

ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

Известия ТСХА, выпуск 2, 2002 год

УДК 577.175.1

НЕКОТОРЫЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ПРОЦЕССОВ РЕГУЛЯЦИИ ОНТОГЕНЕЗА ДВУЛЕТНЕГО РАСТЕНИЯ СВЕКЛЫ (*BETA VULGARIS* L.)

Т. И. БАШКАТОВА, Ю. С. КОРЗИННИКОВ

(Иркутская государственная
сельскохозяйственная академия)*

Изучали некоторые физиологические (фитогормональные, осмотические) процессы механизма регуляции онтогенеза свеклы обыкновенной первого года жизни. Показано, что формирование корнеплода и подготовка его к переходу в покой складываются из двух фаз: опережающего роста объема корнеплода с ведущим участием АБК в этом процессе на первой фазе и определяющего значения низкого осмотического потенциала в накоплении сахаров в заключительной фазе формирования корнеплода.

Родиной свеклы (*Beta vulgaris* L.) является Средиземноморье. В условиях средиземноморского климата с жарким засушливым летом и холодной непродолжительной зимой растения выработали специфическое приспособление для перенесения кратковременных заморозков при температурах, близких к 0°C: сахароза, крахмал и

другие сложные углеводы гидролизуются до моносахаров, повышающих осмотическое давление и снижающих температуру замерзания клеточного сока.

Благодаря приспособительным реакциям обеспечивается размножение растений и распространение вида. Способность растений использовать природные усло-

Печатается в рамках сотрудничества и обмена опытом.

вия и управлять циклами развития осуществляется через рост побегов или корней, что в дальнейшем создает необходимые условия для образования многочисленных, хорошо сформированных репродуктивных органов.

В процессе онтогенеза организм реагирует на внешние условия, преобразованные в виде специфических сигналов. В качестве сигнальных агентов могут выступать ионы, например K^+ , и фитогормоны [13, 17]. Установлено, что в растениях появление концентрационных пулов сигнальных агентов связано с аттракцией питательных веществ, причем в качестве аттрагирующих центров выступают зоны интенсивного роста. Регуляторные механизмы, частично координируемые фитогормонами в физиологических концентрациях (от пико- до наномоль) [5, 7, 8], обеспечивают регуляцию уравновешенного снабжения всего организма элементами питания, необходимыми для гармоничного и адаптивного формирования органов [1,31]. В то же время некоторые исследователи [20] рассматривают рост как самодостаточный механизм регуляции онтогенеза растений, что в сочетании с теорией массового оттока [13] определяет

разрастание корнеплода как первичный механизм регуляции имматурного периода онтогенеза корнеплодного растения. Теория массового оттока [13] предполагает направление тока веществ по градиенту концентрации к соответствующим зонам их потребления (точкам роста побегов и корней).

В литературе рассматривается еще один возможный участник процесса передвижения ассимилятов — осморегуляция. Регулирование содержания осмотически активных веществ в цитоплазме клеток может осуществляться путем отложения запасных веществ в вакуолях клеток посредством механизма активного транспорта через тонопласт [25, 28]. На сегодняшний день вопросы взаимодействия двух регуляторных механизмов (гормонального и осмотического) и их участие в процессах роста и развития растения остаются недостаточно изученными.

Наша задача состояла в исследовании различных физиологических механизмов регуляции онтогенеза свеклы. Для достижения этого изучали динамику изменения гормонального и углеводного статуса растений в онтогенезе с учетом имеющихся данных по биосинтезу ИУК через малонилтриптофан [9,19],

оценивали корреляционную связь между изменением концентрации фитогормонов, ионов, углеводов и осмотического потенциала в первый год роста. Рассчитанные коэффициенты корреляции были использованы для построения графической модели возможных механизмов регуляции онтогенеза свеклы.

Методика

Корнеплод *Beta vulgaris* развивается из главного корня и гипокотила. С 12-14-го дня жизни проростка начинаются процессы преобразования корня в корнеплод. При активации камбия возникает перестройка первичного строения на вторичное, а затем сразу и на третичное в результате перехода от монокамбиальности к поликамбиальности. Поликамбиальность возникает в результате деления клеток перицикла и протофлоэмы. Этот добавочный «камбиальный» слой откладывает мощное кольцо паренхимы снаружи от центрального цилиндра. Часть клеток этой запасующей паренхимы не утрачивает меристематическую активность и продолжает делиться, увеличивая диаметр корнеплода. Всего камбиальных колец может быть до 8. Число колец в основном соответствует числу листьев, деленному на 2.

Добавочные камбиальные слои образуют преимущественно запасующую светлоокрашенную паренхиму. Кроме запасующей паренхимы, дополнительная меристема образует также ксилему и флоэму, образующие темноокрашенное кольцо. Так возникает слоистость корнеплодов свеклы [11]. Известно также, что формирование органов запасаения связано с переходом от линейного роста клеток к изодиаметрическому с увеличением их объема [10, 21]. Увеличение объема клеток может сопровождаться снижением концентрации всех осмотически активных соединений и, согласно теории массового оттока, определять направление транспорта запасаемых веществ.

Мы изучали динамику изменения осмотического потенциала, концентрации фитогормонов, ионов и сахаров в тканях в период от фазы 7 настоящих листьев до полного формирования корнеплодов (с 21-го до 98-го дня от появления всходов). Пробы для биохимического анализа представляют собой гомогенат всех частей корнеплода (головка, шейка, корень). Выделение и количественный анализ абсцизовой кислоты (АБК) и ауксинов проводили по ранее описанным методам [14, 19]. Содержание цитоки-

нинов (ЦК) и гиббереллиноподобных веществ (ГПВ) изучали по известным методикам [12, 15]. Осмотический потенциал сока определяли на осмометре ОМКА 1Ц-01, содержание зольных элементов — на пламенном фотометре [18], содержание сахаров — по методу М. В. Туркиной [22].

В работе приведены данные не менее 5 биологических и 3 аналитических повторностей. Для статистической обработки материала применяли методы, позволяющие рассчитать средние арифметические значения, дисперсию, коэффициент корреляции и его ошибку, а также достоверность по методу Фишера [6].

Результаты

В первый год роста свеклы, в период формирования корнеплодов наблюдали опережающий рост корнеплодов на уровне шейки корня по сравнению с увеличением сухой массы корня (рис. 1), что указывает на опережающий рост объема клеток по сравнению с накоплением в них сухих веществ.

Значение осмотического потенциала сока корнеплодов (с 21-го дня от появления всходов) идентично значению осмотического потенциала сока черешков листьев и было в 2 раза ниже значения потенциала сока листовых пластинок (рис. 2). У растений с полностью сформи-

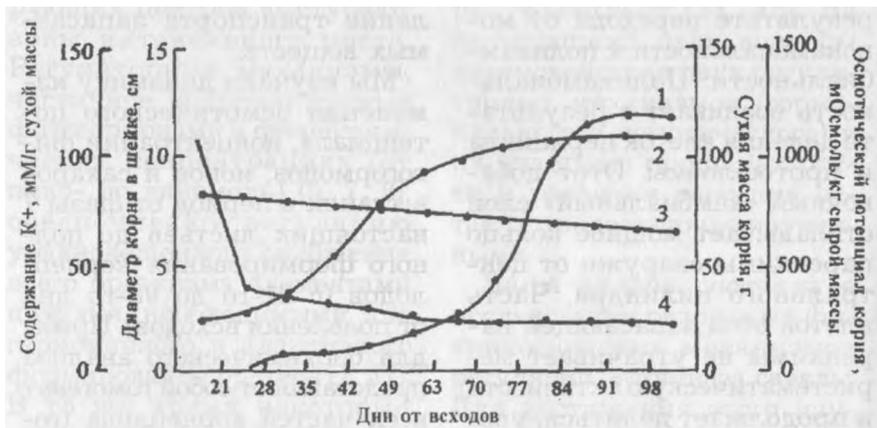


Рис. 1. Динамика изменения сухой массы (1), диаметра шейки (2), осмотического давления (3) и содержания K^+ (4) в разрастающемся корнеплоде свеклы. Заметно, что увеличение сухой массы корнеплода (до 70-го дня от появления всходов) происходит не согласно увеличению диаметра корня в основной запасующей его части.

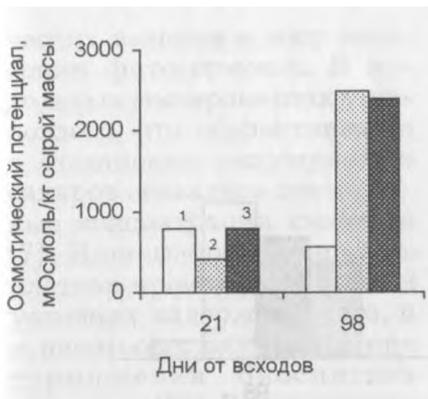


Рис. 2. Осмотический потенциал сока в корнеплодах (1), листьях (2) и черешках (3) свеклы. В полном соответствии с теорией массового оттока осмотический потенциал сока корнеплодов к концу первого года роста, по сравнению с таковым черешков и листьев, остается низким.

рованным корнеплодом (на 98-й день от появления всходов) значение осмотического потенциала сока корнеплодов было в 4 раза ниже, чем в черешках и листовых пластинках. Таким образом установлена динамика осмотического потенциала сока корнеплодов, черешков и листовых пластинок растений свеклы: в изучаемый период значение осмотического потенциала сока корнеплодов снижалось, а черешков и листовых пластинок, напротив, увеличивалось, что, в соответствии с теорией массового оттока, определяет перенос продуктов ассимиляции из листьев в корнеплод.

Статистический анализ данных показал тесную положительную корреляционную связь ($r = +0,87 \pm 0,07$) между изменением сухой массы и диаметра корня, тесную отрицательную связь между изменением сухой массы и осмотического потенциала ($r = -0,99 \pm 0,07$) и между изменением диаметра корня в шейке и осмотическим потенциалом ($r = -0,90 \pm 0,07$). Последующий анализ данных по методу Z, предложенному Фишером, подтвердил достоверность коэффициентов корреляции при 99,9% уровне значимости.

В первый год роста растений свеклы концентрации исследуемых фитогормонов в тканях были в физиологических пределах (от 10^{-13} до 310^{-6} М) и их значения были сопоставимыми между собой (рис. 3) и с литературными данными: ИУК — от 10^{-13} до 310^{-8} М [5], АБК — от 210^{-8} до 10^{-6} М [8], ЦК — от $5 \cdot 10^{-12}$ до $3 \cdot 10^{-6}$ М [12, 26, 32], ГПВ — от 10^{-13} до $5 \cdot 10^{-7}$ М [15, 27, 29].

В корнеплодах развивающихся растений (с 21-го дня от появления всходов) по сравнению с другими фитогормонами доминировали ГПВ и ЦК (зеатин) (рис. 3). Известно, что в целом растении ЦК и ГПВ преобладают в камбиальной ткани корней, так как корни являются

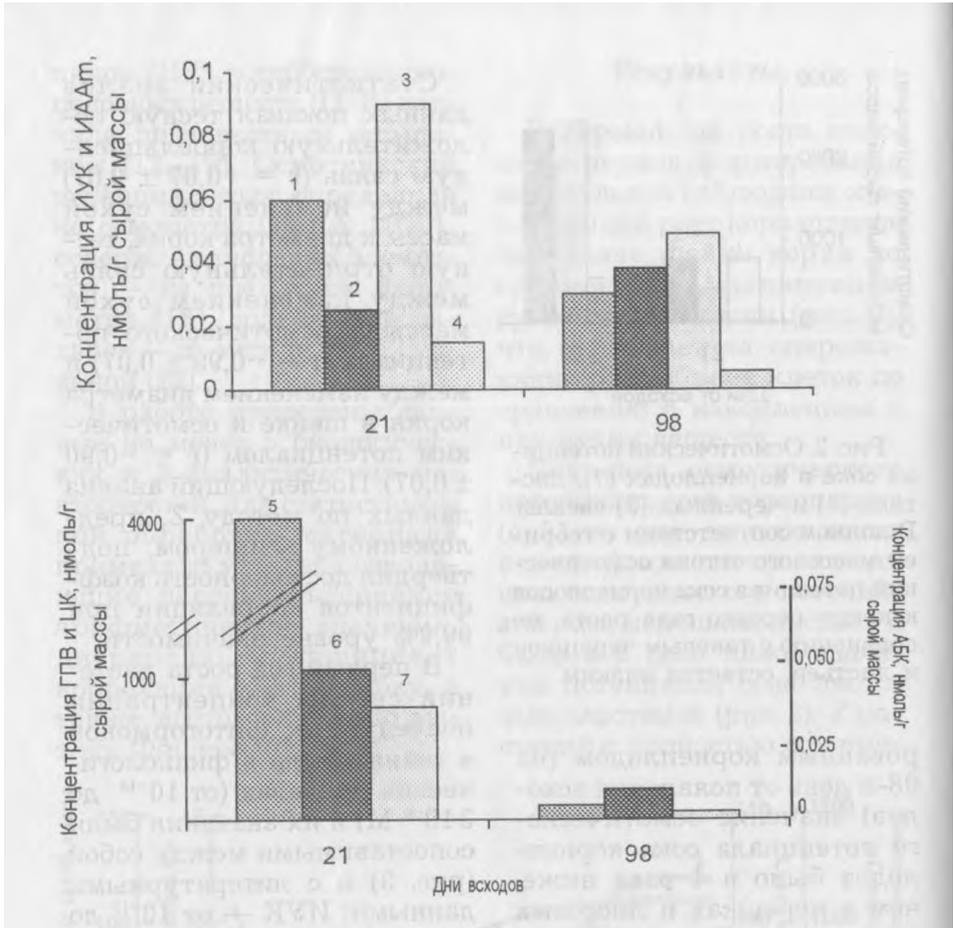


Рис. 3. Изменение концентрации фитогормонов в растущих и созревающих корнеплодах по сравнению с уровнем в листьях: 1 и 2 — ИУК и ИААм в корнеплодах, 3 и 4 — в листьях, соответственно, 5 — ЦК, 6 — АБК, 7 — ГПВ в корнеплодах. Наиболее массовыми фитогормонами в разрастающихся корнеплодах являются цитокинины.

ся местом их синтеза [12, 32]. М. К. Эллиот с соавторами [24] показали, что повышенное содержание ЦК в тканях корнеплодов свеклы может быть связано с цитокинезом, а пос-

ледующее увеличение содержания ГПВ происходит в период разрастания клеток.

В литературе широко обсуждается способность ЦК усиливать аттракцию пласти-

ческих веществ в зону нанесения фитогормонов. В модельных экспериментах установлено, что эффективными в отношении аккумуляции сахаров оказались повышенные концентрации кинетина [7]. Накопление сахаров в клетках происходит также в условиях задержки роста, а в некоторых случаях и при торможении биосинтеза крахмала [30]. В нашем случае, напротив, приток ассимилятов из листьев в корнеплоды и содержание эндогенных ЦК в их тканях отрицательно коррелировали ($r = -0,99 \pm 0,10$ при 99,9% уровне значимости) и кроме того без задержки роста.

На основании полученных данных и анализа литературы можно предположить, что в тканях корнеплодов ЦК и ГПВ могут участвовать в ростовых реакциях в период разрастания корнеплода.

Концентрация ИУК была более высокой в тканях молодых листьев (с 21-го дня от появления всходов), у которых площадь листовой пластинки составляла 1/5 площади взрослого листа (рис. 3). Динамика концентрации ИУК и индолацетоамида (ИААм), предшественника ее биосинтеза, в листьях совпадала. По мере старения листьев концентрация ауксинов в них снижалась.

По сравнению с листьями концентрация ауксинов в тканях корнеплодов была в 1,5-2 раза ниже и по мере роста корнеплодов концентрация ИУК снижалась, а концентрация ИААм оставалась постоянной в течение всего этого периода (рис. 3).

Концентрация АБК в тканях корнеплодов развивающихся растений (с 21-го дня от появления всходов) была высокой (рис. 3). С возрастом, по мере созревания корнеплодов, концентрация фитогормона снижалась. В тканях созревших корнеплодов (с 98-го дня от появления всходов) АБК присутствовала в следовых количествах.

Известно, что в листьях растений концентрация АБК выше, чем в корнях, но транспортируется она преимущественно в корни и семена, где запасается в виде конъюгированных соединений [8]. Физиологическая роль АБК в регуляции ростовых процессов установлена и широко обсуждается в литературе [17, 23]. В отличие от общеизвестных представлений о ростингибирующей функции АБК в [4] указывается положительная корреляция увеличения количества этого фитогормона с интенсификацией роста побегов чая и снижения — в период покоя. Точно также и в наших исследованиях, в

первый год роста свеклы концентрация АБК была выше в интенсивно растущих растениях.

С возрастом (с 98-го дня от появления всходов) концентрация сахаров в корнеплодах увеличивалась в 10 раз, в листьях и черешках — в 3-4 раза (рис. 4). В развивающихся корнеплодах поступающие из листьев ассимиляты депонировались в тканях корнеплодов с 21-го дня от появления всходов, вероятно, путем отложения в вакуолях.

В литературе обсуждается возможная роль фитогормонов в регуляции поступления и перераспределения углеводов в клетки и их компартменты [2, 16]. Для выяв-

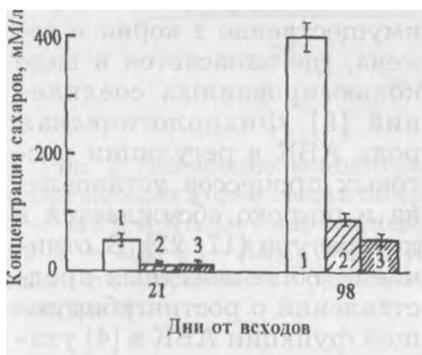


Рис. 4. Содержание сахаров в соке корнеплодов (1), черешков (2) и листьев (3) свеклы. Накопление сахаров происходит после окончания ростовых процессов.

ления коррелятивных связей между изученными осмотическим и фитогормональным элементами механизма регуляции разрастания корнеплода мы провели статистический анализ данных с построением графической модели возможных физиологических механизмов регуляции онтогенеза свеклы (рис. 5).

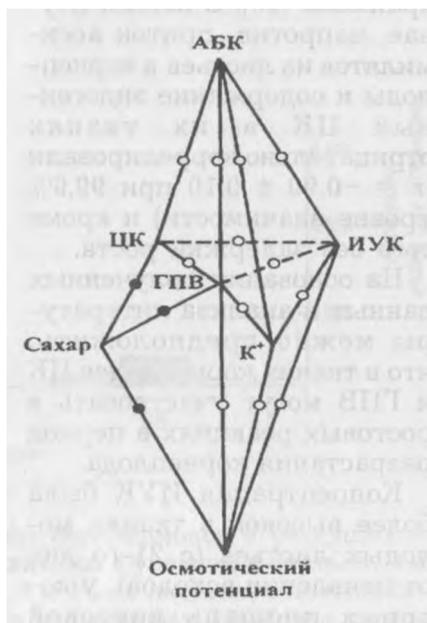


Рис. 5. Схема взаимосвязи изученных физиологических механизмов регуляции онтогенеза свеклы, по рассчитанным коэффициентам корреляции (см. также таблицу). Заштрихованные круги обозначают отрицательную корреляцию, незаштрихованные — положительную.

Статистический анализ позволил выявить положительную корреляционную связь между содержанием в корнеплодах различных фитогормонов. Изменение содержания ИУК, АБК и ГПВ положительно коррелировало с содержанием K^+ ($r = +0,98 \pm 0,10$, $r = +0,95 \pm 0,16$ и $r = +0,95 \pm 0,16$ соответственно).

Для использования теории массового оттока ключевое значение имеет изучение осмотического потенциала. Как показано на рис. 2, осмотический потенциал клеточного сока корнеплодов в заключительной фазе формирования был ниже, чем в листьях и черешках. Роль ионов K^+ в регуляции осмотического потенциала хорошо известна [13]. В нашем случае K^+ можно рассматривать как медиатор действия

фитогормонов на осмотический потенциал. Величина осмотического потенциала положительно коррелировала с содержанием ГПВ. ИУК и K^+ ($r = +0,96 \pm 0,11$ — в первом случае, $r = +0,93 \pm 0,18$ — во втором, $r = +0,94 \pm 0,18$ — в третьем) и отрицательно — с содержанием углеводов ($r = -0,96 \pm 0,11$), что может быть связано с компартиментализацией последних, как это полагают в [16] и [25].

Последующий анализ по методу Фишера подтвердил достоверность коэффициентов корреляции при 99,5-99,9% уровне значимости.

Построение графической модели взаимосвязи различных элементов регуляторных механизмов позволило выявить ключевую роль АБК в этих процессах (рис. 5 и таблица), как это показано в [2, 3].

Значение коэффициентов корреляции изученных элементов физиологических механизмов регуляции с изменением сухой массы и диаметра корнеплодов свеклы

Показатель	АБК	ИУК	ЦК	ГПВ
Сухой вес	$-0,99 \pm 0,07$	$-0,98 \pm 0,10$	$-0,99 \pm 0,07$	$-0,99 \pm 0,07$
Диаметр корня в шейке	$-0,95 \pm 0,14$	$-0,92 \pm 0,15$	$-0,96 \pm 0,11$	$-0,97 \pm 0,09$
	K^+	Сахар	Осмотический потенциал	Сухой вес
Сухой вес	$-0,99 \pm 0,07$	$-0,99 \pm 0,07$	$-0,99 \pm 0,07$	—
Диаметр корня в шейке	$-0,91 \pm 0,17$	$+0,99 \pm 0,07$	$-0,98 \pm 0,10$	$+0,87 \pm 0,18$

Таким образом, установлен опережающий рост объема корня по сравнению с увеличением его сухой массы, но при положительной корреляции роста объема корня с накоплением сахаров. Тесная корреляция величины осмотического потенциала с содержанием ГПВ. ИУК и K^+ предполагает участие этих регуляторов в накоплении сахаров.

Если рассматривать накопление сахаров как ведущую стратегию первого года онтогенеза растений свеклы, то регуляция этого этапа онтогенеза складывается из 2 фаз: опережающего роста объема корнеплода с ведущим участием АБК в этом процессе на первой фазе; затем из определяющего значения низкого осмотического потенциала в накоплении сахаров в заключительной фазе формирования корнеплода и при подготовке его к переходу в фазу покоя, что согласуется с теорией массового оттока.

ЛИТЕРАТУРА

1. Банникова М. А., Головки Ф. Э., Хведынич О. А., Кучук Н. В. Регенерация растений у сахарной свеклы (*Beta vulgaris* L.) в культуре *in vitro*. Гистологическое изучение процессов регенерации. — Цитология и генетика, 1995, т. 29, №6, с. 14-22.
2. Борзенкова Р. А., Зорина М. В. Влияние кинетина и абсцизовой кислоты на фотосинтез, отток и распределение ^{14}C -ассимилятов у растений картофеля. — Физиол. растений, 1990, т. 37, с. 546-554.
3. Борзенкова Р. А., Яшков М., Пьянков В. И. Содержание абсцизовой кислоты и цитокининов у дикорастущих видов с различными типами экологических «стратегий». — Физиол. растений, 2001, т. 48, № 2, с. 229-237.
4. Власов П. В. Трансформация и транспорт абсцизовой кислоты при росте и покое у растений. Докт. дис. М., 1996.
5. Гамбург К. 3. Биохимия ауксина и его действие на клетки растений. Новосибирск: Наука. Сиб. отд-ние, 1976.
6. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта М.: Агропромиздат, 1985.
7. Дерфлинг К. Гормоны растений. Системный подход. М.: Мир, 1985.
8. Кефели В. И., Коф Э. М. и др. Природный ингибитор роста — абсцизовая кислота. М.: Наука, 1989.
9. Копытина Т. В., Реюославская Н. И., Саляев Р. К. и др. Триптофанрацемаза как ключевой фермент регуляции скорости биосинтеза ИУК — Регуляторы роста и развития растений. Тез. докл. IV международной конференции М.: МСХА, 1999.
10. Корзинников Ю. С. Неко-

- торые вопросы морфогенеза репчатого лука и его регуляции. Канд. дис. Уфа, 1971. — 11. *Круг Г.* Овощеводство. М.: Колос, 2000. — 12. *Кулаева О. Н.* Определение цитокининовой активности веществ с помощью биотестов. — В сб.: Методы определения фитогормонов, ингибиторов роста, дефолиантов и гербицидов. М., 1983, с. 63-73. — 13. *Леопольд А.* Рост и развитие растений. М.: Мир, 1968. — 14. Методические рекомендации по определению фитогормонов. Киев: Наук, думка, 1988. — 15. *Муромцев Г. С., Агнестикова В. Н., Дубовая Л. П.* Определение гиббереллиноподобных веществ в растениях. — В сб.: Методы определения фитогормонов, ингибиторов роста, дефолиантов и гербицидов. М., 1973, с. 59-62. 16. *Павлинова О. А., Холодова В. П.* Биотехнологические и мембранные аспекты сахаронакопления. — В сб.: Новые направления в физиологии растений. М., 1985, с. 252-274. — 17. *Полевой В. В., Саламатова Т. С.* Физиология роста и развития растений. JL: Изд-во ЛГУ, 1991. — 18. Практикум по физиологии растений / Под ред. Н. Н. Третьякова. М.: Колос, 1982. — 19. *Рекославская Н. И.* К-Малонил-Б-Триптофан, условия образования и возможная физиологическая роль. Докт. дис. Иркутск, 1990. — 20. *Реймерс Ф. Э.* Взаимосвязь процессов роста и развития в онтогенезе растений. — Бот. журн., 1997, т. 42, № 10, с. 1465-1472. — 21. *Реймерс Ф. Э., Корзинников Ю. С.* Рост и деление клеток при образовании лукович у *Allium sera*. — С.-х. биология, 1968, т. 6, с. 23-28. — 22. *Туркина М. В., Соколова С. В.* Методы определения моносахаридов и олигосахаридов. — В сб.: Биохимические методы в физиологии растений. М., 1971, с. 7-33. — 23. *Чайлахян М. Х.* Генетическая и гормональная регуляция роста, цветения и проявления пола у растений. — Физиол. растений, 1974, т. 25, вып. 5, с. 952-974. — 24. *Эллиот М. К., Чен Д. Ф., Фаулер М. Р. и др.* Трансгенез. Программа повышения продуктивности сахарной свеклы. — Физиол. растений, 1996, т. 43, № 4, с. 620-628. — 25. *Buckhout T. J.* — *Plant Physiol.*, 1989, vol. 89, p. 1318-1323. — 26. *Chen Chong Maw, Ertl I. R., Leisher S. M., Chang Chi Cheng.* — *Plant Physiol.*, 1985, vol. 78, № 3, p. 510-513. — 27. *Cowling R. I., Kamija J., Seto H., Harberd N. P.* — *Plant Physiol.*, 1998, vol. 117, p. 1196-1203. — 28. *Davies J. M., Hunt J., Sanders D.* — *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1994, vol. 91, № 18, p. 8547-8551. — 29. *Kumar V., Baijal B. D.* — *Plant*

physiol., 1990, vol. 33, № 3, p. 181-184. — 30. *Saftner R. A., Wyse R. F.* — Plant Physiol., 1984, vol. 74, № 4, p. 951-955. — 31. *Tetu T., Sangwan R. S., Sangwan-Norrel B. S.* — J. Exp. Bot., 1987, vol. 38, № 188, p. 509—517. — 32. *Weddeler H., Gzik A., Guenther G.* — Biochem. Physiol. Pflanz, 1985, vol. 180, № 7, p. 501-505.

*Статья поступила
7 февраля 2002 г.*

SUMMARY

The strategy of the first year of sugar beet growth is the transport of sucrose in beet. The participation of two regulation mechanism (osmotic and phytohormone) in the regulation of growth and sugar status was considered. The important role of ABA was proposed of beginning the growth of sugar beet and the osmotic potential of sugar status.

Выражаем глубокую благодарность директору Сибирского института физиологии и биохимии растений СО РАН чл.-корр. РАН **Р. К. Саляеву** за содействие в организации проведенных исследований, **Н. И. Рекославской, Г. П. Черных, С. С. Пешковой**, сотрудникам СИФИБР СО РАН за помощь в выполнении и обсуждении работы.