

ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

Э. М. КОФ, В. И. КЕФЕЛИ, И. В. ЯНУШЕВИЧ, Л. В. ЯКОВЛЕВА,
Т. Н. ЗУБАРЕВ

**ВОЗМОЖНОЕ УЧАСТИЕ АУКСИНОВ В РОСТЕ И МОРФОГЕНЕЗЕ
АЦЕТАБУЛЯРИИ (ACETABULARIA MEDITERRANEA)**

Ацетабулярия принадлежит к типу зеленых водорослей (Chlorophyta), классу равножгутиковых (Isocontae), порядку сифоновых (Siphonales), семейству дезикладовых (Dasycladaceae).

Ацетабулярия представляет собой гигантскую клетку, достигающую во взрослом состоянии нескольких сантиметров в длину (6–10 см). Онтогенез ее начинается с прорастания зиготы. На одном конце маленького цилиндрического проростка вскоре появляются неправильные веточки — ризоиды. После этого рост осуществляется на противоположном — апикальном конце проростка, где образуется апикальное заострение. Здесь с более или менее правильными интервалами появляются мутовки (5–6 рядов). Когда растение достигает в длину нескольких сантиметров, начинается формирование репродуктивного органа — шапочки. Шапочка напоминает собой зонтик с радиальными камерами. К этому времени ядро, находящееся у основания сифона или в одном из ризоидов, начинает делиться митотически на мириады вторичных ядер. Последние переносятся с током цитоплазмы в камеры шапочки. Каждое ядро с более или менее одинаковым количеством цитоплазмы и вакуолярного сока окружается оболочкой и образует цисты. После освобождения цист из камер и периода покоя митозы возобновляются, заканчиваясь митозом и образованием гамет. С образованием зиготы онтогенез ацетабулярии заканчивается.

Вопрос об участии фитогормонов и ингибиторов в регуляции морфогенеза ацетабулярии изучался крайне мало. Попытку Тандлера (^{1, 2}) выделить индольные ауксины из ацетабулярии нельзя считать успешной, так как он использовал слишком жесткие условия экстракции и, очевидно, имел дело с артефактами (фиксация смесью этанола — хлороформа — уксуснокислого аммония, 6:3:1, экстракция 4-процентным $\text{Ba}(\text{OH})_2$ при $100^\circ 12$ час.). Окрашивающиеся реактивами Эрлиха и Сальковского кристаллы обнаружены Тандлером лишь в перерастущей части сифона. Они не движутся с током цитоплазмы, не изменяются при помещении растений в темноту на 2 недели. В связи с этим приведенные данные нельзя считать убедительным доказательством присутствия индольных ауксинов в ацетабулярии.

Несколько больше сведений имеется о влиянии экзогенных ауксинов на рост и морфогенез ацетабулярии. Дао показала, что ИУК, триптофан и НУК стимулируют рост сифона в концентрациях 10^{-5} – 10^{-6} М (³⁻⁵). Тимани и Бес нашли, что ИУК (10^{-5} – 10^{-6} М) способна активировать рост сифона в 2–2,5 раза, в более высоких концентрациях — активировать формирование шляпки (⁶).

Ни в одной из работ не проводилось изучение чувствительности ацетабулярии к ауксинам в зависимости от ее возраста, хотя возможны критические периоды наибольшей ее чувствительности. Кроме того, обсуждать вопрос об участии фитогормонов в росте и морфогенезе ацетабулярии возможно лишь после получения сведений об их присутствии в растении и об изменении их содержания в онтогенезе.

В нашей работе изучалось влияние синтетической ИУК на рост и мор-

фогенез *Acetabularia mediterranea* и активность природных регуляторов роста в растениях ацетабулярии, находящихся на разных фазах развития. В работе по изучению влияния экзогенной ИУК на рост и морфогенез ацетабулярии использовали растения размером 11–20 мм. В каждую колбу помещали растения: 11–12, 13–14, 16–20 мм. Брали по 3 повторности для каждой из этих групп растений. Растения помещали в колбы с искусственной стерилизованной морской водой с добавлениями ИУК разной концентрации (0,05–2,5 мг/л). Искусственную морскую воду готовили по прописи, предложенной экспериментаторами Филадельфийского института рака США для культивирования морских беспозвоночных и используемой также для культивирования ацетабулярии (7). Учет проводили через 16 и 46 дней. Для этого растения со средней переносили из колбы в чашки Петри. Последние помещали в темноте на фотобумагу и кратковременно освещали, получая на фотобумаге отпечатки растений. В дальнейшем эти отпечатки измеряли. При описанной процедуре измерений растения страдали значительно меньше, чем при непосредственном измерении самих растений.

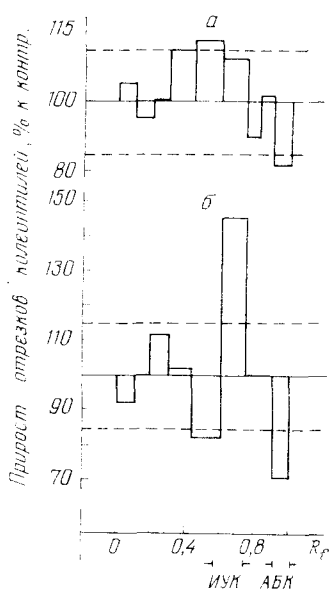


Рис. 1. Биологическая активность ауксинов и ингибиторов в растениях ацетабулярии (система растворителей: изопропанол — NH_4OH — H_2O , 10:1:1). а — в молодых растениях, б — у растений с несколькими рядами мутовок в период, предшествующий появлению шапочек

Выделение и изучение активности природных регуляторов роста в ацетабулярии (*Acetabularia mediterranea*) проводили по методу, описанному ранее Кефели с сотр. (8). Использовали растительный материал, промытый раствором хлорамфеникола (7 мг/л) и стерилизованной водой, зафиксированный жидким азотом и высушенный апотильно. Клетка ацетабулярии представляет собой не совсем обычный растительный материал. Ее стенки обызвестлены; вымывание веществ из легко регенерирующей водоросли, обитающей в водной среде, затруднено. Обычная экстракция свободных ауксинов и ингибиторов диэтиловым эфиром оказалась не эффективной. В связи с этим в качестве растворителя для экстракции природных регуляторов роста использовали 80%-процентный метиловый спирт. После 4–5-кратной экстракции при 5°, в темноте, в течение 36–48 час. объединенный экстракт упаривали под вакуумом до водной фазы. После подкисления последней до pH 3 природные регуляторы роста переводили в диэтиловый эфир. Полученный экстракт упаривали досуха, переводили в 96%-процентный этанол и освобождали от примесей нейтральной природы на колонках с нейтральным Al_2O_3 . Разделение экстракта на колонках с Al_2O_3 позволяет освободиться от примесей, мешающих нанесению экстракта на полоски хроматографической бумаги и разделению при хроматографировании. Водную фазу подкисляли до pH 3, затем свободные фитогормоны и ингибиторы переводили из нее в диэтиловый эфир. Эфирный экстракт упаривали под вакуумом. Сухой остаток растворяли в 80%-процентном этиловом спирте и подвергали хроматографическому разделению на бумаге (Ленинградская медленная) в системе растворителей изопропанол — NH_4OH — H_2O (10:1:1). Экстракт воздушно-сухого растительного материала наносился на полоску хроматографической бумаги пятном. Объем экстракта соответствовал 30 мг воздушно-сухого материала. Отдельные зоны полученных хроматограмм проверяли на биологическую активность с помощью теста — рост отрезков coleoptiles пшеницы.

Таблица 1

Влияние ИУК на рост растений ацетабулярии (учет через 16 дней после начала опыта)

Исходная длина растений, мм	Конечная длина контрольных растений, мм	Длина растений (% к контролю) при различных концентрациях ИУК в среде				
		0,05 мг/л	0,1 мг/л	0,25 мг/л	1 мг/л	2,5 мг/л
11-12	15,2	85,3	106,9	96,7	86,2	82,2
13-14	19,0	100,0	104,6	94,2	91,0	64,0
16-20	26,3			90,1	82,5	

Таблица 2

Влияние ИУК на количество растений с шапочками

Учет	Исходная длина, мм	Растения с шапочками (% от общего числа растений), обработанные ИУК в различных концентрациях					
		0	0,05 мг/л	0,1 мг/л	0,25 мг/л	0,5 мг/л	1 мг/л
1-й, через 16 дней	11-12	28	5	8	27	21	10
	13-14	34	82	52		45	25
	16-20	65				84	48
2-й	11-12	94	84	86	82,3	99	100
	13-14	78,6	95	91	91	91	100
	16-20	96				100	100

Таблица 3

Влияние ИУК на диаметр шапочек ацетабулярии (учет через 46 дней после начала опыта)

Исходная длина растений, мм	Диаметр шапочек (% к контролю), обработанных ИУК в различных концентрациях				
	0,05 мг/л	0,1 мг/л	0,25 мг/л	0,5 мг/л	1 мг/л
11-12	88	92	82	92	88
13-14	110	117	110	94	105
16-20	120	118			

Изучение хроматограмм на биологическую активность показало присутствие в экстрактах ауксина и ингибитора (рис. 1). Стимулятор ауксинового типа оказался близок по хроматографическим свойствам ИУК, ингибитор — абсцизовой кислоте. У молодых растений содержание ауксина и ингибитора оказалось довольно низким. У растений с несколькими рядами мутовок в период, предшествующий началу формирования шапочек, содержание ингибитора почти не изменялось, содержание же ауксина повышалось.

Введение в культуральную среду экзогенной ИУК в концентрации 0,05—2,5 мг/л практически не влияло на рост растений с исходной длиной 11—20 мм (табл. 1). Вместе с тем ИУК ускоряла формирование шапочек. Так, у контрольных растений через 16 дней опыта насчитывалось 34% особей со шляпками. У растений, обработанных ИУК (0,05 мг/л), количество шапочек увеличивалось до 82% (табл. 2). У более взрослых растений с большей исходной длиной сифона (16—20 мм) наблюдалось и более быстрое образование шапочек. Видимо, этим можно объяснить факт, что для ускорения образования шапочек у этих растений требовалось повышенное концентрации ИУК в культуральной среде (0,5 мг/л). Подобный эффект

