и формообразование взрослых растений рудбекии в условиях короткого дня в водной культуре внесением их в водный питательный раствор и в пробирки с растеньицами, выращенными из изолированных почек, путем добавления веществ в питательную агаровую смесь. И в этих условиях только гиббереллин вызвал образование и рост стеблей, тогда как другие вещества, в том числе кинетин, токоферол, феруловая кислота и хлорамфеникол, подобного действия не оказали [8].

В настоящей работе было предпринято изучение влияния физиологически активных соединений не только на рост и формообразование рудбекии, но и на дифференциацию апексов и состояние клеток различных зон апексов.

*Влияние физиологически активных соединений на рост и развитие рудбекии.* В опыте были использованы 4-месячные растения рудбекии в почве в глиняных вазонах, причем до опыта они выращивались в условиях 9-часового короткого дня. С началом опыта, 5.I—6.III, в течение 2 месяцев на центральные почки растений наносили ежедневно с интервалами по 10 капель водного раствора веществ с добавлением Твин-80 для лучшего смачивания тканей почки.

Опыт проводился по следующей схеме: контроль; гиббереллин  $A_3$ —50 мг/л; гетероауксин—50 мг/л; 2,4-Д (2,4-дихлорфеноксиксусная кислота)—0,1 мг/л; триптофан—100 мг/л; аскорбиновая кислота—1,5 мг/л; тиамин—1,5 мг/л; токоферол—100 мг/л; кинетин—10 мг/л; 6-БАП (6-бензиламинопуридин)—1 мг/л; аденин—10 мг/л; феруловая кислота—55 мг/л; хлорамфеникол—100 мг/л.

В каждом варианте было по 10 растений.

В варианте с обработкой гиббереллином через 15 дней после начала опыта растения начали образование стеблей, которые впоследствии интенсивно росли. В варианте с обработкой 2,4-Д через 30 дней растения тоже начали образование стеблей, но это были необычные, короткие, аномальные стебли, рост которых проходил крайне медленно и закончился сразу с прекращением обработки. Состояние растений, обработанных гиббереллином и 2,4-Д, и контрольных растений через два месяца после начала опыта показано на рис. 1.

Растения всех остальных вариантов в течение двух месяцев оставались в фазе розетки.

Наиболее интенсивный рост листьев в длину был в вариантах с гиббереллином и 2,4-Д, но в последнем случае сильно задержался рост листьев в ширину; наиболее сильно был подавлен рост листьев в длину в



Рис. 1. Влияние гиббереллина и 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты (2,4-Д) на рост и развитие рудбекии в условиях короткого дня. Растения, обработанные: 1—гиббереллином, 2—2,4-Д и 3—контрольное.

вариантах с кинетином и 6-бензиламинопурином. В конце двухмесячного периода, 10.III, были произведены промеры листьев розеток (табл. 1, графа 3) и у части растений были срезаны центральные почки для микроскопического анализа состояния апексов.

Таблица 1

Действие и последствие физиологически активных соединений на рост и развитие рудбекии

Варианты	Короткий день		Индукция длинным днем. Число дней до образования стеблей	Длинный день		
	листья			Число дней до		высота растений к концу опыта, см
	длина, см	ширина, см		бутонизации	цветения	
Контроль	7,5±0,4	2,2±0,09	44	74	96	103
Гиббереллин	11,7±0,5	2,2±0,2	Стебление, бутонизация, цветение на коротком дне			
Гетероауксин	8,4±0,7	2,0±0,04	34	65	86	77
2,4-Д	11,3±0,3	0,8±0,06	Стебление аномальное на коротком дне	нет	нет	—
Триптофан	7,2±0,1	2,2±0,01	43	73	96	108
Аскорбиновая кислота	8,2±0,3	2,0±0,06	36	65	88	83
Тиамин	8,3±0,3	2,2±0,2	36	71	97	92
Токоферол	7,1±0,3	1,9±0,01	43	75	98	112
Кинетин	5,9±0,3	1,8±0,2	33	73	97	93
6-бензиламинопурин	5,8±0,2	2,1±0,1	35	75	97	111
Аденин	8,6±0,4	2,3±0,1	38	74	96	104
Феруловая кислота	7,9±0,3	1,9±0,01	51	76	96	110
Хлорамфеникол	8,7±0,3	2,3±0,08	40	74	97	115

В целях изучения совместного действия испытуемых веществ и благоприятной длины дня на образование стеблей растениям всех вариантов была дана 8-дневная индукция длинным днем, после чего они были вновь переставлены на короткий. В результате этой индукции у растений всех вариантов началось образование стеблей, но в вариантах с гетероауксином, аскорбиновой кислотой, тиамином, кинетином и 6-бензиламинопурином оно началось через 33—36 дней, т. е. раньше, чем в контроле и других вариантах, где оно наступило через 38—51 день (табл. 1, графа 4).

После того как растения всех вариантов образовали стебель, они были переставлены на длинный 18-часовой день. Растения большинства вариантов бутонизировали через 71—76 дней и цвели через 96—98 дней одновременно с контрольными, которые бутонизировали через 74 дня и цвели через 96 дней. Растения, обработанные гетероауксином и аскорбиновой кислотой, развивались быстрее: бутонизировали через 65 дней и цвели через 86 и 88 дней; растения, обработанные 2,4-Д, не бутонизировали и не цвели (табл. 1, графы 5 и 6; рис. 2 и 3).

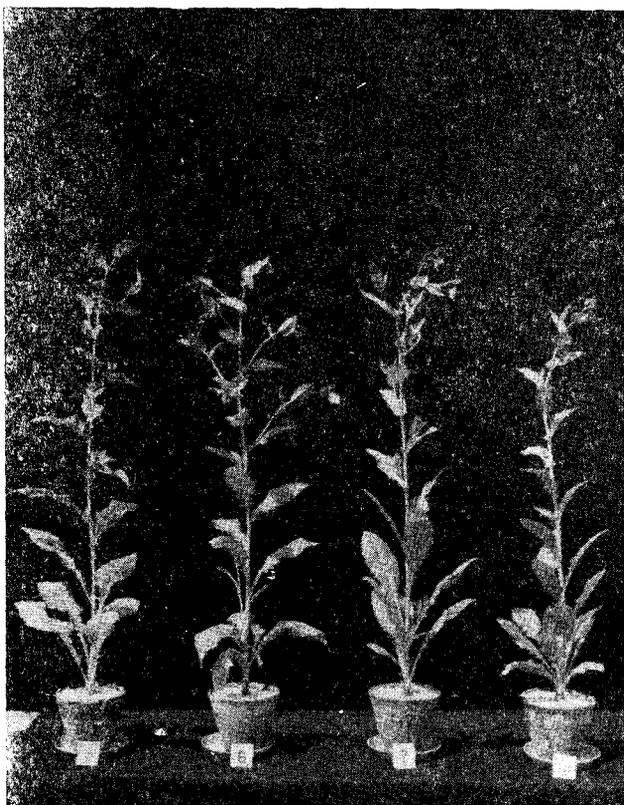


Рис. 2. Последействие кинегина, 6-бензиламинопурина и аденина на рост стеблей и бутонизацию рудбекии после перестановки с короткого дня на длинный. Растения, обработанные: 5—кинетином, 6—6-бензиламинопурином, 7—аденином, и контрольное (справа).

Таким образом, влияние различных физиологически активных соединений в проведенном опыте может быть подытожено следующим образом. 1. В условиях короткого дня гиббереллин вызвал сильный рост листьев в длину, образование и интенсивный рост стеблей; 2,4-Д способствовало образованию длинных узких жестких листьев и коротких, ано-



Рис. 3. Последействие гетероауксина и 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты (2,4-Д) на рост стеблей и цветение рудбекии после перестановки с короткого дня на длинный. Растения, обработанные: 3—гетероауксином, 4—триптофаном, 2—2,4-Д, и контрольное (справа).

мальных, медленно растущих стеблей; кинетин и 6-бензиламинопурин существенно задержали рост листьев и одновременно вызвали образование многочисленных пазушных побегов, вследствие чего розетки были несколько приподняты. 2. В результате 8-дневной индукции длинным днем последействие гетероауксина, аскорбиновой кислоты, тиамина, кинетина и 6-бензиламинопурина выразилось в значительно ускоренном образовании стеблей. 3. В условиях длинного дня, после предварительной обработки растений веществами на коротком дне, последействие гетероауксина и аскорбиновой кислоты проявилось в значительном ускорении бутонизации и цветения растений.

*Влияние физиологически активных соединений на дифференциацию*



*апексов растений.* Как уже было указано, у части растений после 2-месячной обработки физиологически активными веществами в условиях короткого дня были срезаны центральные почки для микроскопического анализа состояния апексов. У растений вариантов контрольного, с кинетином, 6-бензиламинопурином, аденином, хлорамфениколом и др. почки срезались с розеточных растений; в варианте 2,4-Д, где растения образовали короткие аномальные стебли, срезались верхушечные почки этих стеблей. В случае с гиббереллином брались для сравнения почки розеточных растений рудбекии, обработанных в течение всего 6 дней, из другого опыта, поскольку ко времени взятия проб в описанном опыте растения рудбекии, обработанные гиббереллином, через 2 месяца уже бутонизировали.

Для цитологического исследования апексы фиксировали в жидкости Карнуа, проводили через серию спиртов и заключали в парафин. Продольные срезы толщиной в 8 мк скрашивали метиловым зеленым и пиронином по Браше.

Нашими предыдущими исследованиями [9] (относительно действия длинного дня и гиббереллина на дифференциацию апексов рудбекии), было установлено, что апекс состоит из 3-х зон: центральной, боковой и медулярной. При этом оказалось, что усиление митотической активности в медулярной зоне связано с ростом стебля, тогда как в центральной зоне оно обусловлено образованием генеративных органов. Вместе с тем, уже было показано, что гиббереллин, помимо повышения митотической активности, вызывает также увеличение размеров клеток [2, 12]. В связи с этим представлялось интересным выяснить, как влияют физиологически активные соединения не только на митотическую активность, но и на размеры ядер и клеток.

Изучение апексов всех вариантов в отношении формы и степени митотической активности наиболее существенные отклонения от контроля выявило в вариантах с гиббереллином, кинетином и 6-бензиламинопурином. На рис. 4 приводятся схематические изображения поперечных срезов апексов растений этих вариантов, аденина и контрольного.

Из рис. 4 видно, что апекс контрольного растения небольшой и плоский, митотическая активность сосредоточена только в боковой зоне (рис. 4, а). В варианте с обработкой гиббереллином апекс крупный и выпуклый, митозы имеются не только в боковой зоне, но значительное их число появляется и в медулярной, а также в центральной зонах (рис. 4, б).

В вариантах с кинетином и 6-бензиламинопурином апекс слегка выпуклый, митотическая активность резко выражена во всех зонах его, особенно в центральной (рис. 4, в и г). Аденин вызывает такое же изменение формы апекса, но не влияет на митотическую активность клеток его — она схожа с тем, что наблюдается в контроле (рис. 4, д).

Обработка 2,4-Д привела к резкому терратологическому эффекту — образовавшийся аномальный стебель явился результатом хаотически расположенных митозов, появляющихся в разных участках апекса; на

апексе были обнаружены различного рода выросты. Обработка же хлорамфениколом — специфическим ингибитором синтеза белка — вызвала полное подавление митотической активности всех зон апекса.

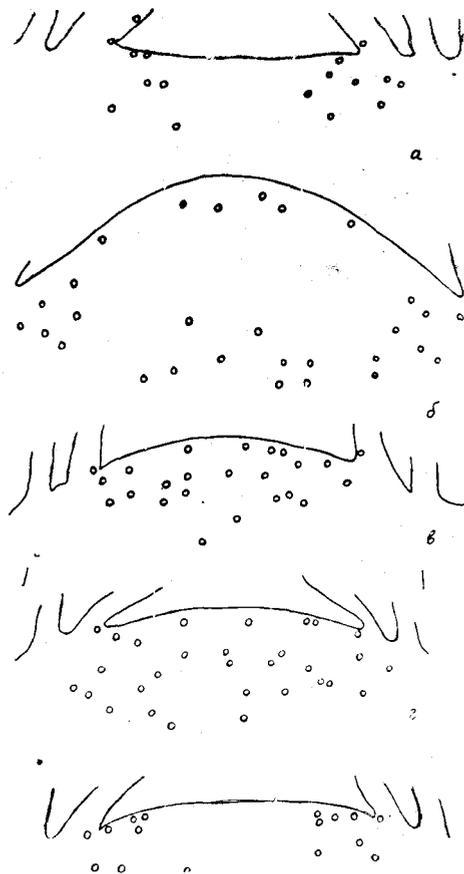


Рис. 4. Схематические изображения поперечных срезов апексов растений рудбекии, находившихся на коротком дне: а—контрольного и обработанных (б)—гиббереллином, (в)—кинетином, (г)—6-бензил-аминопурином, (д)—аденином. Кружками обозначены митозы.

При изучении влияния физиологически активных соединений на размеры клеток и ядер были взяты среднее 50 измерений клеток каждой зоны (табл. 2).

Сравнение размеров клеток контрольного апекса и апекса, обработанного гиббереллином, показывает, что обработка гиббереллином не влияет на размеры клеток. Если площадь клеток центральной зоны контрольного апекса составляет  $16,6 \pm 0,1$  мк, то в этом случае она составляет 16,5 мк, в боковой и медулярной зонах—соответственно 15,8 и 15,2 мк и 15,8 и 15,6 мк. В то же время ядра под влиянием гиббереллина становятся более крупными. В центральной зоне в контроле ядра имеют площадь 12,8 мк, в варианте с гиббереллином—13,3 мк; соответственно в боковой зоне—10,2 и 11,8 мк, в медулярной—10,8 и 11,7 мк.

Таблица 2

Действие физиологически активных веществ на размеры клеток и ядер в различных зонах апекса, мк

Зоны апекса		Физиологически активные вещества						
		контроль	гиббереллин	кинетин	6-БАП	аденин	хлорамфеникол	2,4-Д
Центральная	клетка	16,6±0,1	16,5±1,3	13±0,3	17,2±0,2	16±1,3	18,6±0,4	11,8±0,1
	ядро	12,8±0,02	13,3±0,1	8,4±0,04	11,8±0,1	9±0,2	10,6±0,2	6,2±0,03
Боковая	клетка	15,8±0,2	15,2±0,7	11,8±0,1	14,4±0,2	13,8±0,2	17,6±0,1	10,6±0,2
	ядро	10,2±0,05	11,8±0,08	7,4±0,1	8,8±0,1	7,8±0,04	8,8±0,07	6,4±0,2
Медулярная	клетка	15,8±0,2	15,6±0,9	16,4±0,2	17,6±0,2	—	17,8±0,8	13,8±0,2
	ядро	10,8±0,04	11,7±0,1	10,8±0,2	11,6±0,05	—	8,4±0,03	7,8±0,04

Сравнение размеров клеток и ядер апексов контрольных растений и растений, обработанных кинетином, показывает, что в боковой и центральной зонах клетки ядра заметно уменьшаются в размерах. Средняя площадь клетки и ядер в центральной зоне апекса контрольных растений составляет 16,6 и 12,8 мк, у обработанных кинетином—13,0 и 8,4 мк; в боковой зоне—соответственно 15,8 и 10,2 мк в контроле, 11,8 и 7,4 мк—в варианте с кинетином. Вместе с тем кинетин в клетках центральной зоны вызывает увеличение числа ядрышек, размеры которых меньше, чем в контроле (рис. 5 а и б).

У растений, обработанных 6-бензиламинопурином, клетки и ядра в центральной и боковой зонах апекса мало отличаются по своим размерам от контрольных растений (табл. 2, рис. 5 а и в). При обработке аденином размеры клеток не изменяются, но ядра становятся меньше и увеличивается число ядрышек в ядрах центральной зоны (табл. 2, рис. 5 а и г).

Под влиянием хлорамфеникола клетки апекса во всех зонах несколько увеличиваются: в центральной зоне их величина равна 18,6 мк (против 16,6 мк в контроле), в боковой зоне—соответственно 17,6 мк и 15,8 мк и в медулярной—17,8 и 15,8 мк. Величина ядер, напротив, уменьшается, клетки сильно специализируются и интенсивность окраски пиронином снижается, что свидетельствует о снижении объемной концентрации цитоплазматической РНК (табл. 2, рис. 5, а и д).

При обработке растений 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислотой клетки апекса претерпевают значительные изменения: существенно уменьшаются размеры клеток (в центральной зоне с 16,6 до 11,8 мк); почти в два раза уменьшаются размеры ядер (с 12,8 до 6,2 мк); цитоплазма становится грубогранулированной и отходит к клеточным стенкам; окраска ядер метиловым зеленым вместо зеленой становится синей, что указывает на деполимеризацию ДНК (табл. 8, рис. 5, а и е).

Приведенные данные показывают, что каждое из испытанных веществ оказывает специфическое влияние на апексы растений. Гиббереллин усиливает митотическую активность клеток медулярной и боковой

зон и, не влияя на размеры клеток, вызывает укрупнение ядер. Кинетин и 6-бензиламинопурин одинаково усиливают митотическую активность клеток всех зон апекса, но при этом кинетин уменьшает размеры клеток и ядер и увеличивает число мелких ядрышек, а 6-бензиламинопурин на размеры клеток и ядер не влияет. Аденин отличается от этих обоих соединений тем, что не влияет на митотическую активность, но подобно ки-

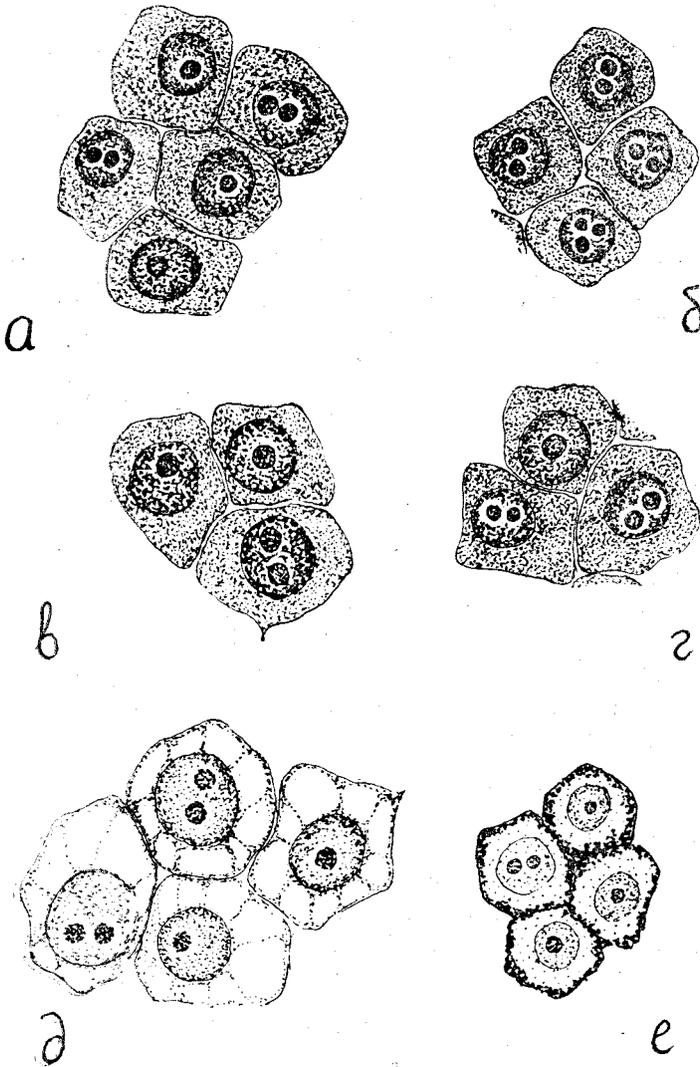


Рис. 5. Клетки из центральной зоны апексов растений рудбекии, находившихся на коротком дне: а—контрольного и обработанных, б—кинетином, в—6-бензиламинопурином, г—аденином, д—хлорамфениколом, е—2,4-дихлорфенокснуксусной кислотой. Окраска по Браше. Увел. 10×90.

нетину увеличивает число ядрышек в ядрах и подобно 6-бензиламинопурину не влияет на размеры клеток. Хлорамфеникол вызывает полное подавление митотической активности всех зон апекса, сами клетки увели-

чиваются в размерах и вакуолизируются, а ядра уменьшаются. 2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота оказывает терратологический эффект — митозы располагаются хаотически в разных участках апекса, сильно уменьшаются размеры клеток и ядер, цитоплазма становится грубогранулированной и отходит к клеточным стенкам.

Гетероауксин и витамин С, В<sub>1</sub> и Е (аскорбиновая кислота, тиамин и токоферол) не вызывают каких-либо существенных изменений в митотической активности и в размерах клеток и ядер апекса.

*Обсуждение результатов.* Результаты проведенных опытов показывают, что гиббереллин остается единственным физиологически активным веществом, которое вызывает образование и рост стеблей рудбекии в условиях короткого дня. Эта реакция является весьма чувствительной и специфичной для обнаружения гиббереллинов и гиббереллиноподобных веществ [3]. Данные, полученные другими авторами [1, 11, 17] в отношении способности феруловой кислоты и хлорамфеникола вызывать эту реакцию у рудбекии, а также в отношении кинетина и токоферола на других растениях, нашей работой не подтверждаются.

Внутренними изменениями в апексе растений, предвещающими морфогенетический эффект гиббереллина, являются усиление митотической активности медулярной зоны, а впоследствии и центральной, и укрупнение ядер клеток. В физиологическом отношении можно предполагать, что здесь осуществляется гормональное действие гиббереллина на синтез ДНК — приводящее к усилению митотической активности медулярной зоны, вследствие чего начинается рост стебля.

Образованию короткого аномального стебля и узких жестких листьев под влиянием 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты соответствуют патологические изменения в апексе: хаотическое распределение митозов в различных зонах, резкое уменьшение размеров клеток и ядер, грануляция протоплазмы.

Розеточная форма, в которой находятся растения других вариантов опыта, скрывает резко различное состояние апексов. Высокая митотическая активность апексов, вызванная обработкой кинетином и 6-бензиламинопурином, существенно отличается не только от полного подавления активности, вызванного хлорамфениколом, но и от ограниченной митотической активности других опытных и контрольного вариантов. Известное отражение высокая митотическая активность апексов при обработке кинетином и 6-бензиламинопурином находит в том, что розетки имеют несколько приподнятую форму, а при 8-дневной индукции длинным днем эти растения образуют стебли значительно раньше, чем контрольные.

Такое же ускорение образования стеблей вызвало действие гетероауксина, аскорбиновой кислоты и тиамина, хотя каких-либо существенных изменений в дифференциации апекса эти вещества не вызывают. Последствие гетероауксина и аскорбиновой кислоты проявилось также в условиях длинного дня в значительном ускорении бутонизации и цве-

тения растений, что явилось подтверждением наших ранее проведенных опытов [6, 10].

Таким образом, помимо явного морфогенетического эффекта, т. е. образования и роста стебля у розеточных форм, обусловливаемого гиббереллином, некоторые другие физиологически активные вещества вызывают существенные изменения в апексах розеточных растений, а при сочетании с фотопериодической индукцией длинным днем заметно ускоряют развитие растений.

Институт физиологии растений  
им. Тимирязева АН СССР

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Бутенко Р. Г. Культура изолированных тканей и физиология морфогенеза растений. Изд. АН СССР, 1964.
2. Кахидзе Н. Т. и Ермаков И. П. Физиология растений, 11, 914, 1964.
3. Ложникова В. Н., Хлопенкова Л. П. и Чайлахян М. Х. Агрехимия, 10, 132, 1967.
4. Чайлахян М. Х. Ботан. журнал, 43, 927, 1958.
5. Чайлахян М. Х. и Хлопенкова Л. П. ДАН, 129, 454, 1959.
6. Чайлахян М. Х. и Хлопенкова Л. П. ДАН, 1497, 1961.
7. Чайлахян М. Х., Хлопенкова Л. П. и Ложникова В. Н. ДАН АрмССР, 38, 45 1964.
8. Чайлахян М. Х., Егорова Т. А., Илгач Г. В. и Янина Л. И. ДАН АрмССР, 1970.
9. Чайлахян М. Х., Кахидзе Н. Т., Миляева Э. Л., Гукасян И. А. и Янина Л. И. Физиология растений, 16, 932, 1969.
10. Чайлахян М. Х. ДАН, III, 894, 1956.
11. Baszynsky T. Naturwissenschaften, 54, 339, 1967.
12. Brian P. and Hemming H. Physiolog. Plant 8, 669, 1955.
13. Bünsow R. und Harder R. Naturwissenschaften, 44, 453, 1957.
14. Evans L. T. Aust. Journ. Biol. Sci, 17, 10, 1964.
15. Lang A. Proc. nat. Acad. Sci (Wash.) 43, 709, 1957.
16. Liverman L. L. and Lang A. Plant Physiol. 31, 47, 1956.
17. Michniewicz M. and Kamenska A. Naturwissenschaften, 51, 295, 1964.
18. Nitsch J. P. and Harada H. Bull. Soc. Bot. France, 105, 319, 1958.