

УДК 581.143.28:58.036

РОЛЬ ФИТОХРОМА В ПРОЦЕССАХ ОРГАНООБРАЗОВАНИЯ У *CUCUMIS SATIVUS* L.

© 2013 г. М. И. Сысоева, Е. Ф. Марковская*

Институт биологии Карельского научного центра РАН

185910 Петрозаводск, ул. Пушкинская, д. 11

* Петрозаводский государственный университет

185910 Петрозаводск, пр. Ленина, д. 33

E-mail: sysoeva@krc.karelia.ru

Поступила в редакцию 07.09.12 г.

Окончательный вариант получен 19.11.12 г.

Изучено участие фитохрома В в процессах органогенеза в апикальных и пазушных меристемах побега на ранних этапах онтогенеза огурца *Cucumis sativus* L. при фотопериодах (день/ночь) 10/14, 16/8 ч и круглосуточном освещении на основании сопоставления растений дикого типа и фитохром В-дефицитного мутанта (*lh*-мутант). Показано, что у мутанта дефицит фитохрома В вызывал ингибирование заложения листьев как на главном, так и на боковых побегах растения и способствовал увеличению числа зачатков цветов (IV этап органогенеза). В условиях круглосуточного освещения у растений дикого типа отмечено двухкратное по сравнению с мутантом увеличение числа боковых побегов и цветков на IV этапе органогенеза. Кратковременная низкотемпературная обработка мутантов не индуцировала флоральный органогенез, но увеличивала число боковых побегов в обоих вариантах опыта при длинном фотопериоде и круглосуточном освещении. Высказана гипотеза, что фитохром В, через увеличение компактности хроматина, может способствовать согласованию процессов развития с изменениями условий окружающей среды.

Ключевые слова: *Cucumis sativus* L., *lh*-мутант, дикий тип, кратковременные снижения температуры, круглосуточное освещение, фотопериод, органогенез, боковые побеги, зачатки цветков.

DOI: 10.7868/S0475145013030099

Растения, как организмы, ведущие прикрепленный образ жизни, вынуждены согласовывать свой рост и развитие с постоянно изменяющимися условиями окружающей среды, среди которых наиболее важными являются свет и температура. Предполагается, что действие этих факторов связано сигнальными путями, и различные реакции растения (регуляция прорастания и цветения, формирование габитуса, повышение морозостойчивости растений и др.) могут контролироваться этим взаимодействием (Halliday et al., 2003; Franklin, 2009; Franklin, Quail, 2010).

Растения воспринимают световые сигналы фоторецепторами – системой фитохромов. Установлено, что фитохромные фотопревращения являются температурно-зависимыми (Borthwick et al., 1952; Halliday et al., 2003), в связи с чем их рассматривают как кандидатов на роль и температурных сенсоров (Kim et al., 2002; Franklin, 2009). Известно, что фитохромы участвуют в согласовании он-

тогенетических программ с изменяющимися условиями среды (Halliday et al., 2003). В частности, показано, что фитохром В участвует в регуляции термоморфогенетических реакций на действие переменных суточных температур (Sysoeva et al., 2008; Thingnaes et al., 2008; Xiong et al., 2011), роста листьев, наступления цветения (Halliday et al., 1994; Devlin et al., 1996), в процессах закаливания и раззакаливания растений (Сысоева и др., 2013). Значительно меньше внимание уделяется изучению роли фитохрома В в процессах вегетативного органогенеза у растений на ранних этапах онтогенеза, что и явилось целью настоящей работы.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Опыты проводили на растениях огурца (*Cucumis sativus* L.) изогенного дикого типа и мутанте, дефицитном по фитохрому В (*lh*-мутант). Мутант (*lh*) огурца (с длинным гипокотилем) был получен в лаборатории генетики университета Вагенингена

(Нидерланды) (Adamse et al., 1987) и охарактеризован как дефицитный по фитохрому В, содержащий по сравнению с диким типом менее 1% генетических продуктов фитохрома В (López-Juez et al., 1992).

Семена огурца дикого типа и *lh*-мутанта проращивали двое суток в термостате при температуре 28°C, высаживали в вазоны с песком (полив питательным раствором Кнопа с добавлением микроэлементов, рН 6.2–6.4) и помещали в камеры искусственного климата с относительной влажностью воздуха 60–70%, интенсивностью света 100 Вт/м² (освещение лампами ДРЛ-400) и фотопериодами (день/ночь) 10/14, 16/8 ч или с круглосуточным освещением. До начала эксперимента растения выращивали при 30°C до выноса семядолей и при 23°C до полного их раскрытия, а затем в течение 6 суток подвергали кратковременным низкотемпературным обработкам (DROP), снижая температуру воздуха с 20 до 12°C на 2 ч ежедневно путем перестановки растений между камерами. В условиях фотопериодов 10/14 и 16/8 ч кратковременное снижение температуры проводили в конце ночного периода, при круглосуточном освещении – в конце 24-часового цикла. Растения контрольного варианта выращивали при температуре 20°C на протяжении всего эксперимента. К концу опыта растения находились в фазе 1-го настоящего листа.

Морфофизиологический анализ проводили на фиксированных в 50%-ном этиловом спирте препаратах с использованием бинокулярной лупы МБС-9 (Россия) по методике Куперман (1984). Определяли число листовых примордиев на главном и боковых побегах, число боковых побегов, зачатков цветков по этапам органогенеза. Все показатели рассчитывали на одно растение. Всего было проведено два независимых опыта в 15-кратной биологической повторности. Данные обрабатывали методами математической статистики с использованием пакета программ Statgraphics. На рисунках приводятся средние по двум независимым опытам и их стандартные ошибки ($P \leq 0.05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ

В условиях всех изученных фотопериодов число листьев, заложенных в терминальной меристеме у *C. sativus* L. дикого типа было больше, чем у фитохром В дефицитного мутанта (рисунок, а–в). Особо ярко это проявилось при круглосуточном освещении, когда в терминальной меристеме растений дикого типа было заложено в 2 раза больше листьев, чем у *lh*-мутанта (рисунок, в). DROP не оказывал влияния на закладку листьев в терминальной меристеме как у дикого типа, так и у мутанта.

Число боковых побегов у растений дикого типа и *lh*-мутанта при фотопериодах 10/14 и 16/8 ч было одинаковым (рисунок, г, д), а при круглосуточном

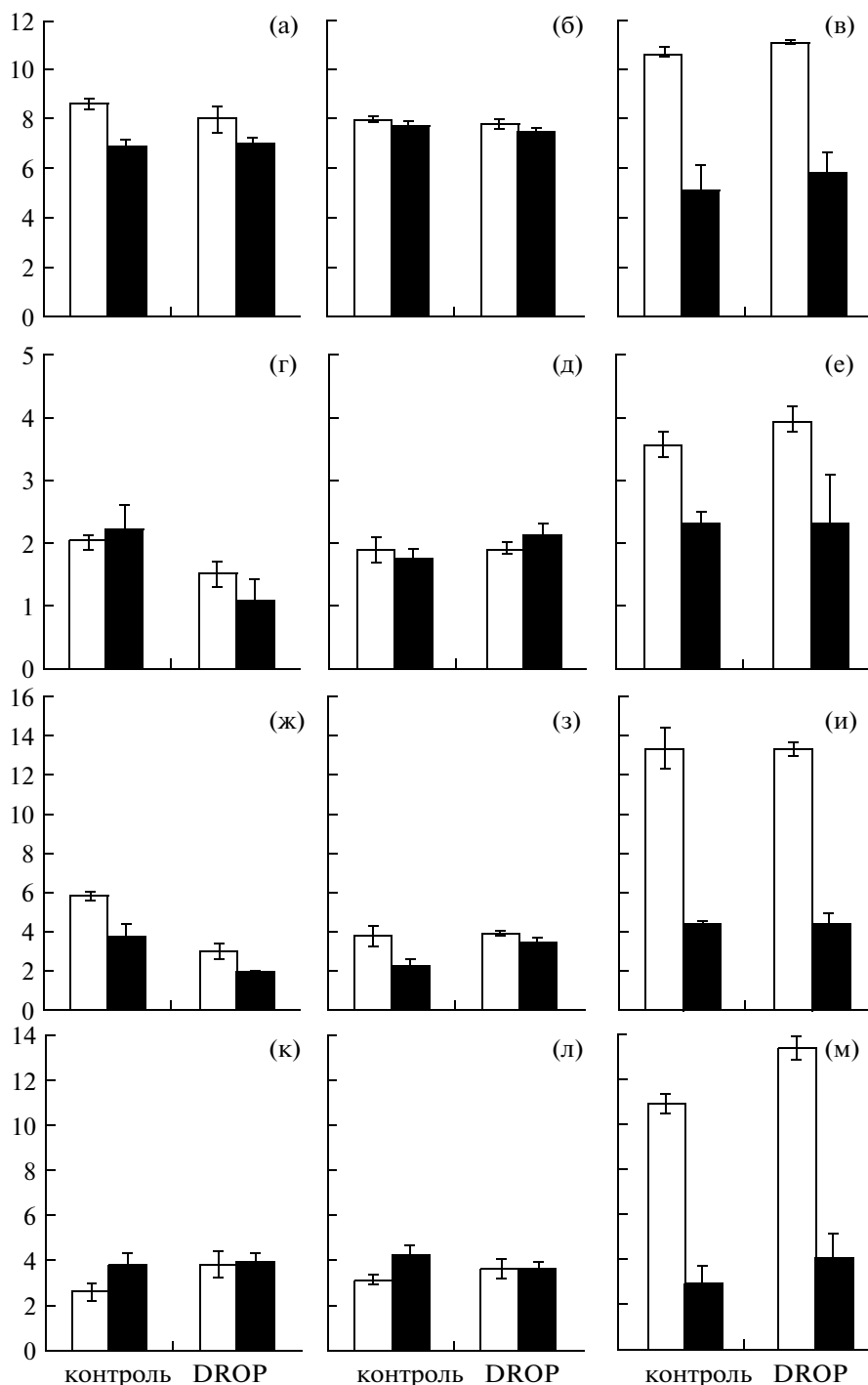
освещении отмечено двукратное увеличение данного показателя у дикого типа по сравнению с *lh*-мутантом (рисунок, е). DROP не влиял на закладку боковых побегов у растений огурца дикого типа и вызвали снижение или увеличение этого показателя у мутантных растений в условиях короткого и длинного фотопериодов, соответственно (рисунок, г, д).

Число листьев на одном боковом побеге у растений огурца дикого типа было больше, чем у *lh*-мутанта при всех изученных фотопериодах, особенно при круглосуточном освещении (рисунок, ж–и). DROP не оказывал влияния на число листьев на боковых побегах у дикого типа и мутанта при круглосуточном освещении, снизил его значение при фотопериоде 10/14 ч и стимулировал – у мутантов при фотопериоде 16/8 ч.

Число зачатков цветков на IV этапе органогенеза при фотопериодах 10/14 и 16/8 ч оказалось больше у мутанта, чем у дикого типа (рисунок, к, л), а при круглосуточном освещении оно снижалось в обоих вариантах опыта (рисунок, м). Ежедневные 2-часовые снижения температуры увеличили число зачатков цветков у дикого типа, но не оказали существенного влияния на флоральный органогенез у мутантных растений.

ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные результаты дают основание предположить участие фитохрома В в органогенезе в условиях разных фотопериодов. Установлено, что при коротком (10/14 ч) и длинном (16/8 ч) фотопериодах фитохром В оказывает различное действие в зависимости от исследуемого показателя органогенеза. Так, дефицит фитохрома В вызывал ингибирование в заложении листьев как на главном, так и на боковых побегах растения. Ранее в литературе отмечалось значительное снижение скорости образования розеточных листьев у фитохром В дефицитного мутанта арабидопсиса (Halliday et al., 2003). Нами впервые показан эффект замедления процесса органогенеза (по скорости развития боковых побегов) у фитохром В-дефицитного мутанта. Отсутствие ингибирующего эффекта по скорости развития главного побега растений дикого типа и мутанта может быть связано с кратковременной (2 ч) продолжительностью этого воздействия, что согласуется с ранее полученными результатами (Сысоева и др., 2007). Однако такие краткосрочные низкотемпературные обработки привели к увеличению числа листьев на побеге при длинном фотопериоде и уменьшению у растений, выращенных на коротком дне. Дефицит фитохрома В не оказал влияния на закладку боковых побегов в условиях обоих фотопериодов, что может лимитироваться условиями освещенности. Известно, что фитохром В и интенсивность света



Влияние ежесуточных кратковременных снижений температуры (DROP) на процессы органогенеза апикальных меристем у растений огурца дикого типа (□) и дефицитного по фитохрому В мутанта (■) в условиях разных фотопериодов. По оси абсцисс – вариант опыта; по оси ординат – число: а–в – листьев на главном побеге; г–е – боковых побегов; ж–и – листьев на одном боковом побеге; к–м – цветков на IV этапе органогенеза. Фотопериоды (день/ночь), ч: 10/14 (а, г, ж, к) 16/8 (б, д, з, л), 24/0 (в, е, и, м).

взаимодействуют в регуляции бокового ветвления у арабидопсиса (Su et al., 2011). Кратковременные снижения температуры вызвали усиление бокового ветвления как у дикого типа, так и у *lh*-мутанта в условиях длинного фотопериода или при кругло-

суточном освещении. Ранее данный эффект отмечался нами для растений огурца (гибрид Зозуля) (Сысоева и др., 2007).

Известно, что фитохром В-дефицитные мутанты являются раннецветущими (Halliday et al.,

2003). Последнее подтверждают и полученные нами в настоящем исследовании данные. В частности, установлено, что у *lh*-мутанта при всех фотопериодах закладывалось больше цветков (IV этап органогенеза), чем у растений дикого типа. Однако у растений, которые были обработаны DROP, данный эффект отсутствовал. Последнее может свидетельствовать об участии фитохрома В в температурном пути регуляции цветения растений. Недавними исследованиями установлено, что ген PIF4 (PHYTOCHROME INTERACTING FACTOR) усиливает цветение растений при определенной температуре (Kumar et al., 2012).

В условиях отсутствия ритмической смены дня и ночи у дефицитных по фитохрому В мутантов огурца выявлено значительное снижение органообразовательной деятельности меристематической ткани, что свидетельствует о большой роли фитохрома В в процессах развития при непрерывном освещении. Кроме того в условиях круглосуточного фотопериода кратковременные низкотемпературные обработки увеличивали число боковых побегов и цветков на IV этапе органогенеза у растений огурца дикого типа, что согласуется с данными, полученными нами ранее на растениях огурца (гибрид Зозуля) (Сысоева и др., 2007), но не влияли на органообразовательную активность у мутантных растений.

Таким образом, полученные результаты дают основание предполагать, что в условиях круглосуточного освещения фитохром В может выполнять роль координатора процессов органообразования в соответствии с изменяющимися условиями среды. Одним из возможных участников согласования процессов органообразования и флуктуирующих факторов среды может быть реорганизация хроматина и, в частности, изменение его компактности (Fisher, Franklin, 2011). Известно, что мутанты по фитохрому В имеют меньшую компактность хроматина (Tessadori et al., 2009), чем растения дикого типа, а сам хроматин играет важную роль в регуляции активности меристемы (Jarillo et al., 2009), участвуя в контроле экспрессии генов как в активно делящихся недифференцированных, так и в дифференцированных клетках (Jarillo et al., 2009). Причем, в отличие от животных, у которых эпигенетический контроль развития ограничивается периодом эмбриогенеза, у растений эпигенетические механизмы работают в течение всего постэмбрионального периода развития пока активна меристема (Henderson, Jacobsen, 2007). Вероятно, фитохром В, вызывая повышение компактности хроматина, способствует согласованию процессов развития с изменяющимися факторами среды.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ (№ 10-04-0097_a).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Куперман Ф.М. Морфофизиология растений. М.: Наука, 1984. 239 с.
- Сысоева М.И., Слободяник И.И., Шерудило Е.Г., Василевская Н.В. Влияние ежесуточных кратковременных снижений температуры на процессы органообразования у *Cucumis sativus* L. в условиях разных фотопериодов // Известия РАН. Сер. Биологическая. 2007. № 6. С. 765–767.
- Сысоева М.И., Марковская Е.Ф., Шерудило Е.Г. Роль фитохрома В в холодовом закаливании и раззакаливании растений огурца на свету и в темноте // Физиол. раст. 2013 (в печати).
- Adamse P., Jaspers P.A.P.M., Bakker J.A., Kendrick R.E., Koornneef M. Photophysiology and phytochrome content of long-hypocotyl mutant and wild-type cucumber seedlings // Plant Physiol. 1988. V. 87. P. 264–268.
- Borthwick H.A., Hendriks S.B., Parker M.V. et al. Reversible photoreaction controlling seed germination // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1952. V. 38. P. 662–666.
- Devlin P.F., Halliday K.J., Harberd N.P., Whitelam G.C. The rosette habit of *Arabidopsis thaliana* is dependent upon phytochrome action: novel phytochromes control internode elongation and flowering time // Plant J. 1996. V. 10. P. 1127–1134.
- Fisher A.J., Franklin K.A. Chromatin remodeling in plant signaling // Physiol. Plant. 2011. V. 142. P. 305–313.
- Franklin K.A. Light and temperature signal crosstalk in plant development // Cur. Opin. Plant Biol. 2009. V. 12. P. 63–68.
- Franklin K.A., Quail P.H. Phytochrome functions in *Arabidopsis* development // J. Exp. Bot. 2010. V. 61. P. 11–24.
- Halliday K.J., Koornneef M., Whitelam G.C. Phytochrome B and at least one other phytochrome mediate the accelerated flowering response of *Arabidopsis thaliana* L. to low Red/Far-Red ratio // Plant Physiol. 1994. V. 4. P. 1311–1315.
- Halliday K.J., Salter M.G., Thingnaes E., Whitelam G.C. Phytochrome control of flowering is temperature sensitive and correlates with expression of the floral integrator *FT* // Plant J. 2003. V. 33. P. 875–885.
- Henderson I.R., Jacobsen S.E. Epigenetic inheritance in plants // Nature. 2007. V. 24. P. 418–424.
- Jarillo J.A., Pineiro M., Cubas P., Martinez-Zapater J.M. Chromatin remodeling in plant development // Intern. J. Devel. Biol. 2009. V. 53. P. 1581–1596.
- Kim H.-J., Kim Y.-K., Park J.-Y., Kim J. Light signaling mediated by phytochrome plays an important role in cold-induced gene expression through the C-Repeat/Dehydration Responsive Element (C/DRE) in *Arabidopsis thaliana* // Plant J. 2002. V. 229. P. 693–704.
- Kumar S.V., Lucyshyn D., Jaeger K.E. et al. Transcription factor PIF4 controls the thermosensory activation of flowering // Nature. 2012. V. 484. P. 242–245.
- López-Juez E., Nagatani A., Tomizawa K.-I. et al. The cucumber long hypocotyle mutant lack a light-stable PHYB-like phytochrome // Plant Cell. 1992. V. 4. P. 241–251.
- Su H., Abernathy S.D., White R.H., Finlayson S.A. Photosynthetic photon flux density and phytochrome B inter-

- act to regulate branching in *Arabidopsis* // *Plant, Cell Env.* 2011. V. 34. P. 1986–1998.
- Sysoeva M.I., Grete G., Patil, Sherudilo E.G., Sissel Torre, Markovskaya E.F., Roar Moe. Effect of temperature drop and photoperiod on cold resistance in young cucumber plants – involvement of phytochrome B // *Plant Stress*. 2008. V. 2. № 1. P. 84–88.
- Tessadori F., Zanten M., Pavlova P. et al. *Phytochrome B* and *histone deacetylase 6* control light-induced chromatin compaction in *Arabidopsis thaliana* // *PLoS Genet.* 2009. V. 5. P. 1–13.
- Thingnaes E., Torre S., Moe R. The role of phytochrome B, D and E in thermoperiodic responses of *Arabidopsis thaliana* // *Plant Growth Regul.* 2008. V. 56. P. 53–59.
- Xiong J., Grindal Patil G., Moe R., Torre S. Effects of diurnal temperature alternations and light quality on growth, morphogenesis and carbohydrate content of *Cucumis sativus* L. // *Sci. Hort.* 2011. V. 128. P. 54–60.

Role of Phytochrome in Organ Formation Processes in *Cucumis sativus* L.

M. I. Sysoeva^a and E. F. Markovskaya^b

^a *Institute of Biology, Karelian Research Center, Russian Academy of Sciences, ul. Pushkinskaya 11, Petrozavodsk, 185910 Russia*

e-mail: sysoeva@krc.karelia.ru

^b *Petrozavodsk State University, pr. Lenina 33, Petrozavodsk, 185910 Russia*

Abstract—The role of phytochrome B in the organogenesis process in the apical and axillary shoot meristems during early ontogenesis stages in cucumber *Cucumis sativus* L. at photoperiods (day/night) 10/14, 16/8 h, and continuous light in comparison with wild type plants and phytochrome B-deficient mutant (*lh*-mutant) was investigated. In mutant phytochrome B, deficiency caused inhibition of initiation of leaves both in the leading shoot and off-shoots and increased the number of flower buds (IV stage of organogenesis). With continuous light, the number of off-shoots and flowers during stage IV of organogenesis in wild-type plants increased twofold in comparison with the mutant. Short-term temperature drops did not induce floral ontogenesis in mutants but increased the number of off-shoots in both experimental variants during a long photoperiod and continuous light situations. We propose that phytochrome B, by increasing the compactness of chromatin, may facilitate coordination of ontogenesis processes with changing environmental conditions.

Keywords: *Cucumis sativus* L., *lh*-mutant, wild type, short-term temperature drop, continuous light, photoperiod, organogenesis, off-shoots, flower buds.