

ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

Н. И. ЯКУШКИНА

О РОСТОВЫХ ВЕЩЕСТВАХ ПЫЛЬЦЫ РАСТЕНИЙ*(Представлено академиком Д. Н. Прянишниковым 18 XII 1946)*

Первые работы по изучению гормональных свойств пыльцы растений были проведены еще в 1909—1910 гг. Наблюдая цветение орхидей, Фиттинг (1) установил, что целый ряд явлений, происходящих в обычных условиях после опыления, можно вызвать, действуя на рыльце мертвой пыльцой или даже экстрактом из пыльцы. На основании своих опытов Фиттинг пришел к выводу, что пыльца растений содержит особое активное вещество, обладающее свойством гормонов.

В дальнейшем (2,3) удалось получить партенокарпические плоды (без опыления) путем обработки завязей различных растений вытяжками из пыльцы. Сходное с этим действие наблюдалось при обработке завязей синтетическими ростовыми веществами типа ауксина. Лайбах (4) и Тиманн (5) показали, что вытяжки из пыльцы вызывают сильные изгибы колеоптилей, подобные тем, которые вызываются ростовыми веществами. Исходя из всех этих данных, был сделан вывод, что пыльцевой гормон идентичен с гормоном роста.

Другая группа работ относится к стимулированию роста пыльцевых трубок. Было показано (6,7), что рост пыльцевых трубок значительно улучшается при групповом расположении пыльцевых зерен по сравнению с проращиванием одиночного зерна. С другой стороны, рядом работ (8,10) установлено улучшение роста пыльцевых трубок в присутствии синтетических ростовых веществ. Таким образом, здесь опять как бы подтверждается предположение об идентичности пыльцевого гормона с ростовыми веществами.

Однако в 1941 г. появилась работа (11), авторы которой наносили экстракты из пыльцы кукурузы на неповрежденные световые проростки фасоли и получили сильное увеличение длины обработанного междоузлия, тогда как в этих же опытах синтетические ростовые вещества оказали слабое влияние.

Задачей настоящей работы являлось сравнительное изучение действия синтетических ростовых веществ и экстрактов, полученных из пыльцы растений. Нам казалось вполне вероятным, что пыльца, кроме гормонов роста, тождественных с ауксином, содержит еще и другие активные вещества. Для изучения свойств пыльцы нами в 1943 и 1944 гг. было собрано по 300 г пыльцы орешника и сосны. Извлечение активных веществ из пыльцы проводилось по методу Тиманна (5) с некоторыми видоизменениями.

Навеска пыльцы (обычно 1 г) заливалась хлороформом с добавлением нормальной соляной кислоты в количестве 1/10 части по объему хлороформа, тщательно растиралась в ступке, раствор отфильтровывался через воронку с дном из пористого стекла при разрежении. Операция повторялась четыре раза. Затем фильтр переносился в

делительную воронку. Хлороформенный слой отделялся, остаток переносился в чашку, и хлороформ отгонялся на водяной бане. Оставшийся сухой остаток повторно извлекался горячей водой при тщательном растирании стеклянной палочкой. Полученная таким образом водная вытяжка фильтровалась, доводилась до 50 мл и шла для определения содержания гормонов весовым методом, при котором⁽¹²⁾ об активности ростовых веществ судят по количеству поступившей в клетки воды. Поступившая вода учитывалась по приросту в весе

Таблица 1
Определение содержания ростовых веществ
в пыльце орешника весовым методом

Варианты	Прирост в весе в % от исходного
Вода	12,1 ± 2,0
Хлороформенная вытяжка из пыльцы орешника (сбор 1944 г.), 1 г пыльцы в 50 мл	31,9 ± 0,2
То же, сбор 1943 г.	31,1 ± 2,0
То же, 0,1 г пыльцы в 50 мл	16,0 ± 0,1
Гетероауксин, 1 мг/л	35,0 ± 0,5

отрезков стебельков гороха, погруженных в раствор испытуемого вещества. Прирост в весе выражался в процентах от исходной навески стебельков. Результаты определений для пыльцы орешника приведены в табл. 1.

Как видно из табл. 1, хлороформенная вытяжка из пыльцы орешника дает очень высокий процент в весе, что говорит о значительном поступлении воды. Если сравнить приросты в весе, полученные от действия экстрактов из пыльцы и от гетероауксина, то можно рассчитать концентрацию активного вещества в пыльце. Количество активного вещества, содержащееся в 50 мл экстракта из 1 г пыльцы, отвечает примерно активности гетероауксина при содержании его 1 мг/л. Следовательно, 1 г пыльцы орешника должен (судя по его действию) содержать около 0,05 мг гетероауксина, что очень близко совпадает с данными Тиманна для пыльцы секвойи. Хранение пыльцы в течение одного года (ср. в табл. 1 действие пыльцы сбора 1943 и 1944 гг.) не сказалось на степени активности содержащихся в ней ростовых веществ.

Кроме описанного метода экстрагирования, мы применили непосредственное извлечение водой. Однако при этом активность вытяжек сильно снизилась.

Таким образом, применение весового метода к изучению пыльцы показало, что пыльца орешника содержит большое количество (порядка 0,05 мг/г) активного вещества, растворимого в хлороформе и в воде и по своему действию совершенно одинакового с ростовым веществом, в частности с гетероауксином.

Следующим этапом нашей работы было испытание пыльцевых экстрактов по методу, описанному Митчеллом⁽¹¹⁾, при котором испытуемый экстракт смешивается в определенной пропорции с ланолином и полученная паста наносится в количестве около 10 мг на середину 1-го междоузлия 7-дневных проростков фасоли. Проростки выращиваются на ярком солнечном свете. Затем через определенные промежутки времени измеряется длина междоузлия непосредственно линейкой, и по приросту в длину судят об активности испытуемых препаратов.

В наших опытах, проведенных летом 1944 и 1945 гг., мы выращивали фасоль в вегетационном домике в кристаллизаторах на дарниковой земле. Экстрагирование пыльцы проводилось так же, как и в предыдущем исследовании. Полученный после отгонки хлороформа сухой остаток экстракта взвешивался, тщательно перемешивался при нагревании с четверным количеством ланолина. 10 мг полученной пасты наносили тонкой стеклянной палочкой на середину 1-го междоузлия проростков фасоли в виде кольца, стараясь не повредить эпидер-

Таблица 2
Влияние пыльцы и гетероауксина на рост первого междоузлия проростков фасоли

Варианты	Длина 1-го междоузлия до нанесения пасты в мм	Часы после обработки			
		20 час.	43 час.	67 час.	139 час.
Прирост в мм					
Контроль	18,0 ± 2,0	8,1 ± 0,9	11,3 ± 0,8	14,3 ± 1,9	22,3 ± 2,1
Чистый ланолин . .	16,1 ± 0,6	7,0 ± 0,8	10,3 ± 1,0	14,6 ± 0,9	22,0 ± 0,3
Вытяжка из пыльцы	15,7 ± 0,0	11,8 ± 0,5	20,0 ± 0,0	31,4 ± 1,1	42,4 ± 0,6
0,01% гетероауксина	19,2 ± 0,5	11,2 ± 0,8	14,7 ± 0,4	18,1 ± 0,7	22,9 ± 0,9
2% гетероауксина	19,1 ± 0,5	9,4 ± 0,4	12,5 ± 0,5	13,2 ± 0,5	14,2 ± 0,8

миса. Измерения проводились примерно через каждые 24 часа в течение 7 дней. Через 7 дней рост 1-го междоузлия уже прекращался.

Одновременно с испытанием активности пыльцевых вытяжек нами было испытано влияние различных доз гетероауксина, также нанесенного в виде пасты. Для приготовления пасты с различным содержанием гетероауксина последний растворялся в эфире, и рассчитанное количество эфирного раствора смешивалось с определенной навеской ланолина, после чего эфир удалялся на водяной бане.

Опыты проводились в течение 2 лет — 1944 и 1945 гг. — и дали совершенно аналогичные результаты* (табл. 2).

Опыт был поставлен в двух повторностях. В каждом кристаллизаторе было оставлено по 6 опытных растений, так что каждая цифра, приведенная в табл. 2, является средней из 12 измерений. Остановимся вначале на рассмотрении действия гетероауксина.

Как видно из таблицы, действие гетероауксина проявляется только в первые часы после нанесения пасты. Гетероауксин в концентрации 0,01% сильно повышает приросты за первые 20 час. после нанесения пасты — с 7,0 мм в контроле до 11,2 мм. Положительное действие гетероауксина сказывается еще через 67 час., затем приросты уменьшаются, и к концу периода роста междоузлия общий прирост по гетероауксину равен приросту в контроле. Можно было бы считать, что доза в 0,01% слишком мала. Однако более высокие дозы (1 и 2%) оказывали уже угнетающее влияние. Как видно из табл. 2, при нанесении пасты, содержащей 2% гетероауксина, наблюдалось уже явное угнетение (уменьшение приростов) по сравнению с контролем. Конечный прирост составлял лишь 14,2 мм по сравнению с 22 мм в контроле. Замедление роста сопровождалось образованием вздутия на стебельках в месте нанесения пасты. Таким образом, можно сделать вывод, что гетероауксин не оказывает влияния на конечную длину 1-го междоузлия световых проростков фасоли.

Перейдем теперь к рассмотрению результатов, полученных при испытании пыльцы. Нанесение пасты с пыльцой меняет весь ход

* В 1945 г. опыт проводился под моим руководством М. И. Алексакиной.

приростов, причем действие пыльцы с течением времени увеличивается. Через 43 часа прирост по пыльце уже вдвое превышает прирост контрольных междоузлий (20,0 мм против 10,3 мм). Через 139 час. после обработки, когда рост уже закончился, длина междоузлий, обработанных пыльцой, равна 58,1 мм, против 38,1 мм в контроле.

Таблица 3
Влияние смазывания пастой на сухой вес первого междоузлия фасоли

В а р и а н т ы	Сырой вес в мг (одно междоузлие)	Сухой вес в мг (одно междоузлие)	Зола в мг (одно междоузлие)
Контроль (без пасты)	395,0 ± 27,0	33,6 ± 1,0	—
Чистый ланолин	360,8 ± 26,0	33,7 ± 0,5	5,26
Вытяжка из пыльцы орешника	515,0 ± 60,0	51,4 ± 0,3	8,80 ± 0,18
0,01% гетероауксина	386,3 ± 6,4	34,2 ± 0,3	6,80 ± 0,3

Таким образом, влияние гетероауксина совершенно несравнимо с влиянием пыльцы.

Под влиянием вытяжки из пыльцы не только увеличивается длина междоузлий, но возрастает их сухой вес. Приведу данные определения сухого вещества и золы в первом междоузлии проростков фасоли (табл. 3).

Каждая цифра является средней из 2 навесок по 4 междоузлия в каждой. Как видно из табл. 3, гетероауксин оказывает очень слабое влияние на сухой вес. Смазывание же пастой с пыльцой резко повышает сухой вес (с 38,6 до 51,4 мг) и значительно увеличивает содержание золы. Очевидно, под влиянием вытяжек из пыльцы происходит приток пластических и зольных веществ к месту нанесения пасты.

Сейчас еще трудно сказать, в чем причина такого различного действия вытяжек из пыльцы и синтетического ростового вещества (гетероауксина). Можно было предположить, что действие гетероауксина (ясно видимое вначале) прекращается потому, что гетероауксин подвергается разрушению, в то время как пыльца отдает свое активное вещество постепенно в течение всего периода роста. Такому объяснению противоречит, однако, угнетающее влияние повышенных доз гетероауксина, проявляющееся притом особенно сильно в конце периода роста. Наиболее вероятным нам кажется предположение, что пыльца, кроме ростового вещества типа ауксина, высокое содержание которого показано нами с помощью весового метода, содержит еще другой гормон, ускоряющий рост световых проростков фасоли.

В заключение считаю своим долгом выразить благодарность профессору Е. В. Бобко и профессору А. А. Шмуку, под руководством которых проводилась эта работа.

Поступило
18 XII 1946

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ H. Fitting, Z. Bot., 2, 225 (1910). ² Jasuda, Agricult. and Horticult., 9, 677 (1934). ³ F. Gustafson, Am. J. Bot., 24, No. 2 (1937). ⁴ P. Laibach, Ber. d. bot. Ges., 50, 383 (1932). ⁵ K. Thimann, J. gen. Physiol., 18, No. 1, 23 (1934). ⁶ R. A. Brink, Am. J. Bot., 9, 417 (1924). ⁷ Sawelli, C. R., 210, 705 (1920). ⁸ М. Слудская, Докл. АН УССР, № 2 (1940). ⁹ F. Addicot, Plant. Physiol., 18, No. 2, 270 (1943). ¹⁰ P. Smith, Am. J. Bot., 29, No. 1, 56 (1942). ¹¹ J. Mitchell and M. Whithead, Bot. Gas., 102, No. 4, 770 (1941). ¹² Е. В. Бобко и Н. И. Якушкина, ДАН, 48, № 2 (1945).