

УДК 581.143.28

ПОКАЗНИКИ РОСТУ, ЯК КРИТЕРІЇ ОЦІНКИ ГЕТЕРОБЛАСТІЇ ДЕРНОУТВОРЮЮЧИХ ТРАВ

І.О. Тіханков

*Показники росту, як критерії оцінки гетеробластії дерноутворюючих трав. - І.О. Тіханков. - Вивчено явище гетеробластії дерноутворюючих трав на прикладі *Lolium perenne* L. шляхом аналізу ростових показників. Встановлено, що вони можуть бути фізіологічними критеріями оцінки гетеробластії. У зв'язку з цим проведено аналіз анатомічної структури зародку. Вивчені сортові відмінності, які проявляються у характері прояву гетеробластії.*

Ключові слова: гетеробластія, дерноутворюючі трави, пажитниця, швидкість росту.

Адреса: кафедра фізіології рослин та екології, біологічний факультет, Дніпропетровський національний університет, вул. Наукова, 13, Дніпропетровськ, 49050, Україна

e-mail: 24traven@ukr.net

*The gross indicators as criterions of turfgrass heteroblasty. - Tikhankov I.O. - The turfgrass heteroblasty have been investigated by the analysis of gross indicators for *Lolium perenne* L. They may be used as physiology criterions for the heteroblasty estimation. The anatomy analysis of the germ have been performed with connection of this investigation. Have been founded that heteroblasty may be connected with sort peculiarity.*

Key words: heteroblasty, turfgrass, ryegrass, growth rate.

Adress: chair of plant physiology and ecology, biology department, Dnipropetrovsk state university, 13, Naukova str., Dnipropetrovsk, 49050, Ukraine

e-mail: 24traven@ukr.net

Явище гетеробластії відомо давно і є предметом багатьох досліджень [14, 16-18]. Такий сталий інтерес до нього пояснюється тим, що зміни у морфології, анатомії та фізіології листових пластинок, в залежності від часу їх появи на кожній окремо взятій рослині, є чудовою моделлю морфогенезу. Використання у якості об'єктів рослин, мутантних по певних генах, дає змогу детально вивчити процеси формування вегетативних органів і окремих тканин. Це відкриває можливості регуляції цих процесів з метою отримання рослин з необхідними властивостями. Більшість робіт було проведено на дводольних і в першу чергу на арабідопсисі (*Arabidopsis thaliana* L.) [8, 12]. Це пояснюється тим, що *A. thaliana* є невисокою рослиною, швидко росте і швидко дає потомство. Для неї також створено банки мутантів. Форми листків дводольних сильно різняться між собою, що полегшує аналіз результатів проведених генетичних дослідів. Цього не можна сказати про одnodольні. Тим не менш, останнім часом все більше уваги приділяється злаковим з огляду на їх важливе сільськогосподарське значення. Найчастіше об'єктами досліджень серед них стають кукурудза, рис, пшениця [9, 13, 18]. При цьому осторонь залишається те, що злаки посідають одне з перших місць у поширеності в природних екосистемах. Тому увагу привернула пажитниця

багаторічна (*Lolium perenne*), яка є представником дерноутворюючих трав, що використовуються при створенні декоративних і спортивних газонів [3, 5, 21], рекультиватії земель [3, 5], а у низці країн є однією з головних кормових культур [10]. При цьому часто постає питання про її спроможність конкурувати з бур'янами, особливо навесні, в момент появи сходів і на перших етапах формування фітоценозів [7]. Тут вирішальне значення мають фізіологічні властивості перших кількох листків. У теоретичному плані цікавим є те, що у зародку злакових вже присутні кілька перших листків, сформованих ще на ембріональному етапі онтогенезу [11, 17].

Метою роботи було дослідження різниці у динаміці появи і росту трьох перших листків різних сортів пажитниці та з'ясування, у зв'язку з цим, анатомічної структури її зародку.

Матеріал та методи

Для проведення дослідів було обрано три сорти пажитниці (RAPID, SAKINI, ESQUIRE) датської селекції від фірми Trifolim [21]. Насіння висаджувалось на субстрат, що являє собою ґрунтову суміш „Універсальна поліська“ з рН 5,5-6,5 і з доданням рівної за об'ємом кількості піску. Дослід проводився у закритому приміщенні зі ста-

люю температурою 23°C. Її максимальні коливання не перевищували $\pm 2^\circ\text{C}$. Освітлення було природнім, з максимальною інтенсивністю 1500 лк. Тривалість світлового дня штучно не регулювалась і дорівнювалась довжині світлового дня у липні місяці. Простежувалась динаміка появи кожного листка шляхом підрахунку кількості рослин, що випустили цей листок. Довжина першого листка починала вимірюватись від моменту появи сходів і умовно дорівнювалась довжині колеоптилю в перші кілька днів. Довжини другого і третього листків вимірювались від моменту їх виходу з трубки. Заміри для кожного листка проводились щодня протягом 10 діб. Це той час, коли у 90% рослин виходить з трубки наступний листок. У кожному варіанті було 100 рослин.

Для анатомічного дослідження зародку, насіння пророщувалось у чашках Петрі згідно рекомендацій Ю.В.Ракітіна [4]. Матеріал для фіксації відбирали на 12-й, 18-й, 24-й і 30-й годинах. Фіксатором був 4% формальдегід на 0,12 М К₂Na-фосфатному буфері. Зневоджування і заливку в Епон проводили згідно стандартних методик [2]. Напівтонкі зрізи робили на ультрамікротомі УМТП-4, фарбували сумішшю малахітового зеленого і метилового фіолетового та фотографували з

використанням мікрофотонасадки МФН-12 до мікроскопу „Биолам“.

Математичну обробку отриманих результатів проводили за допомогою програми Graphical Analysis, статистичну - згідно [1], визначалися середні квадратичні помилки середнього арифметичного.

Результати дослідження

Цитологічний аналіз набряклого насіння показав, що у зародку *L. perenne* присутні дві листкових пластинки. Видимих ознак формування проводящих пучків на 12 год. від початку набрякання насіння не спостерігалось. На рис. 1 зображена серія послідовних зрізів, яка демонструє вище сказане. Добре видно, що один листок випереджає другий у своєму розвитку. Приблизно з 24-ї год. у ньому починає формуватися транспортна система. Вона представлена протофлоемними і протоксилемними елементами (рис. 2). На цей час у другому листку такої диференціації тканин ще не спостерігається. Починаючи з 18-ої год. можна помітити примордій 3-го листка, який значно збільшується у розмірах на 30-у год. (рис. 3).

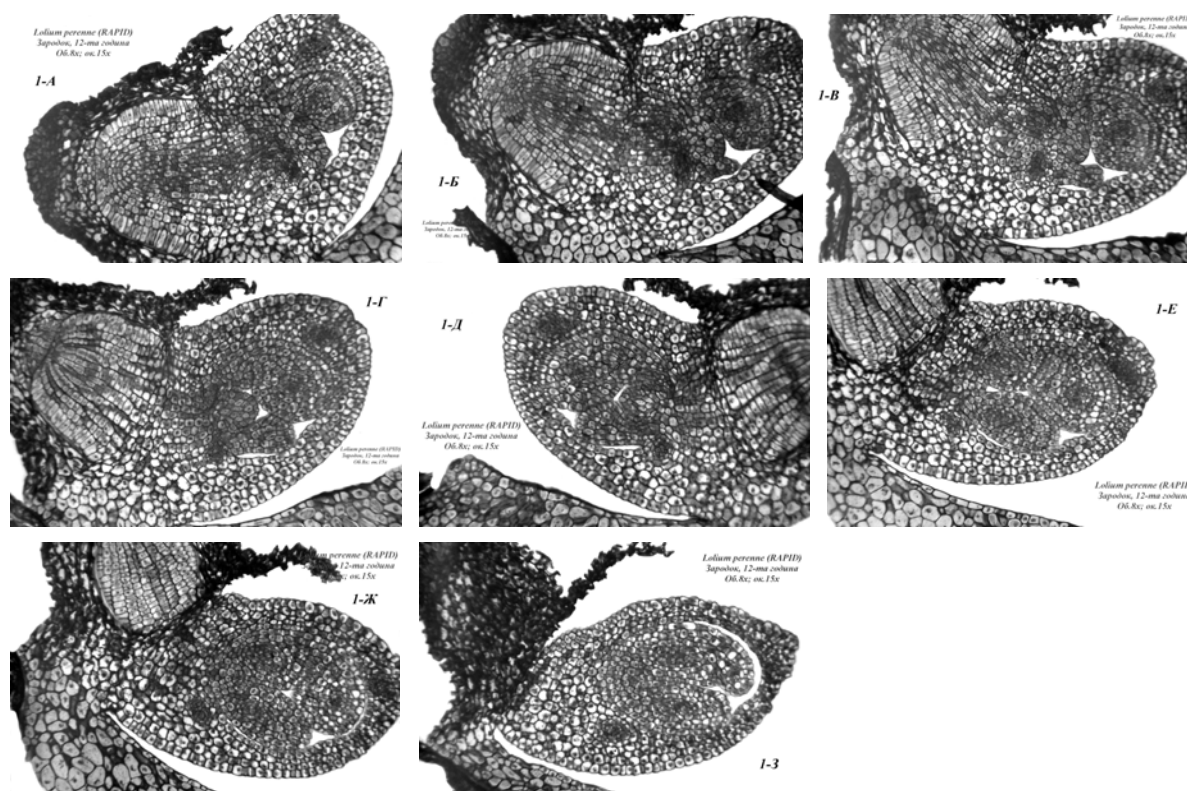


Рис. 1. Серія послідовних зрізів зародку *L. perenne* (RAPID) через 12 годин після замочування. Об. 8х, ок. 15х.

Image 1. Successive sections of *L. perenne* (RAPID) germ after 12 hours of water imbibitions. Ob. 8x, oc. 15x.



Рис. 2. Початок формування транспортної системи листків зародку *L. perenne* (RAPID) через 24 години після замочування. Видно, що у цій рослині було сформовано два апекса. Об. 40х, ок. 7х.

Image 2. The beginning of transport system formation in the leaves of *L. perenne* (RAPID) germs after 24 hours of water imbibitions. One can see that this germ has two shoot apical meristems. Ob. 40x, oc. 7x.



Рис. 3. Апекс зародку *L. perenne* (RAPID) через 30 годин після замочування. Об. 40х, ок. 10х.

Image 3. The shoot apical meristem of *L. perenne* (RAPID) germ after 24 hours of water imbibitions. Ob. 40x, oc. 7x.

Графіки, представлені на рис. 4, 5 і 6, демонструють динаміку появи перших трьох листків усіх сортів пажитниці. На вісі абсцис вказані дні, відлік яких ведеться з моменту появи першого листка. На вісі ординат вказаний відсоток рослин з n -м листком. Найвищі темпи появи має 1-й листок. Другий листок дещо відстає від нього, але виходить, в решті решт, на той самий рівень. Кардинально від них відрізняється розвиток 3-го листка. Його вихід з трубки сильно розтягнутий у часі. При цьому не всі нормально розвинені рослини сформували його за той час, коли проводився дослід. Якщо аналізувати сортові відмінності, то вони носять не якісний, а кількісний характер і знаходять своє відображення у збільшені різниці в інтенсивності появи кожного наступного листка. По динаміці виходу першого листка, сорти майже не різняться між собою. Натомість, по 3-му листку ці відмінності є суттєвими. Найвищими темпами появи нових листків характеризується сорт

ESQUIRE, найнижчими – RAPID. Якщо розглядати ці дані з позицій оцінки гетеробластії, то вона найбільш яскраво буде виражена у RAPID і меншою мірою проявиться у ESQUIRE. Ці результати можна представити у вигляді наступних порівняльних рядів:

Інтенсивність появи листків ESQUIRE
> SAKINI > RAPID

Ступінь прояви гетеробластії RAPID >
SAKINI > ESQUIRE

Для кількісної оцінки відмінностей краще проінтегрувати функції, зображені на графіках. Ці результати наведені у табл.1. З неї видно, що інтенсивність появи 3-го листка порівняно з 1-м для сорту RAPID знизилась у 2,04 рази, а для сорту ESQUIRE лише у 1,32 рази. Сорт SAKINI займає проміжне положення (1,61 рази).

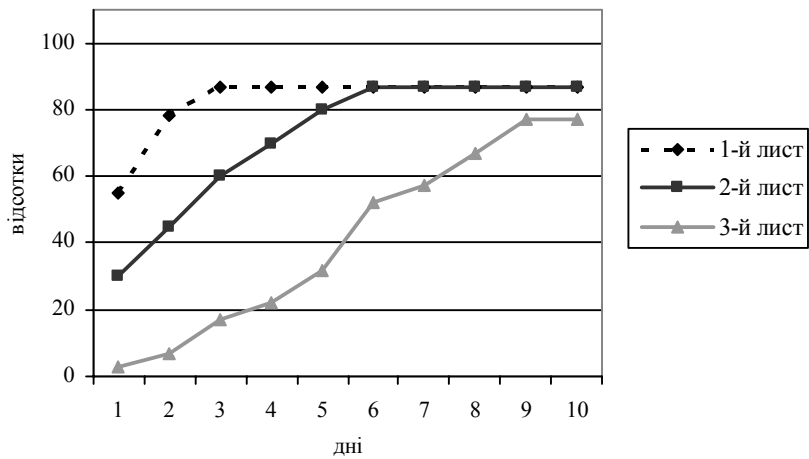


Рис. 4. Динаміка появи перших 3-х листків сорту RAPID.

Fig. 4. The dynamics of appearance of the first three leaves of RAPID.

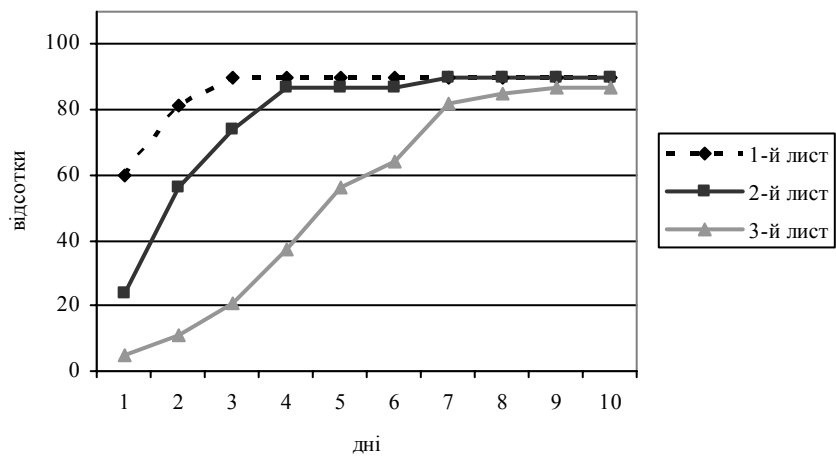


Рис. 5. Динаміка появи перших 3-х листків сорту SAKINI.

Fig. 5. The dynamics of appearance of the first three leaves of SAKINI.

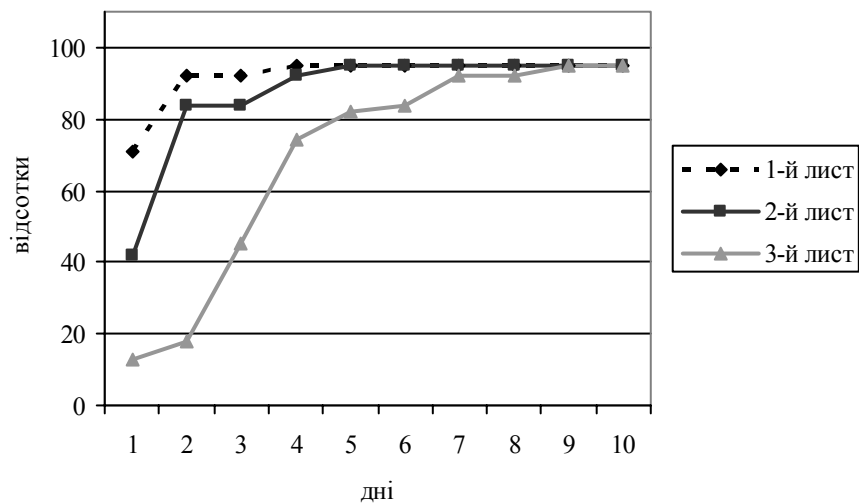


Рис. 6. Динаміка появи перших 3-х листків у сорту ESQUIRE.

Fig. 6. The dynamics of appearance of the first three leaves of ESQUIRE.

Табл. 1. Результати інтегрування функцій інтенсивності появи перших трьох листків у різних сортів *L. perenne*.
 Tabl. 1. The results of the integration the functions of the rise intensity for the first three leaves of different *L. perenne* sorts.

Сорт	1-й листок	2-й листок	3-й листок
RAPID	758	662	372
SAKINI	786	718	489
ESQUIRE	837	804	636

Абсолютні значення довжин листків та їх зміни в часі можна простежити на гістограмах (рис. 7, 8 і 9). Однак, слід враховувати той момент, що ріст 2-го і 3-го листків можна спостерігати тільки після їх виходу з трубки. Тобто тоді, коли довжина листків складає приблизно 1,5 см. У протилежність цьому, довжина 1-го листка починає вимірюватися майже відразу після появи колеоптиля

на поверхні субстрату. Це означає, що буде коректним порівнювати між собою динаміку росту лише 2-го і 3-го листків. Разом з тим, гістограми дають хорошу можливість оцінити кінцевий результат і проаналізувати сортові відмінності. Так сорт RAPID характеризується максимальною довжиною 1-го листка і мінімальною 3-го. Для сорту ESQUIRE картина прямо протилежна.

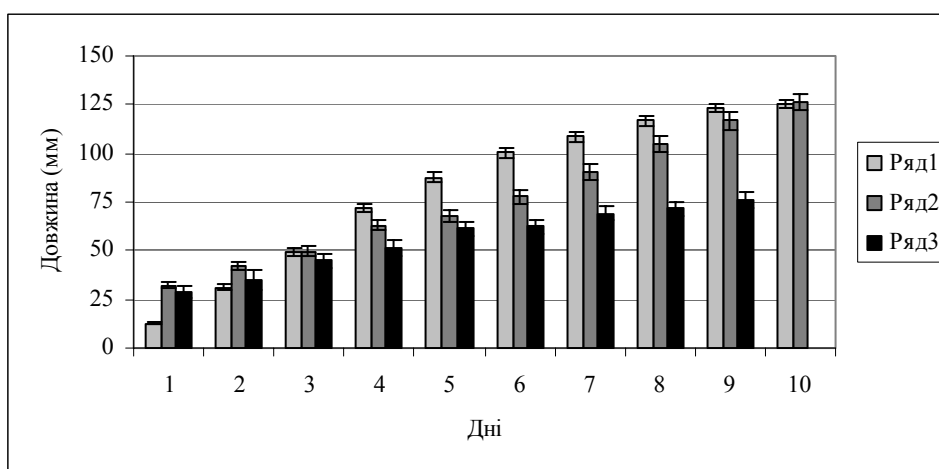


Рис. 7. Довжина перших трьох листків сорту RAPID, починаючи з моменту їх появи.

Fig. 7. The length of the first three leaves of *L. perenne* RAPID from there appearance.

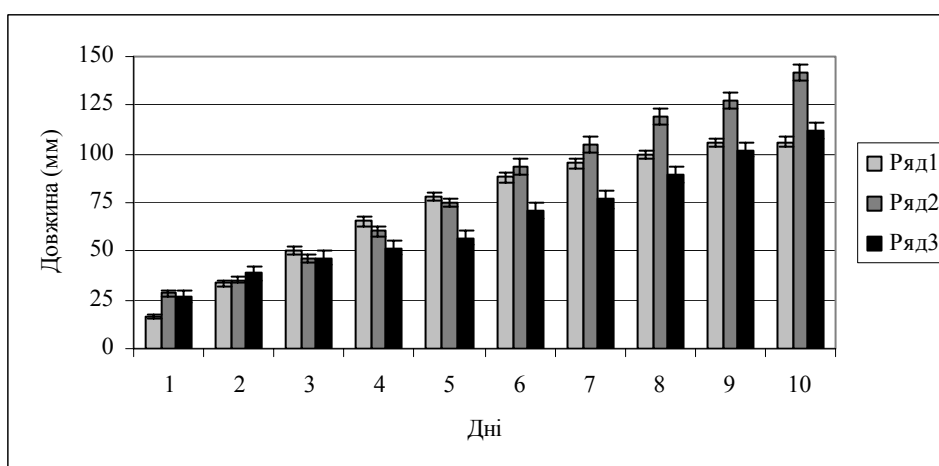


Рис. 8. Довжина перших трьох листків сорту SAKINI, починаючи з моменту їх появи.

Fig. 8. The length of the first three leaves of *L. perenne* SAKINI from there appearance.

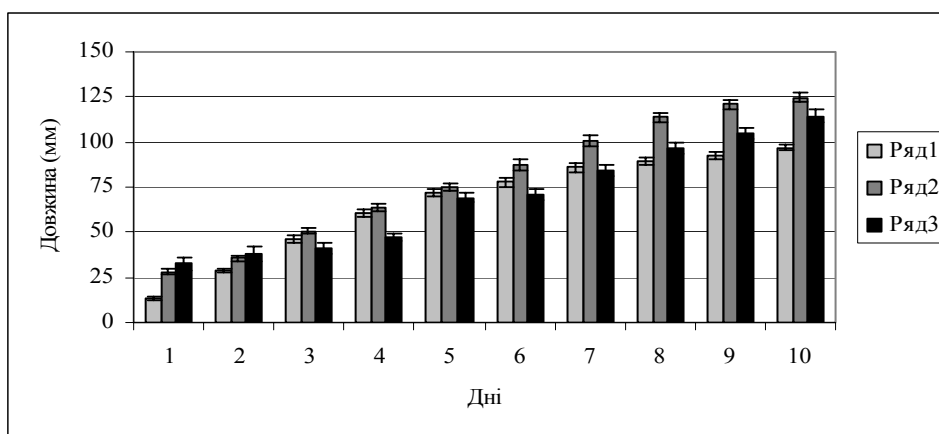


Рис. 9. Довжина перших трьох листків сорту ESQUIRE, починаючи з моменту їх появи.

Fig. 9. The length of the first three leaves of *L. perenne* ESQUIRE from there appearance.

Для уникнення вище згаданих методичних труднощів, слід аналізувати не абсолютні значення довжин листків, а швидкості їх росту. Швидкість росту в певний момент часу є тангенсом кута ($\text{tg } \alpha$) між віссю абсцис і дотичною, що проведена в точці вимірювання на кривій залежності довжини листка від часу. Значення $\text{tg } \alpha$ наведені в табл. 2. З неї видно, що перший листок усіх сортів росте відносно рівномірно. При цьому спостерігається тенденція до сталого і помірного зменшення швидкості росту.

Незначне її зростання спостерігається лише у сорту RAPID на 3-й день. Для 2-го і 3-го листків є притаманною хвилюподібність змін абсолютних значень цього параметру. При цьому слід зазначити, що у 3-го листка довжина циклу є більшою чим у 2-го. Щодо амплітуди таких коливань, то достовірної різниці між листками не виявлено.

Самі коливання носять затухаючий характер. Аналіз середніх арифметичних значень швидкості росту викриває суттєву різницю між сортами і листками. Цей параметр для сорту RAPID набуває менших значень зі зростанням порядкового номеру листка. Для решти сортів найвища швидкість росту характерна для 2-го листка, найнижча – для 3-го. Таким чином, чим більше частота коливань миттєвої швидкості росту, тим більше середня швидкість. Якоїсь кореляції між швидкістю росту і довжиною листка не виявлено, оскільки остання є функцією не лише швидкості, але й тривалості росту, яка не вимірювалась. Грунтуючись на отриманих даних, можна лише припустити, що зі зростанням порядкового номеру листка, тривалість його росту буде збільшуватись.

Табл. 2. Швидкість росту ($\text{tg } \alpha$) перших трьох листків у різних сортів *L. perenne*.

Tab. 2. The growth rate ($\text{tg } \alpha$) of the first three leaves of different *L. perenne* sorts.

Сорт	Листок	Дні від моменту появи листка										Середнє арифмет.
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
RAPID	1-й	18,5	18,2	20,3	19,2	14,3	10,7	8,1	7,4	4,4	2,0	12,31
	2-й	9,8	8,7	10,3	9,0	7,6	11,4	13,3	13,1	10,7	9,2	10,31
	3-й	6,6	8,0	7,9	6,3	5,7	6,0	4,6	3,3	4,2	-	5,84
SAKINI	1-й	18,5	16,9	16,0	14,1	11,3	8,6	5,9	5,5	3,2	0,0	10,00
	2-й	17,2	9,0	12,4	14,3	16,6	15,0	12,9	11,1	11,4	14,9	13,48
	3-й	11,8	9,6	6,5	5,4	9,6	9,9	9,3	12,7	11,5	11,0	9,73
ESQUIRE	1-й	15,3	16,5	15,9	12,9	8,7	6,9	6,0	3,4	3,5	4,1	9,32
	2-й	7,5	11,3	13,8	12,1	11,8	13,0	13,3	9,9	5,6	4,0	10,23
	3-й	5,3	4,4	4,8	9,0	11,8	12,3	12,8	10,4	9,0	9,9	8,97

Обговорення

Результати дослідів свідчать про те, що підґрунтя для появи гетеробластії закладається ще на ембріональному етапі онтогенезу. Виходячи з встановлених особливостей анатомії зародку *L. perenne* можна очікувати, що 1-й та 2-й листки будуть характеризуватися приблизно однаковими

тенденціями розвитку. Причиною тому є початок їх формування ще в ембріональний період. Крім того, в природних умовах вони зазнають, як правило, дії низьких температур, а також знаходяться, по суті, в стані ксеробіозу. Дія цих факторів може відбитися на анатомічних і фізіологічних особливостях перших двох листків. Однак, слід зауважити, що саме на швидкість росту верналізи-

ція насіння *L. perenne* не має впливу [15]. Іншими анатомо-фізіологічними властивостями може характеризуватися 3-й листок, оскільки зневодненню і дії низьких температур буде підвергатися не він сам, а клітини його примордію. До останньої групи можна теоретично віднести решту листків, формування чиїх примордіїв розпочинається вже у ювенільному періоді, що виключає можливість впливу на них зимових температур і висушування. Однак, отримані результати викривають суттєву різницю між 1-м і 2-м листками, яка за параметру швидкості росту носить, як кількісний, так і якісний характер. У цьому плані 2-й листок є більш подібним до 3-го. Тобто зовнішні фактори мало (не) впливають на прояв гетеробластії у відмінностях по темпах росту і ключовим фактором слід вважати генетичний контроль.

Гетеробластію оцінюють, як правило, за анатомічними ознаками [19]. Це пов'язано з легкістю спостережень і тим, що визначені групи генів, які контролюють формування певної архітекτονіки листових пластинок [6]. Однак, у своїх більш пізніх роботах, Sylvester [17, 18] пов'язує це явище зі ступенем зрілості листків, який оцінювала по метахромазії епідермісу після фарбування толуїдиновим синім. Результати власних дослідів свідчать, що гетеробластію може надійно охарактери-

зувати через динаміку ростових процесів. Особливий інтерес у цьому плані представляє вивчення циклічності росту листків. За своїм змістом це коливальний процес, який носить затухаючий характер, а його перебіг визначається двома складовими. Перша це активність інтеркалярної меристеми, друга – експансія клітин. Для визначення внеску кожної з них необхідні подальші цитологічні дослідження. Однак, проведений аналіз миттєвих швидкостей росту дає загальну картину цього складного процесу.

Аналіз отриманих даних свідчить, що такі суто фізіологічні параметри, як інтенсивність появи листків, швидкість їх росту, циклічний характер зміни цієї швидкості являються надійними критеріями оцінки гетеробластії листків у дерноутворюючих трав. Вони можуть суттєво доповнювати анатомо-морфологічні дослідження і використовуватися для аналізу результатів генетичних дослідів, оскільки, в першу чергу, характеризують стан геному. Ці результати можуть стати підґрунтям подібних досліджень інших злакових. Однак, їм повинні передувати анатомічне вивчення зародків з метою виявлення кількості сформованих ще в ембріональний період зародкових листків і примордіїв.

1. Бронштейн И.Н., Семендяев К.А. Справочник по математике для инженеров и учащихся втузов. – Москва: Государственное издательство технико-теоретической литературы, 1953. – 610 с.
2. Гайер Г. Электронная гистохимия. – Москва: Мир, 1974. – 488 с.
3. Лаптев А.А. Газоны. – Киев: Наукова думка, 1983. – 176 с.
4. Ракитин Ю. В., Рудник В. Е. Первичная биологическая оценка химических соединений в качестве регуляторов роста растений и гербицидов // Ю. В. Ракитин. Избранные труды. Химические регуляторы жизнедеятельности растений. – М.: Наука, 1983. – С. 232–246.
5. Сигалов Б.Я. Долголетние газоны. – М.: Наука, 1971. – 311 с.
6. Eckardt N.A. The role of PHANTASTICA in leaf development // The Plant Cell. – 2004. – Vol. 16. – P. 1073-1075.
7. Gibeault V.A., Johnson E., Gowans K., Donaldson D. An evaluation of perennial ryegrass variety seeding rates // California turfgrass culture. – 1974. – Vol. 24, No. 2. – P. 9-11.
8. Harper R.M., Stowe-Evans E.L., Luesse D.R., Muto H., Tatematsu K., Watahiki M.K., Yamamoto K., Liscum E. The NPH4 locus encodes the auxin response factor ARF7, a conditional regulator of differential growth in aerial arabidopsis tissue // Plant Cell. – 2000. – Vol. 12. – P. 757-770.
9. Kawakatsu T., Itoha J.-I., Miyoshi K., Kurata N., Alvarez N., Veit B., Nagato Y. PLASTOCHRON2 regulates leaf initiation and maturation in rice // The Plant Cell. – 2006. – Vol. 18. – P. 612-625.
10. Keating, T., Keating P. O. Comparison of old permanent grassland, *Lolium perenne* and *Lolium multiflorum* swards grown for silage: 1. Effects on beef production per hectare // Irish Journal of Agricultural and Food Research. – 2000. – Vol. 39, No. 1. – P. 1-24.
11. Kwiatkowska D. Structural integration at the shoot apical meristem: models, measurements, and experiments // American journal of botany. – 2004. – Vol. 91. – P. 1277-1293.
12. Lia H., Xua L., Wanga H., Yuana Z., Caoc X., Yangd Z., Zhangb D., Xub Y., Huang H. The Putative RNA-Dependent RNA Polymerase RDR6 Acts Synergistically with ASYMMETRIC LEAVES1 and 2 to Repress BREVIPEDICELLUS and MicroRNA165/166 in Arabidopsis Leaf Development // The Plant Cell. – 2005. – Vol. 17. – P. 2157-2171.
13. Moose, S. P., Sisco, P. H. Glossyls controls the epidermal juvenile-to-adult phase transition in maize // The Plant Cell. – 1994. – Vol. 6. – P. 1343-1355.
14. Pien S., Wyrzykowska J., McQueen-Mason S., Smart C., Fleming A. Local expression of expansin induces the entire process of leaf development and modifies leaf shape // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2001. – Vol. 98. – P. 11812-11817.
15. Silsbury J.H. Interrelations in the growth and development of *Lolium*. I. Home effects of vernalization on growth and development // Australian Journal of Agricultural Research. – 1965. – Vol. 6, № 6. – P. 903-913.
16. Sun Y., Zhou Q., Zhang W., Fu Y., Huang H. ASYMMETRIC LEAVES1, an Arabidopsis gene that is involved in the control of cell differentiation in leaves // Planta. – 2002. – Vol. 214. – P. 694-702.
17. Sylvester A.W., Parker-Clark V., Murray G.A. Leaf shape and anatomy as indicators of phase change in the grasses: comparison of maize, rice, and bluegrass // American Journal of Botany. – 2001. – Vol. 88. – P. 2157-2167.
18. Sylvester A.W., Smith L., Freeling M. Acquisition of identity in the developing leaf // Annual Reviews of Cell and Developmental Biology. – 1996. – Vol.12. – P. 257-304.
19. Sylvester A.W., Zacheus W.C., Freeling M. Division and differentiation during normal and *liguleless-1* maize leaf development // Development – 1990. – Vol.110. – P. 985-1000.
20. Turfgrass information file // USGA. – <http://turfweb.lib.msu.edu>, 2007.
21. Trifolium. – www.dif.com, 2007.

Отримано: 10 травня 2008 р.

Прийнято до друку: 12 травня 2008 р.