

ФИЗИОЛОГИЯ И БИОХИМИЯ РАСТЕНИЙ

УДК 581.1

Е. Р. Тараховская, Ю. И. Маслов, В. В. Полевой

К ВОПРОСУ О РЕГУЛЯЦИИ ПРОРАСТАНИЯ ЗИГОТ
FUCUS VESICULOSUS L.

Основные черты строения как высших растений, так и водорослей закладываются в ходе эмбрионального развития. Решающими событиями раннего морфогенеза являются появление морфологической и физиологической асимметрии на уровне клетки и следующее за этим первое асимметричное клеточное деление. Аксиальная поляризация эмбриона происходит таким образом: образовавшиеся в ходе первого деления клетки дают начало верхушечным меристемам побега и корня высших растений или таллому и ризоиду водорослей [3, 8, 14]. Хотя формирование оси полярности у всех растительных организмов происходит в общем по одной схеме, факторы, регулирующие этот процесс, у высших растений и водорослей принципиально различаются. Поляризация высших растений контролируется, по-видимому, прежде всего тканями материнского организма. Полярная организация проявляется уже в строении зародышевого мешка, где яйцеклетка и синергиды находятся на микропиллярном полюсе, а антиподы — на халазальном. Яйцеклетка высших растений также обычно асимметрична [14]. У бурых водорослей порядка *Fucales*, процессы поляризации которых наиболее полно исследованы в настоящее время, решающими факторами индукции полярности являются воздействия окружающей среды, и развитие зигот и эмбрионов происходит совершенно независимо от материнского растения. Эта особенность эмбриогенеза делает фукусовые водоросли исключительно удобным объектом для исследования возможных механизмов действия поляризующих факторов, которые во многом пока остаются неясными.

Поляризация зигот *Fucus vesiculosus* может быть стимулирована многими внешними факторами, такими как синий и ультрафиолетовый свет, сила тяжести, близость зигот к какой-либо поверхности (эффект грунта) или другим зиготам (групповой эффект), наличие в окружающей среде градиентов Ca^{2+} , K^+ , ауксина [6, 9, 11, 12]. Однако до сих пор не ясно, какой фактор играет решающую роль в этом процессе. По некоторым данным [1, 2, 4, 17] таким фактором может служить фитогормон индолил-3-уксусная кислота (ИУК). ИУК была обнаружена как в вегетативных тканях, так и в гаметах фукусовых в концентрациях, сравнимых с содержанием гормона в тканях высших растений [1, 3]. Зиготы фукуса способны осуществлять активный транспорт ИУК и на определенном этапе развития сами выделяют ауксин в окружающую среду [1]. Экзогенная обработка ауксином и ингибиторами его транспорта, такими как трийодбензойная кислота (ТИБК), существенно влияет на развитие зигот, изменяя скорость

прорастания и приводя к появлению ненормально сформировавшихся ризоидов и неполярных эмбрионов [2, 3, 17]. Для того чтобы проверить специфичность действия ИУК, мы исследовали влияние ряда синтетических аналогов гормона на ризоидообразование у зигот фукуса. Таким образом, целью данного исследования явилось изучение особенностей действия ИУК и ее активных и неактивных аналогов на раннее развитие зигот и эмбрионов *F. vesiculosus* и, в частности, на динамику прорастания зигот.

В качестве объекта использовали яйцеклетки и зиготы фукуса пузырчатого (*Fucus vesiculosus* L.), собранные в районе Морской биологической станции СПбГУ (Белое море). Сбор материала проводили в июле-августе 1999–2002 гг. Зрелые рецептакулы собирали в средней и нижней зонах литорали во время отлива, обсушивали фильтровальной бумагой и хранили в течение 2–3 недель в темноте при температуре 4–10 °С. Получение гамет и оплодотворение осуществляли в основном по стандартной методике [7, 11]. В дальнейшем развивающиеся зиготы и эмбрионы выращивали в течение трех суток в фильтрованной морской воде в 3,5-сантиметровых чашках Петри на свету при температуре 12–16 °С.

В ходе экспериментов зиготы обрабатывали следующими веществами: индол-3-уксусной кислотой (1 мг/л), α - и β -нафтилуксусной кислотами (0,1, 1 и 10 мг/л), 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислотой (2,4-Д, 0,1, 1 и 10 мг/л) и триодбензойной кислотой (ТИБК, 5 мг/л).

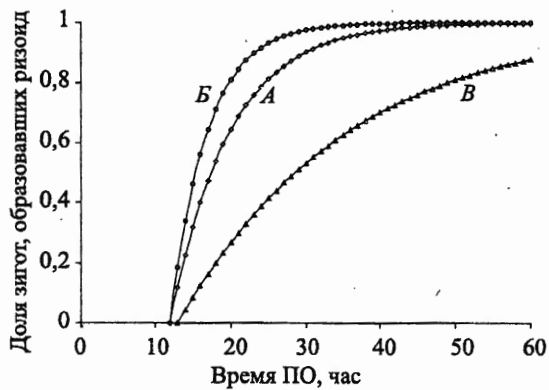
Обработку производили следующим образом. Сразу или через некоторое время (в зависимости от варианта опыта) после оплодотворения (ПО) зиготы в чашке Петри несколько раз промывали раствором фитогормона или ингибитора, затем заливали тем же раствором и оставляли на 60 ч. В качестве контроля во всех случаях использовали зиготы, развивающиеся в морской воде. Отбор проб для морфометрических определений производили через 16, 24, 48 и 60 ч после оплодотворения. Наблюдения производили с помощью бинокулярной лупы МБС-9.

Для количественной характеристики динамики прорастания зигот применена математическая модель Митчерлиха ($p = 1 - e^{-k(t-t_0)}$, где p — доля проросших зигот, t — время после оплодотворения, t_0 — момент начала прорастания, коэффициент k — скорость прорастания в момент t_0). За 100% прорастания принято количество зигот (эмбрионов) контрольного варианта, которые имели ризоид через 60 ч ПО. Опыты проводились в пяти биологических повторностях. Среднее количество объектов в пробе составляло 500–600 зигот или эмбрионов.

Использованная нами в данной работе математическая модель динамики прорастания зигот позволяет судить одновременно как о начале ризоидообразования, так и об интенсивности этого процесса. В качестве иллюстрации действия модели на рисунке приведены графики прорастания зигот в контрольном варианте, а также под влиянием ИУК и ТИБК (пояснения см. ниже).

Полученные нами данные (рисунок, А) показывают, что, согласно использованной нами модели, в контрольном варианте прорастание зигот *F. vesiculosus* начинается с 12 ч ПО. Через 16 ч ПО прорастает 40% всей популяции и наконец через 48 ч ПО доля зигот, образовавших ризоид, практически достигает максимума. 10–15% зигот не прорастают даже через 60 ч ПО (данные не приводятся), вероятно, вследствие неудавшегося оплодотворения.

Обработка зигот *F. vesiculosus* экзогенной ИУК в концентрации 1 мг/л существенно стимулирует прорастание, так что оно достигает максимума уже через 30 ч ПО (рисунок, Б). При этом не изменяется время начала образования ризоида ($t_0 = 12$ ч), но процесс идет значительно интенсивнее, о чем можно судить по увеличению коэффициента k



Варианты динамики прорастания зигот *F. vesiculosus*.

А — контроль, Б — среда с ИУК (1 мг/л), В — среда с ТИБК (25 мг/л).

(таблица). Эти данные согласуются с результатами, полученными нами в предыдущих работах [1, 2], в которых было высказано предположение, что наружная концентрация ИУК контролирует процесс ризоидообразования у *F. vesiculosus*. Чтобы убедиться в том, что ИУК оказывает специфический эффект на поляризацию и прорастание зигот, была проведена экзогенная обработка зигот активными (α -ИУК, 2,4-Д) и неактивным (β -ИУК) синтетическими аналогами ИУК. Показано, что α -ИУК в концентрациях 0,1–10 мг/л ускоряет образование ризоидов, причем эффект усиливается с увеличением концентрации гормона (см. таблицу). Вероятно, родство α -ИУК к рецепторам гормона все же ниже, чем у природного соединения, поскольку ИУК в концентрации 10 мг/л уже оказывается токсичной для зигот и замедляет развитие [2]. Неактивный ауксин β -ИУК в концентрациях 0,1–1 мг/л не оказывает влияния на динамику прорастания зигот и только в концентрации 10 мг/л несколько ускоряет ризоидообразование. 2,4-Д в концентрации 0,1 мг/л не оказывает влияния на прорастание зигот, но в концентрациях 1–10 мг/л приводит к задержке начала прорастания ($t_0 = 14$ ч), не изменяя его интенсивности (см. таблицу). Известно, что 2,4-Д — «сильный» ауксин, действующий как стимулятор только в низких концентрациях. В отличие от ИУК и α -ИУК, 2,4-Д не является подходящим субстратом для экспортерного комплекса системы полярного транспорта ИУК и вследствие этого может накапливаться и задерживаться внутри клетки дольше, чем другие ауксины [5, 10]. Вероятно, именно этим можно объяснить то, что 2,4-Д действует как ингибитор в той концентрации, в которой другие активные ауксины оказывают стимулирующий эффект, и вызывает задержку развития зигот.

Обработка зигот ТИБК (25 мг/л) задерживает начало формирования ризоида на 1 ч и в 3 раза снижает интенсивность прорастания (рисунок, В; см. таблицу). Спустя 2,5–3 ч ПО зиготы начинают выделять ИУК в окружающую среду [1], а ТИБК — один из специфических ингибиторов выхода ИУК из клетки в системе полярного транспорта этого гормона у высших растений [5, 10]. Таким образом, ингибирующий эффект ТИБК, возможно, объясняется подавлением секреции ауксина зиготами и, как следствие, уменьшением концентрации гормона в окружающей среде. Это подтверждается тем, что при внесении в среду с зиготами ТИБК вместе с ауксином ингибирующее действие ТИБК почти полностью снимается, и динамика прорастания зигот практически не отличается от контроля (см. таблицу). При обработке зигот ТИБК + α -ИУК

Влияние ауксинов и ТИБК на ризоидообразование
у зигот *F. vesiculosus*

Вариант	k	t_0 , ч ПО
ИУК, 1 мг/л	0,215±0,018	12
α-НУК, 0,1 мг/л	0,155±0,002	12
α-НУК, 1 мг/л	0,242±0,071	12
α-НУК, 10 мг/л	0,404±0,039	12
β-НУК, 0,1 мг/л	0,134±0,009	12
β-НУК, 1 мг/л	0,146±0,042	12
β-НУК, 10 мг/л	0,189±0,022	12
2,4-Д, 0,1 мг/л	0,071±0,010	12
2,4-Д, 1 мг/л	0,125±0,011	14
2,4-Д, 10 мг/л	0,076±0,006	14
ТИБК, 25 мг/л	0,045±0,007	13
ИУК, 1 мг/л + ТИБК	0,072±0,006	12
α-НУК, 1 мг/л + ТИБК	0,049±0,002	12
β-НУК, 1 мг/л + ТИБК	0,054±0,004	13
Контроль	0,129±0,015	12

Примечание. t_0 — момент начала прорастания; k — коэффициент, показывающий скорость прорастания в момент t_0 .

момент начала прорастания также не изменяется по сравнению с контролем, однако интенсивность ризоидообразования остается такой же, как и в варианте с одной ТИБК (см. таблицу). β-НУК никак не модифицирует действие ТИБК на зиготы.

Полученные нами данные подтверждают предположение о том, что именно наружная концентрация ауксина (ИУК или ее активного синтетического аналога) играет важную роль в индукции полярности и ризоидообразования у зигот *F. vesiculosus*. Действие ИУК в этой системе специфично. Подобные функции ауксин выполняет не только у водорослей: ИУК принимает участие в регуляции раннего эмбриогенеза высших растений, и воздействие ингибиторами полярного транспорта ИУК приводит к развитию эмбрионов с различными аномалиями полярности [8, 14]. Другие фитогормоны, найденные в бурых водорослях (некоторые цитокинины и гиббереллины), по-видимому, выполняют те же функции, что и в тканях высших растений [2, 13, 15, 16]. Таким образом, системе фитогормонов, очевидно, принадлежит важная роль в регуляции развития бурых водорослей. Детали механизма действия ИУК и других гормонов пока остаются во многом неясными и, несомненно, заслуживают дальнейшего исследования.

Статья рекомендована проф. К. В. Квитко.

Summary

Tarakhovskaya E. R., Maslov Y. I., Polevoi V. V. To the problem of regulation of *Fucus vesiculosus* L. zygotes germination.

The influence of indole-3-acetic acid (IAA) and the series of its active (α-naphthaleneacetic acid, α-NAA; 2,4-dichlorophenoxyacetic acid, 2,4-D) and inactive (β-NAA) synthetic analogs on the polarization and rhizoid protuberance formation in the zygotes of brown alga *Fucus vesiculosus* L. was investigated. IAA (1 mg/l) and α-NAA stimulate the polarization of the zygotes, inactive auxin (β-NAA) has no considerable effect. It is supposed, that auxin plays an important role in the polarity induction and rhizoid formation in *F. vesiculosus* zygotes, and the hormone effect is specific.

Литература

1. Полевой В. В., Тараховская Е. Р., Маслов Ю. И., Полевой А. В. Роль ауксина в индукции полярности у зигот *Fucus vesiculosus* L. // Онтогенез. 2003. Т. 34, № 6. С. 1–6.
2. Тараховская Е. Р., Маслов Ю. И., Полевой В. В. Влияние некоторых физиологически активных веществ на прорастание зигот *Fucus vesiculosus* L. // Вестн. С.-Петерб. ун-та. Сер. 3. 2002. Вып. 4 (№ 27). С. 125–129.
3. Basu S., Sun H., Brian L., Quatrano R. L., Muday G. K. Early embryo development in *Fucus distichus* is auxin sensitive // *Plant Physiol.* 2002. Vol. 130, N 1. P. 292–302.
4. Davidson F. F. The effects of auxins on the growth of marine algae // *Amer. J. Bot.* 1950. Vol. 37. P. 502–510.
5. Goldsmith M. H. M. The polar transport of auxin // *Annu. Rev. Plant Physiol.* 1977. Vol. 28. P. 439–478.
6. Jaffe L. F. Localization in the developing *Fucus* egg and the general role of localizing currents // *Adv. Morphol.* 1968. Vol. 7. P. 295–328.
7. Jaffe L. F., Neuscheler W. On the mutual polarization of nearby pairs of Fucaceae eggs // *Develop. Biol.* 1969. Vol. 19, № 6. P. 549–565.
8. Jurgens G. New EMBO members' review: apical-basal pattern formation in *Arabidopsis* embryogenesis // *EMBO.* 2001. Vol. 20. P. 3609–3616.
9. Kropf D. L. Induction of polarity in fucoid zygotes // *The Plant Cell.* 1997. Vol. 9. P. 1011–1020.
10. Morris D. A. Transmembrane auxin carrier systems — dynamic regulators of polar auxin transport // *Plant Growth Regulation.* 2000. Vol. 32. P. 161–172.
11. Quatrano R. S. Developmental biology: development in marine organisms // *Experimental marine biology* / Ed. by R. N. Mariscal. New York; London, 1974. P. 303–346.
12. Quatrano R. S. Development of cell polarity // *Annu. Rev. Plant Physiol.* 1978. Vol. 29. P. 487–510.
13. Radley M. Gibberellin-like substances in plants // *Nature.* 1961. Vol. 191. P. 684–685.
14. Souter M., Lindsey K. Polarity and signaling in plant embryogenesis // *J. Exp. Bot.* 2000. Vol. 51, N 347. P. 971–983.
15. Stirk W. A., Van Staden J. Isolation and identification of cytokinins in a new commercial seaweed product made from *Fucus serratus* L. // *J. Applied Phycol.* 1997a. Vol. 9. P. 327–330.
16. Stirk W. A., Van Staden J. Comparison of cytokinin- and auxin-like activity in some commercially used seaweed extracts // *J. Applied Phycol.* 1997b. Vol. 8. P. 503–508.
17. Torrey J. G., Galun E. Apolar embryos of *Fucus* resulting from osmotic and chemical treatment // *Amer. J. Bot.* 1970. Vol. 57, N 1. P. 111–119.

Статья поступила в редакцию 14 июня 2003 г.