



В.А. ВАСЮК, Н.П. ВЕДЕНІЧЕВА,
В.М. ГЕНЕРАЛОВА, Г.І. МАРТИН,
Л.І. МУСАТЕНКО

Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України
Вул. Терещенківська, 2, Київ, МСП-1, 01601, Україна

**ФІТОГОРМОНИ ОСЬОВИХ
ОРГАНІВ ПРОРОСТКІВ КУКУРУДЗИ
В ГЕТЕРОТРОФНИЙ ПЕРІОД РОСТУ**

Ключові слова: Zea mays, фітогормони, клітинний ріст

Життєвий цикл рослин включає ряд послідовних етапів, які характеризуються якісними і кількісними змінами біохімічних реакцій фізіологічних процесів. Програма онтогенетичного розвитку реалізується завдяки поділу, розтягуванню клітин і формуванню відповідних тканин і органів [1, 14]. Інтенсивність росту, взаємодію органів, відповідь рослинного організму на вплив різних зовнішніх факторів зумовлює регуляторна система, функціонування якої базується на співвідношенні її складових, що дає змогу використовувати механізми інактивації чи обмеження функцій одних компонентів і посилення — інших [2, 15, 20, 22, 24]. Незважаючи на те, що важлива роль фітогормонів як регуляторної системи є безсумнівною, їх участь у рості, формуванні й взаємодії осьових органів у гетеротрофний період розвитку проростків остаточно не розкрита [7, 13, 23]. Насамперед це зумовлено складністю генетичної запрограмованості широкого спектра дії окремих компонентів гормональної системи в різних тканинах і органах

© В.А. ВАСЮК,
Н.П. ВЕДЕНІЧЕВА,
В.М. ГЕНЕРАЛОВА,
Г.І. МАРТИН,
Л.І. МУСАТЕНКО, 2006

ще під час формування і переходу насіння до стану спокою. Мета нашої роботи полягала у дослідженні гормонального комплексу в окремих органах проростків кукурудзи в гетеротрофний період їхнього розвитку.

Матеріали і методи дослідження

Дослідження проведено на проростках кукурудзи *Zea mays* L. (гібрид Дніпровська 247). Відкаліброване насіння замочували протягом 3 год у воді кімнатної температури, загортали у фільтрувальний папір у вигляді трубочок, ставили у стакани з водою і пророщували в термостаті без освітлення за температури 27 °С. Матеріал для дослідження відбирали через 2, 3 і 4 доби росту проростків. Середній розмір кореня, мезокотилі і бруньки, швидкість їх росту і розмір ростових зон визначали, вимірюючи досліджувані органи й аналізуючи розмір клітин на анатомічних препаратах у мікроскопі NU2 (Carl Zeiss, Німеччина).

Ендогенні фітогормони екстрагували 80 %-м етиловим спиртом з антиоксидантом і досліджували за раніш описаною методикою [9]. Вміст вільних ІОК і АБК визначали після кислотного-лужної переекстракції водного залишку з ефірного екстракту і доочищення з використанням тонкошарової хроматографії, зв'язаних — після гідролізу 1н NaOH у 30 %-му етиловому спирті. Цитокініни виділяли з водного залишку бутанолом з подальшим очищенням шляхом іонообмінної і тонкошарової хроматографії. Кількісне визначення фітогормонів проводили на рідинному хроматографі фірми «Pye Unicam» (Англія) і розраховували за програмою «Chrom-6». Сумарну активність етилацетатних і бутанольних екстрактів гібереліноподібних речовин (ГПР) встановлювали методом біопроб і виражали в еквівалентах до ГК₃. Повторність дослідів трикратна. За отриманими даними розраховували середні значення та їхні похибки.

Результати дослідження та їх обговорення

У процесі експерименту встановлено, що через 24 год після замочування наклюнулося 26 %, на 30-ту год — 72 %, а на 48-му — 98 % зернівок. Оскільки ростові процеси у переважній більшості насіння активувалися протягом другої

Таблиця 1. Ріст органів проростків кукурудзи

Вік проростків, год	Органи проростків						
	брунька			мезокотиль			
	розмір, мм	зона росту, мм	швидкість росту, мм/год	розмір, мм	зона росту, мм	зона поділу клітин, мм	швидкість росту, мм/год
24	2,4±0,1	2,4±0,1	—	1,2±0,1	1,2±0,1	1,0±0,1	—
48	5,3±0,3	5,3±0,3	0,12	4,5±0,4	4,5±0,4	2,0±0,1	0,15
72	13±0,7	13,0±0,7	0,32	26,0±3,0	7,3±0,6	2,2±0,1	0,90
96	27,0±1,4	27,0±1,4	0,60	42,1±4,0	8,0±0,5	2,0±0,2	0,60

доби, дослідження починали з 48 год проростання. Отримані результати представлено у табл. 1. Початок росту кореня, мезокотиля і бруньки супроводжувався формуванням у них ростових зон, що включали ділянки поділу і розтягування клітин. Найбільшою швидкістю росту в ранній період була у коренях — 1,1 мм/год, інші органи у цей час росли значно повільніше. Висока швидкість росту зародкового кореня зумовлена необхідністю закріплення майбутнього проростка у субстраті. Протягом наступного періоду, коли продовжувалося формування зони росту і збільшувалася кількість клітин, котрі перебували у стані поділу і розтягування, ріст органів проростків прискорювався. На 72-гу год завершилося формування ростових зон первинних коренів, і вони перейшли у стаціонарну фазу росту. Відносно стабільний розмір зон у цей період підтримувався завдяки збереженню кількісних співвідношень між клітинами, що утворилися у результаті поділу, перейшли до розтягування і завершили ріст.

На цей час чітко окреслені також ростові зони мезокотиля (табл. 1). Зона поділу клітин у цих органах знаходиться у дистальній ділянці та сягає близько 2 мм заввишки. Після завершення мітотичного циклу клітини ростуть розтягуванням, формуючи відповідну зону розміром майже 6 мм. Першими завершують ріст клітини базальної частини, утворюючи зону зрілих клітин, яка збільшується в міру росту. Зауважимо, що, на відміну від кореня, ріст мезокотиля обмежений у часі і припиняється після сприйняття колеоптилями світла.

Брунька порівняно з іншими органами багатокомпонентна і складається із колеоптиля, п'яти зародкових листків, зародкового стебла й апікальної меристеми. Ріст бруньки визначали, вимірюючи її висоту (табл. 1). Після другої доби поділ клітин у колеоптилі припинявся і його подальший ріст здійснювався лише шляхом їх розтягування. Зачаткові листки і стебла росли винятково за рахунок поділу клітин. При цьому частка колеоптиля становила 29 %, первинних листків — 61 % і стебла — 10 % від загального об'єму бруньки.

Поряд з дослідженням росту осьових органів у них визначали вміст вільних і зв'язаних форм фітогормонів. Показано, що в гетеротрофний пе-

корінь			
розмір, мм	зона росту, мм	зона поділу клітин, мм	швидкість росту, мм/год
3,6±0,1	3,6±0,1	1,5±0,3	—
30,1±4,0	7,6±1,0	1,8±0,4	1,1
75,4±8,0	8,8±0,7	1,9±0,3	1,9
128,6±16,1	8,7±1,0	1,9±0,3	2,2

ріод формування проростків кукурудзи рівень вільних і зв'язаних форм ІОК, ГПР, АБК і цитокінінів в окремих органах різний (таблиці 2, 3). Найвищий вміст вільної ІОК спостерігався у бруньці, у мезокотилі та корені практично не відрізнявся і був удвічі меншим порівняно з брунькою. Осьові органи, крім вільної, містили певну кількість зв'язаної ІОК. Протягом другої і третьої діб її концентрація переважала у бруньці і мезокотилі і різко знижувалася на четверту добу.

Важливу роль у підтриманні проліферативної активності клітин відіграють цитокініни та їхні співвідношення з ІОК. Дослідження вільних (зеатин, зеатинрибозид) і зв'язаних (зеатинглюкозид) цитокінінів показало суттєве збільшення їх концентрації у процесі росту бруньки та кореня. У мезокотилі вміст цитокінінів залишався на відносно низькому стабільному рівні (табл. 3). Кількість вільних цитокінінів у бруньці і головному корені збільшувалася. Слід зауважити, зеатинглюкозид з'являється в органах проростків лише після 48 год, від чого, безперечно, залежить інтенсивність їх росту. Вміст ГПР у бруньці і корені в міру формування проростків зменшувався. Особливо інтенсивно цей процес відбувався протягом третьої доби росту. Таку саму закономірність спостерігали й визначаючи зв'язані форми ГПР. У мезокотилі, після різкого зниження ГПР упродовж третьої доби, їхній ріст у подальшому корелював з інтенсифікацією процесу розтягування (табл. 2). Показано, що вміст вільної АБК в органах протягом перших 3 діб дослідження незначний. Надалі спостерігали певну тенденцію до підвищення вмісту вільної та зменшення — зв'язаної форм АБК у міру росту проростків, що могло бути причиною збільшення зон зрілих клітин.

Розподіл гормональних речовин залежно від інтенсивності і типу росту органів кукурудзи має такий вигляд: на початку росту в мезокотилі і колеоптилі з апікальною брунькою переважають гібереліни, ІОК зосереджена в апікальній частині стебла протягом усього досліджуваного періоду і в мезо-

Таблиця 2. Вміст фітогормонів в органах проростків кукурудзи, нг/г маси сирої речовини

Органи проростків	Вік проростків, год	ІОК		ГПР		АБК	
		вільна форма	зв'язана форма	вільна форма	зв'язана форма	вільна форма	зв'язана форма
Брунька	48	231±28	152±13	257±24	1111±81	85±7	123±11
	72	273±25	173±14	206±18	116±10	99±8	55±4
	96	105±11	56±6	196±18	134±15	105±11	56±6
Мезокотиль	48	89±8	205±19	2561±191	1485±105	68±5	87±7
	72	91±8	152±12	146±11	129±4	85±7	60±5
	96	96±7	51±5	295±11	862±42	96±7	51±5
Корінь	48	81±7	83±7	1050±62	616±42	35±4	41±5
	72	92±7	130±11	554±58	156±24	43±5	49±4
	96	66±5	48±5	336±25	252±21	66±5	48±5

котилі 4-добових проростків, для коренів характерний найвищий вміст цитокінінів.

За даними літератури, важливу роль у системі гормональної регуляції росту рослин відіграють ІОК і цитокініни [12, 21]. Вони індукують поділ, ріст і диференціацію клітин та задіюють важливі генетичні програми, які забезпечують формування кореня і пагона. ІОК та цитокініни взаємодіють за принципом зворотних позитивних зв'язків, забезпечуючи поступальний розвиток рослинного організму. Загальноприйнятою концепцією є адаптивна роль АБК й етилену, котрі синтезуються за екстремальних умов [6, 11—13]. За нашими даними, наявність підвищеної кількості ІОК у бруньці, що корелює з інтенсивністю ростових процесів, засвідчує високу активність біосинтетичних реакцій і відповідає літературним повідомленням про те, що рістрегулюючі речовини ауксинового типу значною мірою локалізовані в апікальних частинах рослин. Такий розподіл ІОК в осьових органах проростка створює відповідний концентраційний градієнт між брунькою і первинним коренем, виникнення якого, очевидно, зумовлене здатністю бруньки синтезувати ІОК, подальшим її транспортом і використанням в інших органах, а також швидким переходом вільної ІОК у похідні гормонів індольної природи [18]. Переважання зв'язаної форми ІОК у бруньці і мезокотилі на 2-гу і 3-тю доби і різке зниження на 4-ту, можливо, пояснюється гідролітичним розщепленням кон'югованих сполук індольної природи і перетворенням продуктів реакції на індоліацетальдегід або індоліацетонітрил, оскільки при цьому не відзначено підвищення вмісту вільної ІОК, попри відомі докази того, що зв'язані форми є джерелом вільної ІОК і не транспортуються до інших органів [4, 5]. Такий розподіл різних форм ІОК стимулює перехід органів проростка у фазу стаціонарного росту і оптимізацію у них рівнів ІОК.

Відносне підвищення вмісту цитокінінів у бруньці та головному корені супроводжувалося прискоренням росту — очевидно, за рахунок збільшення

Таблиця 3. Вміст цитокінінів в органах проростків кукурудзи, нг/гмаси сирі речовини

Органи проростків	Вік проростків, год	Фітогормони		
		зеатин	зеатинрибозид	зеатинглюкозид
Брунька	48	172±15	105±9	0
	72	289±27	173±13	77±8
	96	344±35	195±18	112±12
Мезокотиль	48	76±7	35±5	29±3
	72	82±6	44±4	69±8
	96	72±9	37±5	51±8
Корінь	48	258±22	196±18	54±5
	72	314±29	252±27	112±13
	96	338±33	263±28	92±11

частки проліферативного пулу меристем. Низький рівень цитокінінів у мезокотилі, можливо, зумовлений його транспортною функцією та обмеженим періодом росту [3, 8, 12].

Інтенсифікація процесу розтягування мезокотилія після третьої доби пов'язана зі збільшенням рівня ГПР, що узгоджується з результатами експериментів з використанням мутацій у генах синтезу гіберелінів, які довели залежність процесів росту стебла від кількості даного гормону [7, 19].

Відомо, що на ранніх етапах онтогенезу рослин кількість вільної АБК найменша і її зростання уповільнює ріст [10]. Низький вміст АБК є непрямим доказом високого ступеня біосинтетичних реакцій, внаслідок яких утворюються полімерні сполуки — такі як целюлоза, що переважно складає клітинну оболонку тканин, а також конституційні речовини, результатом чого і є накопичення біомаси.

Оцінити доцільність саме таких кількісних змін різних груп фітогормонів досить важко, бо у процесах росту беруть участь як вільні, так і зв'язані форми та їхні похідні. І хоча однією із функцій кон'югованих гормонів є резервна, однак вони також можуть бути активними, але дещо меншою мірою, аніж вільні форми [17]. Отримані дані свідчать про складність кількісних взаємовідносин ендогенних рістрегулюючих речовин у цілісному організмі і вказують на те, що корені містять високу кількість цитокінінів, апікальна брунька — ІОК, мезокотиль і стебло — ГПР та АБК.

Від якісних і кількісних змін гормональної системи залежить спрямованість метаболічних реакцій окремих органів та всієї рослини. Крім того, не можна не враховувати їх взаємодії з такими сполуками, як білки, вуглеводи тощо. Зміни концентрації фітогормонів в органах проростків є сигналом активації генів, які відповідають за формотворчі процеси [6, 16]. Завдяки глибоким внутрішнім перебудовам фізіологічних і біохімічних процесів, індукованим та регульованим гормональною системою, рослини зберігають гомеостатичну рівновагу, координується їхній гармонійний ріст і розвиток.

1. *Иванов В.Б.* Меристема как самоорганизующая система: поддержание и ограничение пролиферации клеток // Физиол. раст. — 2004. — **51**, № 6. — С. 926—941.
2. *Иванова А.Б., Анцигина Л.Л., Ярин А.Ю.* Современные аспекты изучения фитогормонов // Цитология. — 1999. — **41**, № 10. — С. 835—847.
3. *Котова Л.М., Котов А.А., Кара А.Н.* Изменение баланса фитогормонов в стеблях и корнях гороха после декапитации проростков // Физиол. раст. — 2004. — **51**, № 1. — С. 121—125.
4. *Кудоярова Г.Р.* Уровень фитогормонов в растении: способы регуляции, биологическая значимость // Экол. аспекты регул. роста и продукт. раст. — Ярославль, 1991. — С. 158—169.
5. *Кудоярова Г.Р., Гюли-Заде В.З., Чередова Е.П. и др.* Зависимость скорости роста coleoptилей кукурузы от эндогенного содержания в них ауксинов // Докл. АН СССР. — 1988. — **301**, № 5. — С. 1277—1279.
6. *Кулаева О.Н., Кузнецов В.В.* Новейшие достижения и перспективы в области изучения цитокининов // Физиол. раст. — 2002. — **49**, № 4. — С. 626—640.

7. Кулаева О.Н., Прокопцева О.С. Новейшие достижения в изучении механизма действия фитогормонов // Биохимия. — 2004. — **69**, № 3. — С. 293—310.
8. Мартин Г.И. Клітинний ріст стебла кукурудзи // Укр. ботан. журн. — 1988. — **45**, № 4. — С. 35—39.
9. Методические рекомендации по определению фитогормонов. — Киев: Ин-т ботаники АН УССР, 1988. — 78 с.
10. Москалева О.В., Каравайко Н.Н. Динамика эндогенных фитогормонов в развивающихся проростках кукурузы // Физиол. раст. — 1990. — **37**, № 6. — С. 1113—1122.
11. Полевой В.В. Физиология целостности растительного организма // Физиол. раст. — 2001. — **48**, № 4. — С. 631—643.
12. Полевой В.В., Полевой А.В. Эндогенные фитогормоны этилированных проростков кукурузы // Физиол. раст. — 1992. — **33**, № 6. — С. 1113—1120.
13. Полевой В.В., Саламатова Т.С. Физиология роста и развития растений. — Л.: Изд-во ЛГУ, 1991. — 240 с.
14. Синнот Э. Морфология растений. — М.: ИЛ, 1963. — 603 с.
15. Ситник К.М., Мусатенко Л.И., Васюк В.А. та ін. Гормональний комплекс рослин і грибів. — К., 2003. — 185 с.
16. Цыганкова В.А., Галкина Л.А., Мусатенко Л.И., Ситник К.М. Генетический и эпигенетический контроль роста и развития растений. Молекулярно-генетический контроль проведения и реализации сигналов ауксинов // Біополімери і клітина. — 2005. — **21**, № 3. — С. 187—219.
17. Cohen J., Bandurski R.S. Chemistry and physiology of the bound auxins // Ann. Rev. Plant Physiol. — 1982. — **33**. — P. 403—430.
18. Jones A.M. Auxin-binding protein // Ann. Rev. Plant Physiol. Plant. Mol. Biol. — 1994. — **45**. — P. 393—420.
19. Headen P., Kamiya Y. Gibberellins biosynthesis enzymes, genes and their regulation // Ann. Rev. Plant Physiol. Plant. Mol. Biol. — 1997. — **43**. — P. 43—60.
20. Kende H., Zeevaart J.A.D. The five «classical» plant hormones // Plant Cell. — 1997. — **9**, № 7. — P. 1197—1210.
21. Stolarek J., Karcz W., Pierruska M. Correlation between growth and acidification of the medium of *Zea mays* L. coleoptile segments in wide range of IAA concentration // Physiol. Plant. — 1990. — **79**, № 2. — P. 2—12.
22. Voesenek L.A., Blom C.W. Plant and hormones: ecophysiological view on limiting and plasticity // J. Ecol. — 1996. — **84**, № 1. — P. 111—119.
23. Xu N., Bewley J.D. The role of abscisic acid in germination, storage protein synthesis and desiccation tolerance in alfalfa (*Medicago sativa* L.) seeds as shown by inhibition of its synthesis by fluridone during development // J. Exp. Bot. — 1995. — **46**, № 287. — P. 687—694.
24. Zeevaart J.A.D. Environmental control of plant development and its relation to plant hormones // MSU-DOE Plant Research Laboratory / Annual Report. — 2004. — P. 91—103.

Рекомендує до друку
І.В. Косаківська

Надійшла 12.05.2006

В.А. Васюк, Н.П. Веденичева, В.Н. Генералова, Г.И. Мартин, Л.И. Мусатенко

Институт ботаники им. Н.Г. Холодного НАН Украины, г. Киев

ФИТОГОРМОНЫ ОСЕВЫХ ОРГАНОВ ПРОРОСТКОВ КУКУРУЗЫ В ГЕТЕРОТРОФНЫЙ ПЕРИОД РОСТА

Изучали морфофизиологические показатели (размеры, скорость роста, размеры зоны деления клеток) и уровень эндогенных фитогормонов (методом ВЭЖХ) осевых органов проростков кукурузы в гетеротрофный период их роста (на 2—4 сутки прорастания). Развитие корня, мезокотила и почки сопровождалось формированием в них ростовых

зон, которое заканчивалось у корня и мезокотыля к 72 ч., однако рост мезокотыля ограничен во времени и прекращается после восприятия им света. Наивысшая скорость роста наблюдалась в корнях — 1,1 мм/час в ранний период прорастания. Осьевые органы отличаются содержанием свободных и связанных форм АБК, ИУК, цитокининов и гиббереллиноподобных веществ (ГПР). ГПР преобладали в мезокотыле и почке, ИУК накапливалась в мезокотыле и почке проростков, для корней характерно более высокое содержание цитокининов. Уровень АБК во всех органах незначителен, однако он возрос по мере увеличения размеров зон зрелых клеток.

Ключевые слова: *Zea mays*, фитогормоны, клеточный рост

V.A. Vasjuk, N.P. Vedenicheva, V.M. Generalova, G.I. Martyn, L.I. Musatenko

M.G. Kholodny Institute of Botany, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv

PHYTOHORMONES IN AXIAL ORGANS OF SEEDLINGS OF *ZEА MAYS* L.
DURING THE HETEROTROPHIC PERIOD OF GROWTH

Morphological and physiological characteristics (size, growth rate, cell division zones length) and endogenous phytohormones levels in axial organs of seedlings of *Zea mays* L. during the heterotrophic period of growth (2–4 d of germination) were studied by HPLC, bioassays and microscopy methods. Root, mesocotyl and bud development was accompanied by growth zones formation. The last one of root and mesocotyle completed to 72 h of germination. Mesocotyle growth is limited in time and terminated after light perception. The highest growth rate was detected in roots at the beginning of germination — 1.1 m/h. The content of ABA, IAA, cytokinins and gibberellin-like substances (GLS) was different in axial organs. GLS prevailed in mesocotyle and bud, IAA accumulated in mesocotyle of 4-d seedlings, the highest level of cytokinins was determined in roots. ABA content was not essential but it increased as far as growth zones lengthened.

Key words: *Zea mays*, phytohormones, cell growth