

Московская школа на Юго-Западе № 1543

Изменение ориентации относительно земли соцветия *Lupinus polyphyllus* (Fabaceae) в зависимости от наличия верхушки соцветия

Выполнили учащиеся 9 «Б» класса:

Алексей Альбертович Медведев

Елизавета Сергеевна Радциг

Денис Вадимович Ерёмин

Ева Александровна Чапоргина

Научные руководители:

Надежда Сергеевна Глаголева

Полина Андреевна Волкова

Москва

2022

Введение

В природе растения получают повреждения, часто влекущие за собой изменение ориентации соцветия. Восстановить ориентацию важно, поскольку это влияет на успех опыления (Armbruster, Muchhala, 2020).

Изменение положения колеоптиля (первый после семядоли лист злаков) и то, что на это влияет апекс, было подробно изучено ещё Дарвином (Алехина и др., 2005). То, за счёт чего колеоптиль изменяет своё первоначальное положение, поняли уже впоследствии: апикальная часть колеоптиля выделяет ауксин (стимулирует рост побегов растений по направлению к источнику света – фототропизм), ауксин перемещается под воздействием света в затемнённые участки, вызывая растяжение клеток эпидермиса в местах большей концентрации гормона и, как следствие, рост к свету. При отрезании его апикальной части колеоптиль теряет способность к фототропизму (Christie, Murphy, 2013).

Единственное широкомасштабное исследование восстановления ориентации цветов разных групп растений провели в 2020 году (Armbruster, Muchhala, 2020). На основе наблюдений в разных местах Земного шара было выделено несколько типов восстановления ориентации после изгиба соцветия:

- 1) загибание всего соцветия (и впоследствии выросшей части, и старой) чаще всего происходит до полного восстановления исходной ориентации (у *Dactylorhiza fuchsii*, *Pelargonium* spp.). Но иногда происходит загибание соцветия за счёт последующего роста (загибается выросшая часть, а старая остаётся неизменной), а параллельно с этим идёт изгибание и/или поворот цветоножек отдельных цветов и/или пестиков и тычинок (у *Stylidium* spp., *Chamerion angustifolium*, *Aconitum delphinifolium*, *Delphinium glaucum*).
- 2) поворот цветоножки цветка (или её изгибание). Выделяются две подгруппы: 1) Когда цветоножка цветка много изгибалась и чуть-чуть поворачивалась (у *A. delphinifolium*, *Delphinium glaucum*, *Tricyrtis formosana*, *Salvia* sp., *Burmeistera sodiroana*, *Centropogon nigricans*, *Impatiens* sp.). 2) Когда цветоножка цветка поворачивалась и иногда немного изгибалась (у *Stylidium* sp., *Nemesia* sp., *Diascia* sp.).
- 3) поворот и изгибание пестиков и тычинок наблюдались только у одного вида из всех изученных (*Chamerion angustifolium*).

Завершалось восстановление ориентации соцветия за 1-2 дня у *Dactylorhiza fuchsii* и за 1-2.5 дня у *Pelargonium* sp. У *Stylidium* sp. за 3-4 дня загибался кончик соцветия.

Логично предположить, что ауксин играет ключевую роль в восстановлении ориентации не только колеоптиля, но и соцветия. Кроме апекса, ауксин также может выделяться и цветочными почками, при этом чем моложе цветы, тем больше они выделяют ауксина (Алехина и др., 2005). Следовательно, мы решили проверить, влияет ли длина отрезанной части соцветия на степень восстановления его ориентации, потому что ауксин может находиться в соцветии не только в апикальной меристеме. В качестве модельного объекта мы решили взять *Lupinus polyphyllus* Lindl. (Fabaceae), потому что цветки собраны в крупные соцветия, с которыми удобно проводить манипуляции.

Цель работы:

Узнать, как восстанавливают свою ориентацию относительно земли соцветия *Lupinus polyphyllus* в зависимости от наличия и длины верхушки соцветия.

Задачи:

- 1) Узнать, как восстанавливают свою ориентацию относительно земли обычные соцветия (контроль).
- 2) Узнать, как восстанавливают свою ориентацию относительно земли соцветия без апикальной меристемы.
- 3) Узнать, как восстанавливают свою ориентацию относительно земли соцветия без верхних 10 сантиметров.

Материалы и методы

Все полевые работы мы проводили с 30 июня по 4 июля 2022 года в Ярославской области, Некоузском районе, близ стационара “Сунога” (2 км южнее посёлка городского типа Борок).

Мы поделили все свои цветы на 3 группы. Первая – группа контроль. Вторая – группа без апикальной меристемы (у этих цветов мы отрезали 1 см от верхушки). Третья – группа без 10 см от верхушки соцветия (приложение 2). Всего в каждой группе было по 35 растений.

Мы ставили и фотографировали цветы партиями по 15 штук утром и вечером. В каждую партию мы включили по 5 цветов из каждой группы. Утро – начало установки в 11:00, окончание в 13:20; вечер – начало в 18:30, окончание в 20:45 (табл. 1).

	30.06 утро	30.06 вечер	01.07 утро	01.07 вечер	02.07 утро	02.07 вечер	03.07 утро	03.07 вечер	04.07 утро	05.07
1 партия	■	■	■							■
2 партия		■	■	■						■
3 партия			■	■	■					■
4 партия				■	■	■				■
5 партия					■	■	■			■
6 партия						■	■	■		■
7 партия							■	■	■	■

Таблица 1. Время постановки и фотографирования всех партий. Красным закрашены ячейки напротив соответствующей группы, которая была сфотографирована в указанное время.

Мы отмечали точками в таблице те цветы, которые сломались спустя некоторое время после постановки, но мы продолжали их фотографировать впоследствии, если цветы после этого не погибали, и это не мешало им загибаться.

Те цветы, которые сломались в процессе постановки или после нее и погибли, мы отбраковывали.

Мы действовали по следующему протоколу:

1. Выбираем люпин и даём ему порядковый номер из одной из групп соответственно.
2. Фотографируем табличку с порядковым номером.
3. Фотографируем в исходном состоянии (помещаем палетку за люпин, выравниваем её по уровню, фотографируем люпин камерой телефона на расстоянии 40 см то него) (рис. 1) (после этого отрезаем нужную длину от верхушки, если это растение 2 или 3 группы).
4. Подвязываем люпин (берём люпин и аккуратно сгибаем его, чтобы всё соцветие целиком было под углом 90 градусов к земле, привязываем один конец шнура за 5-10 см от начала соцветия, а второй - к колышку и втыкаем этот колышек в землю) (рис. 2).
5. Затем один человек держит за растением палетку либо так, чтобы стебель растения шёл по одной из горизонтальных линий палетки (так были сделаны 1, 2 и 3 серии фото 1 группы и 1 серия второй группы) либо выравнивая палетку по уровню (при фотографировании 4 серии первой группы и 2 серии второй группы). Другой человек должен взять линейку и отмерить расстояние от растения длиной в 40 см и поставить колышек с приклеенной табличкой с номером так, чтобы номер смотрел от цветка и табличка была параллельно загнутому стеблю растения, после чего этот другой человек берет камеру (телефон) и фотографирует цветок на фоне палетки. Телефон выравнивался по уровню, его длинная ось шла параллельно стеблю растения (лучше выравнивать по уровню палетку, чтобы горизонтали были горизонтальными, но мы сразу не сообразили).
6. Сделать фотографии номеров и лежащих растений на фоне палетки повторно через определённый интервал времени (время фотографирования – табл. 1).

Впоследствии мы измеряли длину всего соцветия и длину его загнутой части на каждой из фотографий в программе «ImageJ» (рис. 3).

Все статистические тесты и графические построения были сделаны в среде «R» (Core Team, 2020. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. [URL: <https://www.R-project.org/>].).

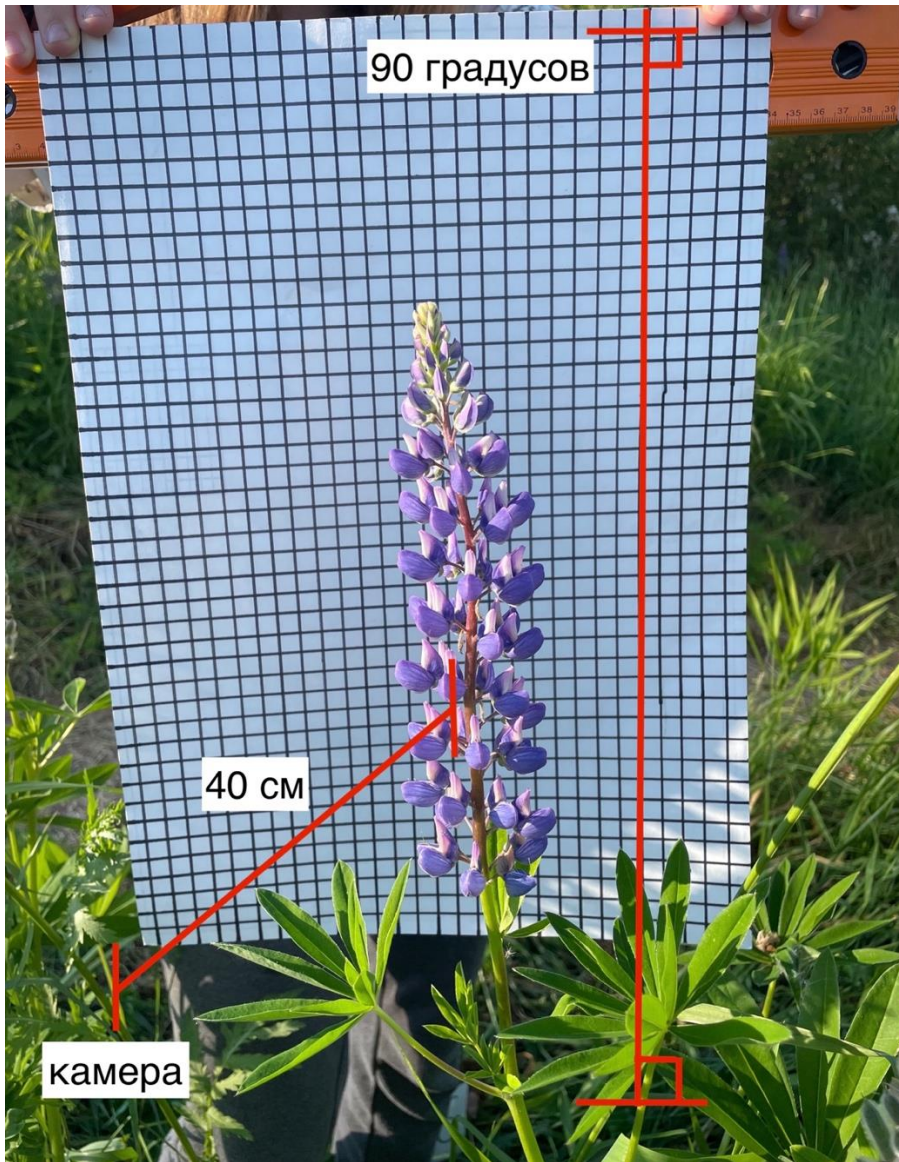


Рис. 1. Люпин в исходном состоянии.

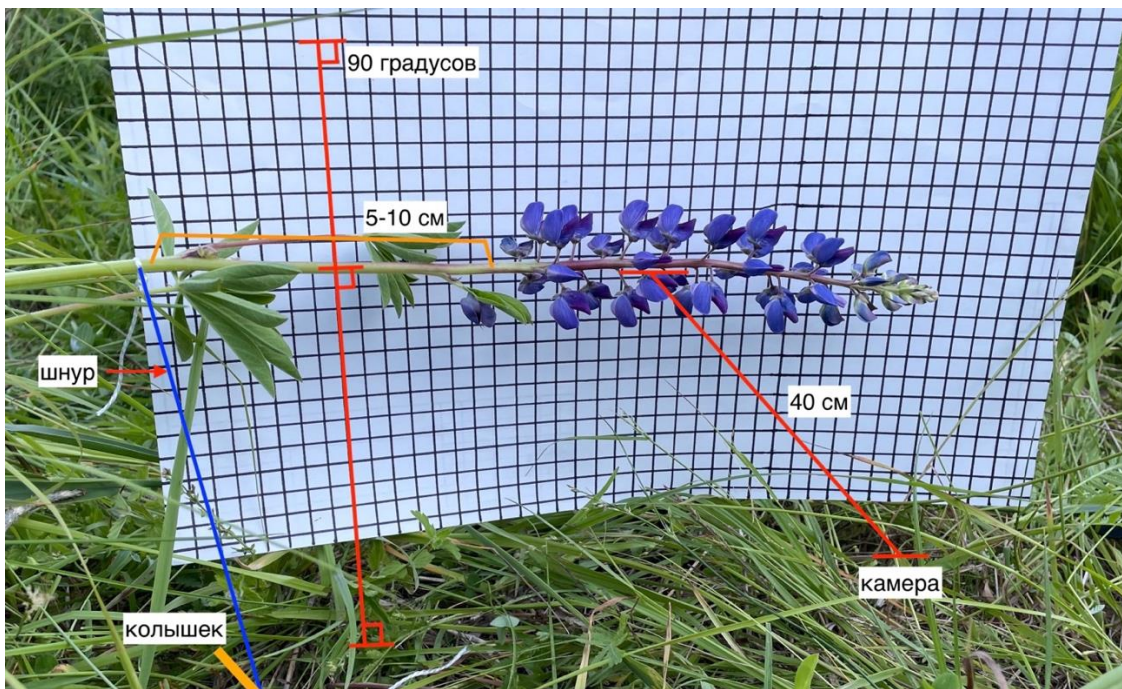


Рис. 2. Люпин в подвязанном состоянии сразу после постановки.

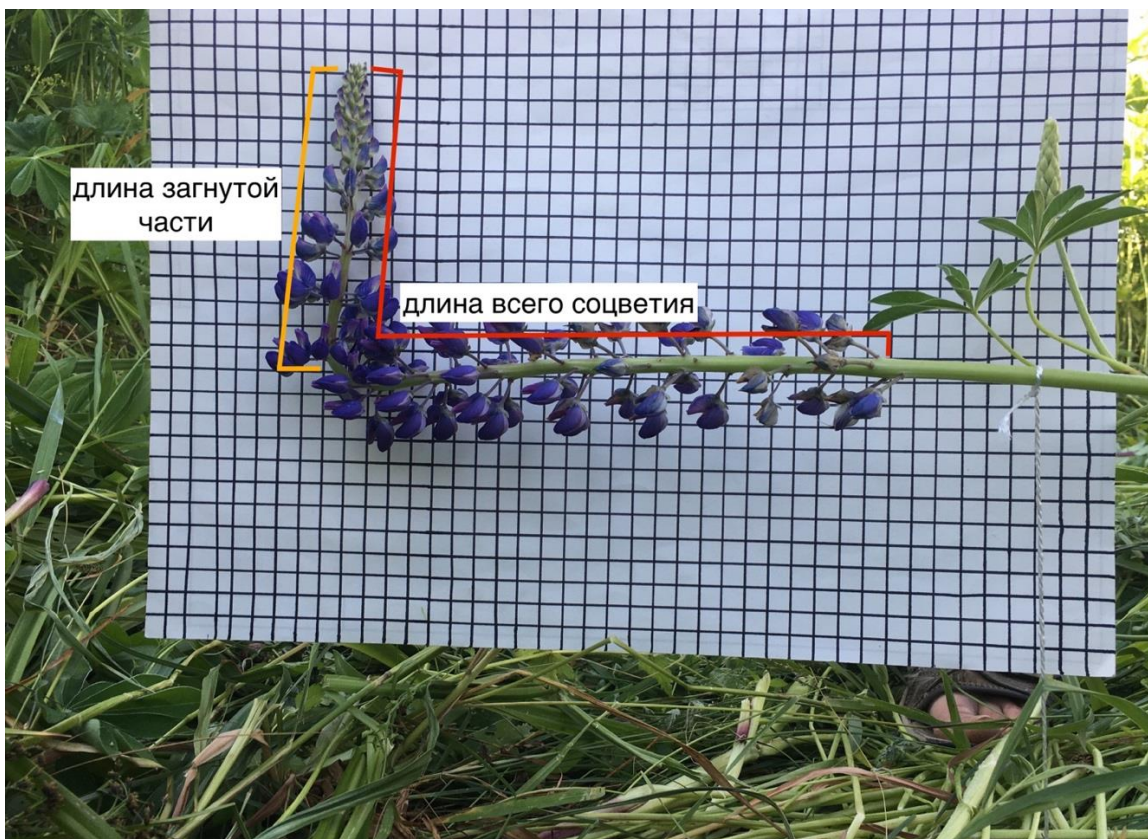


Рис. 3. Люпин в подвязанном состоянии по прошествии некоторого времени.

Результаты

В качестве результатов мы получили около 2000 фотографий растений. Мы построили графики динамики восстановления ориентации соцветия с течением времени для каждого исследованного нами растения (приложение 1).

Группа контроль.

Общее для всей группы: за время, прошедшее от постановки до первого после постановки наблюдения (5 – 17 часов), длина загнутой части соцветия составила 20 – 100%, после этого наблюдения соцветия изменяли свою ориентацию не более, чем на 10%.

Внутри группы контроль мы выделили следующие подгруппы:

- 1) три соцветия за все время наблюдений загнулись на 100% и четыре соцветия 80 – 95%. У этих растений за все время наблюдений не было цветов с завядшим венчиком.
- 2) большинство соцветий загнулось на 40 – 60%. У этих растений в начале все цветы были молодые, но за 16 – 23 часа некоторые из них завяли.
- 3) три соцветия загнулись на 20%. У них в начале уже были цветки с завядшим венчиком, а в конце – созрели бобы.
- 4) было также четыре растения, соцветия которых за время после первого наблюдения загнулись более, чем на 20%. Такие соцветия за 6 часов (до первого наблюдения) изменили ориентацию относительно оси стебля, но оставались параллельны земле (загнулись вбок). Из-за этого могли возникать погрешности в измерении длины загнутой части соцветия, поэтому данные об этих растениях недостоверны.

Группа без апикальной меристемы.

Общее для всей группы: за время, прошедшее от постановки до первого наблюдения (5 – 15 часов) длина загнутой части соцветия составила 20 – 100%, после первого наблюдения соцветия изменяли свою ориентацию не более, чем на 15%.

Внутри группы без апикальной меристемы мы выделили следующие подгруппы:

- 1) семь соцветий загнулись на 100%, и ещё семь – на 70 – 90%. У всех них не было отцветших цветков.
- 2) три соцветия загнулись на 70 – 90%. У двух из них к последнему наблюдению некоторые цветы отцвели.
- 3) десять соцветий загнулись на 40 – 60%. У всех соцветия с отцветшим венчиком, а у двух даже появились бобы.
- 4) одно соцветие за 15 часов загнулось на 30%, а к третьему наблюдению ещё загнулось на несколько процентов. Большая часть цветков отцвела.

- 5) два соцветия загнулись на 25 – 30%. У одного из них отцветших цветов нет вообще, а у другого большая часть цветков отцвела.
- 6) ещё два соцветия загнулись на 10 – 20 %. Соцветия содержат большое кол-во отцветших цветков, большая часть из которых стала бобами.
- 7) одно соцветие погибло сразу же. Процесс восстановления ориентации нельзя отследить для двух соцветий из-за недостаточного числа наблюдений.

Группа без 10 см.

Общее для всей группы: за все время опыта почти половина соцветий вообще не изменили ориентацию (загнулись на 0%), остальные погибали на 20 – 100% процентов за разные промежутки времени.

Внутри группы без 10 сантиметров мы выделили следующие подгруппы:

- 1) Одиннадцать соцветий в основном загнулись за время, прошедшее от постановки до первого наблюдения (5 – 17 часов), и после первого наблюдения они изменяли свою ориентацию не более, чем на 10%.
Из них одно соцветие загнулось на 100%, одно соцветие загнулось на 33% через 16 часов после начала эксперимента, но затем разогнулось до 0%, три соцветия загнулись на 20 – 40%. У трёх к последнему наблюдению не было засохших цветков.
Еще шесть соцветий загнулись на 1 – 20%. На одном из этих соцветий часть цветков засохла уже ко второму наблюдению, на трёх из этих соцветий часть цветков засохла к последнему наблюдению.
- 2) восемь соцветий загнулись за время, прошедшее от постановки до второго наблюдения (23 часа) на 40 – 80%.
- 3) одно соцветие загнулось на 50% за время, прошедшее после второго наблюдения, до этого не погибало.
- 4) Шестнадцать соцветий за все время эксперимента загнулись на 0%. Некоторые цветки у них были засохшие уже на момент постановки, (к последнему наблюдению на некоторых развились плоды). Часть цветков засохла к последнему наблюдению (на некоторых развились плоды), у шести соцветий некоторые цветки засохла уже ко второму наблюдению.

Мы сравнили восстановление ориентации соцветия в трех экспериментальных группах через 23 часа после начала эксперимента, так как большинство растений через сутки после постановки перестают загибаться (изменяют свою ориентацию не более, чем на 10%) (рис. 4).

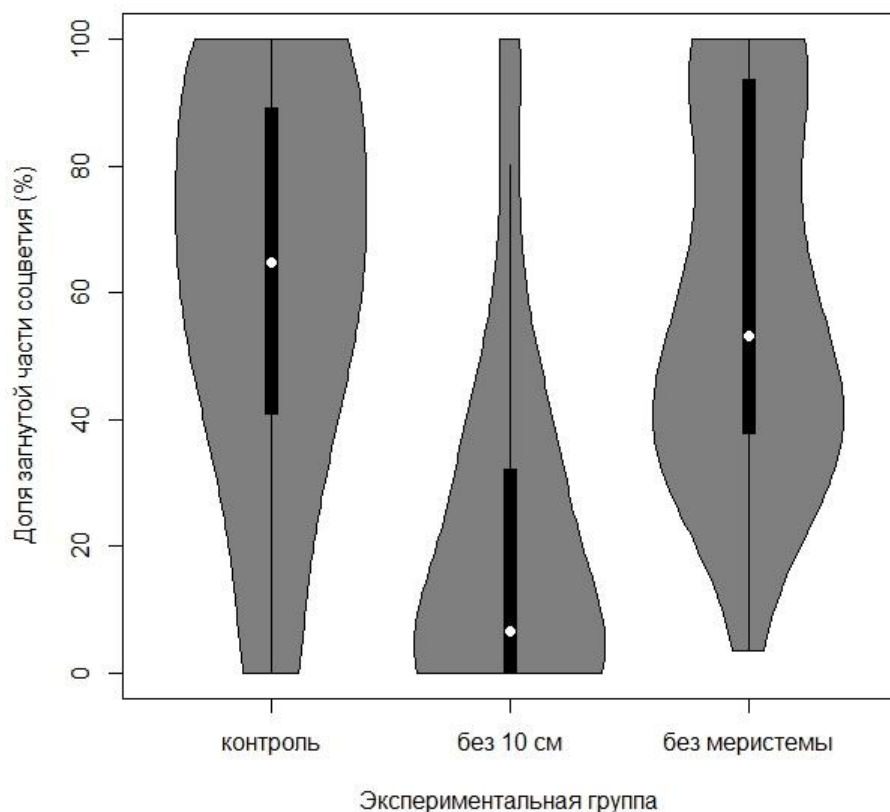


Рис. 4. График восстановления ориентации соцветия в разных экспериментальных группах через 23 часа после начала эксперимента. Ширина фигуры отражает частоту встречаемости значений.

Как показывает график, соцветия контрольной группы чаще всего загибаются более, чем на 45% своей длины. Соцветия группы без меристемы чаще всего загибаются более, чем на 20% своей длины. Соцветия группы без 10 см чаще всего загибаются менее, чем на 40% своей длины.

Мы так же сделали попарный тест Вилкоксона с поправкой на множественные сравнения (табл. 2).

Результаты этого теста показывают нам, что разница между выборками группы контроль и без меристемы статистически недостоверна, а между группами контроль и без 10 см, без меристемы и без 10 см – статистически достоверна (таблица 2). Доля загнутой части растений без 10 см намного меньше, чем в группах контроль и без меристемы (рис. 4).

	Без меристемы	Без 10 см
Без 10 см	2×10^{-7}	-
Контроль	0.15	1.9×10^{-6}

Таблица 2. Значения ошибки первого рода в попарном сравнении доли загнутой части соцветия в разных экспериментальных группах через 23 часа после начала эксперимента с поправкой на

Обсуждение

Соцветия растений группы без апикальной меристемы восстанавливают свою ориентацию примерно так же, как и соцветия контрольной группы, хотя незначительно слабее (статистически недостоверно). Можно было бы предположить, что растения группы без апикальной меристемы восстанавливали свою ориентацию чуть хуже из-за механического стресса или из-за меньшего количества ауксина, т.к. он выделяется апикальной меристемой. То, что отличия между этими группами незначительны, скорее всего, связано с тем, что ауксин может выделяться не только апикальной меристемой, но и меристемой цветков (Алехина и др., 2005).

Мы заметили, что соцветия контрольной группы, у которых было много высохших цветков и/или плодов, загибались значительно хуже, чем соцветия с молодыми цветками. Чем цветки моложе, тем больше они выделяют ауксина (Алехина и др., 2005).

Важность ауксина, выделяемого молодыми цветками, демонстрируется в эксперименте с группой без 10 см. Как правило, соцветия растений этой группы загибаются хуже, чем соцветия растений двух других групп. Цветы начинают созревать от основания соцветия, таким образом, чем ближе к верхушке соцветия цветок, тем он моложе, тем самым, отрезая самую верхнюю часть соцветия, мы отрезали самые молодые цветки, которые выделяют больше всего ауксина.

Но почему же тогда в группе растений без 10 см есть соцветия, загнутые на 100%? Мы можем это объяснить тем, что это соцветие было очень коротким, т.е., во-первых, более молодым, во-вторых, оставшаяся его часть была совсем короткая и поэтому смогла полностью загнуться. Для более длинных соцветий 10 см составляли лишь небольшую часть длины, и загнуться на 100% им было гораздо сложнее. Кроме того, по мере созревания соцветие удлиняется, поэтому более длинные соцветия чаще более старые.

Стоит упомянуть, что на месте проведения работ мы наблюдали за отдельными растениями, на соцветиях которых было около 50% бобов. Эти соцветия практически не загибались (не восстанавливали ориентацию), что можно объяснить недостаточным количеством ауксина в соцветии, так как многие цветы, его выделяющие, уже стали бобами.

Вспомним, для чего нужен механизм восстановления ориентации соцветия и всё сразу станет ясно. Он нужен для увеличения вероятности опыления, а бобы и уже оплодотворенные цветы в этом уже не нуждаются (Armbruster, Muchhala, 2020), поэтому можно предположить, что загибаться будет только часть соцветия с неоплодотворенными цветками. Это предположение нуждается в дополнительной проверке.

Хотя по результатам, которые мы получили, и можно в какой-то мере судить о влиянии степени зрелости цветов на степень поворота соцветия, в будущем это влияние могло бы быть изучено подробнее с использованием других методов. Можно отрезать не фиксированную длину от верхушки соцветия, а какое-то определённое количество цветков. Можно отщипывать цветки от разных частей соцветия, тем самым изучая влияние цветков на разных частях соцветия на степень восстановления его ориентации.

Выводы

Соцветия группы контроль восстанавливают свою ориентацию от 50% до 100% длины соцветия за 5 – 23 часов.

Соцветия без апикальной меристемы восстанавливают свою ориентацию не так активно, как соцветия группы контроль (от 20% до 100% длины соцветия за 5 – 23 часов).

Соцветия без 10 см от верхушки соцветия в основном восстанавливают свою ориентацию от 0% до 40% длины соцветия за 5 – 23 часов.

У соцветий на более поздних стадиях развития погибает меньшая часть, чем у более молодых соцветий.

Благодарности

За организацию, проведение практики и предоставленное оборудование мы глубоко признательны С.М. Глаголеву, П.А. Волковой и Е.В. Елисейевой. Также мы благодарим Институт биологии внутренних вод (ИБВВ РАН) и А.В. Крылова за предоставленную территорию стационара "Сунога" и разрешение на проведение этих работ. Отдельно благодарим П.А. Волкову и Н.С. Глаголеву за идею этой работы и помощь в ней.

Список литературы

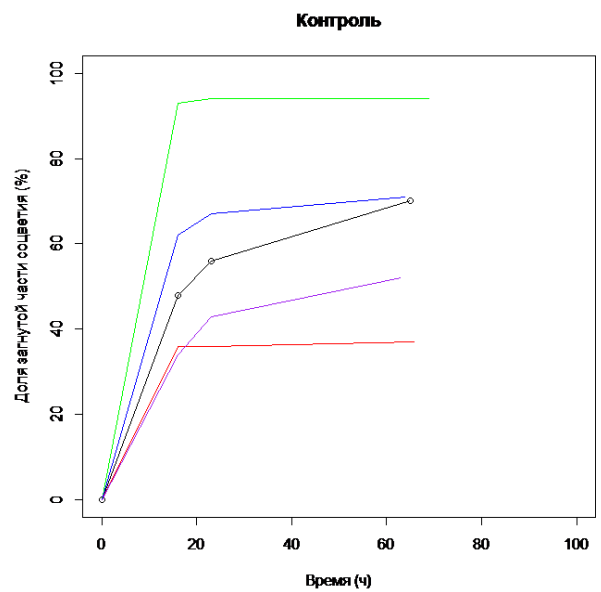
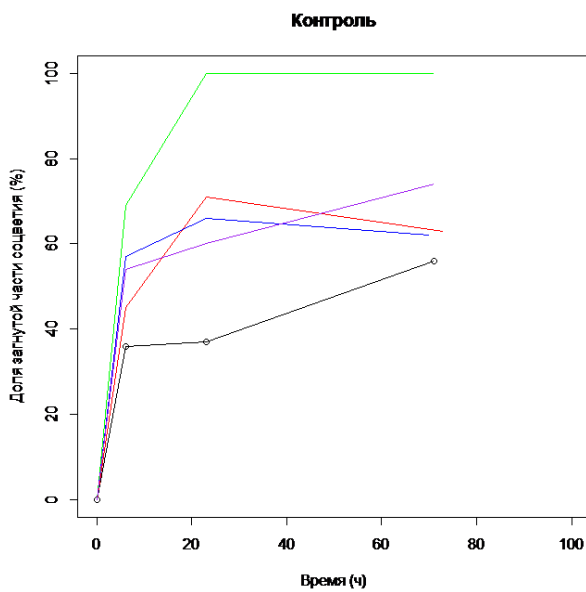
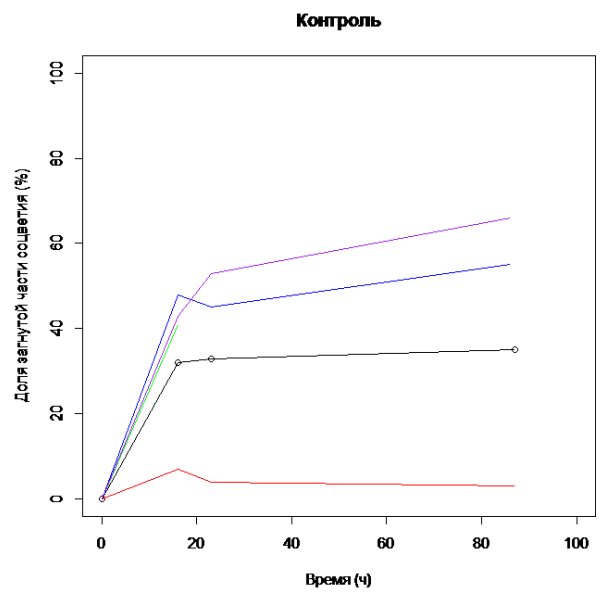
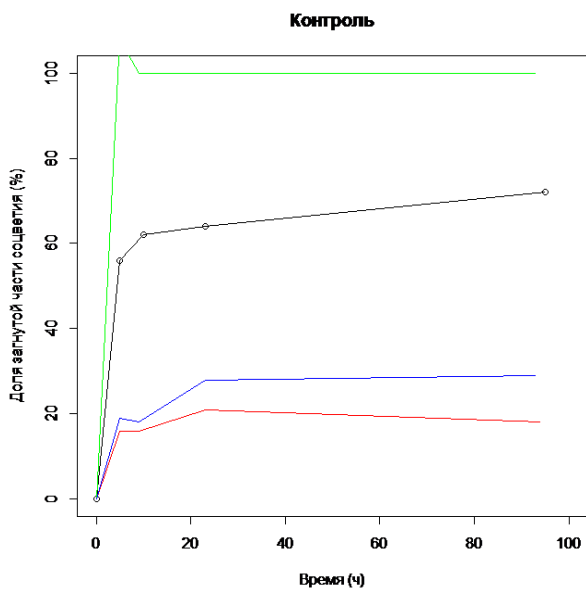
- 1) Алехина Н.Д., Балнокин Ю.В., Гавриленко В.Ф. и др. 2005. Физиология растений: Учебник для студ. Вузов. Издательский центр "Академия". 640 с.
- 2) Волкова П.А., Шипунов А.Б. 2017. Статистическая обработка данных в учебно-исследовательских работах. Издание 3-е, переработанное. – М., Товарищество научных изданий КМК. 90 с.
- 3) Armbruster W.S., Muchhala N. 2020. Floral reorientation: the restoration of pollination accuracy after accidents. *New Phytologist*. 227(1): 232 – 243.
- 4) Christie J.M., Murphy A.S. 2013. Shoot phototropism in higher plants: new light through old concepts. *American Journal of Botany*. 100(1): 35 – 46.

Приложение

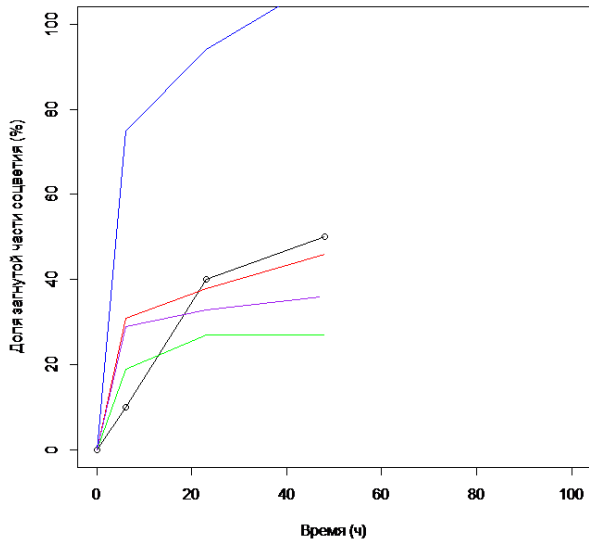
На графиках показана зависимость доли загнутой части соцветия от времени продолжительности эксперимента. На каждом графике показано 5 растений из данной группы.

Приложение 1

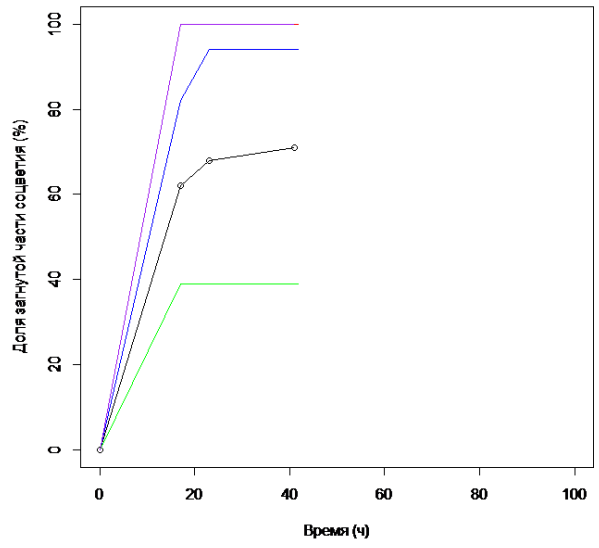
Графики для группы контроль:



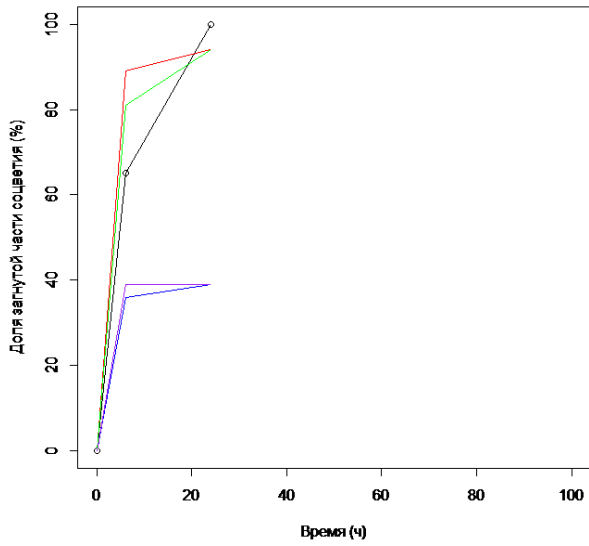
Контроль



Контроль

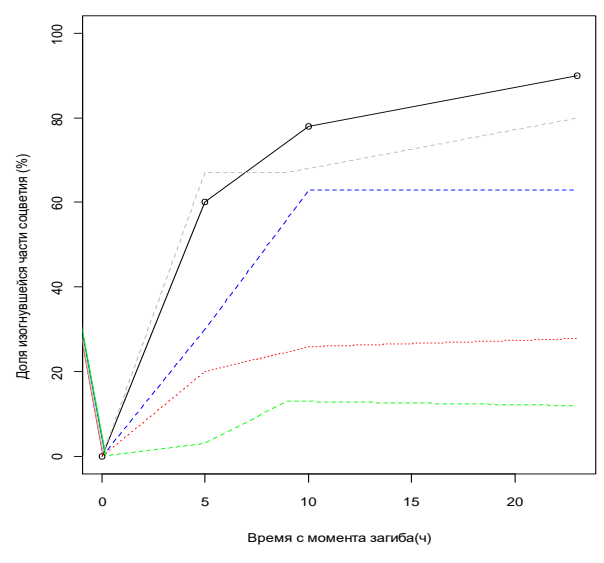


Контроль

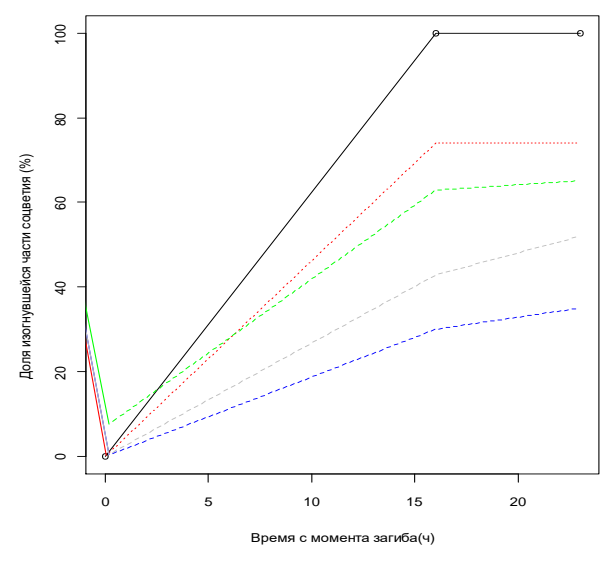


Графики для группы без апикальной меристемы:

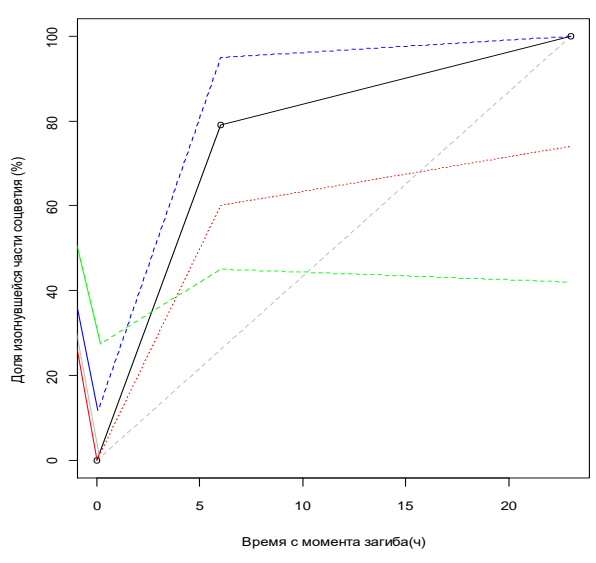
Без меристемы 1-5



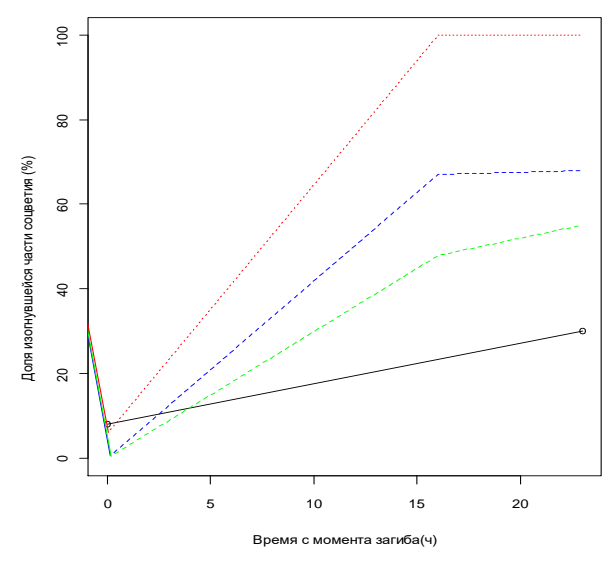
Без меристемы 6-10



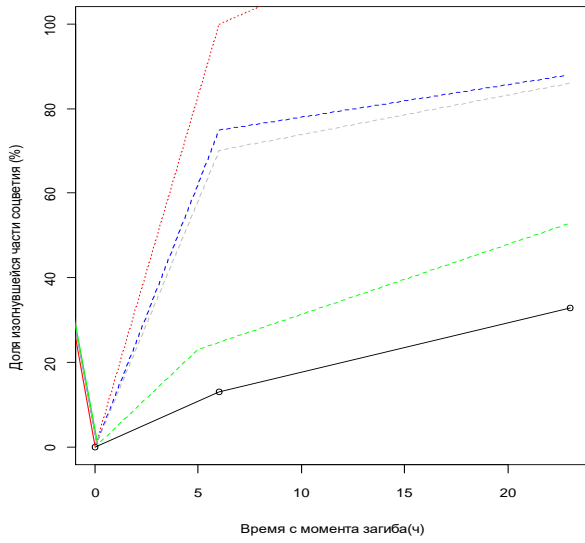
Без меристемы 11-15



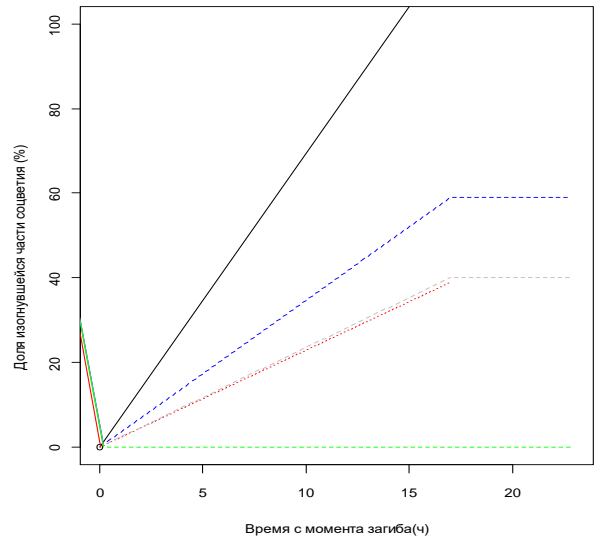
Без меристемы 16-20



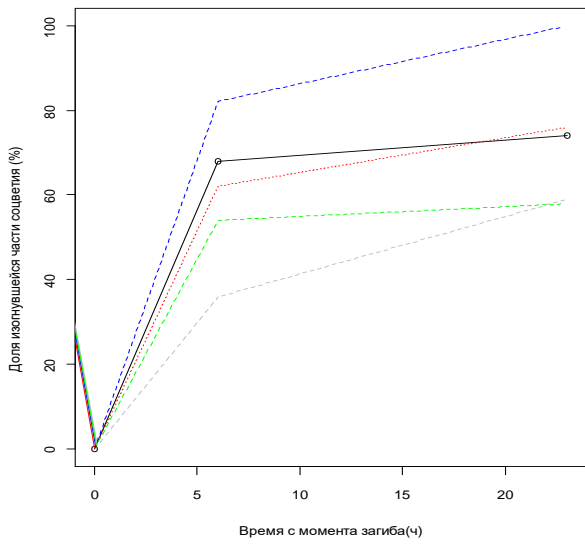
Без меристемы 21-25



Без меристемы 26-30

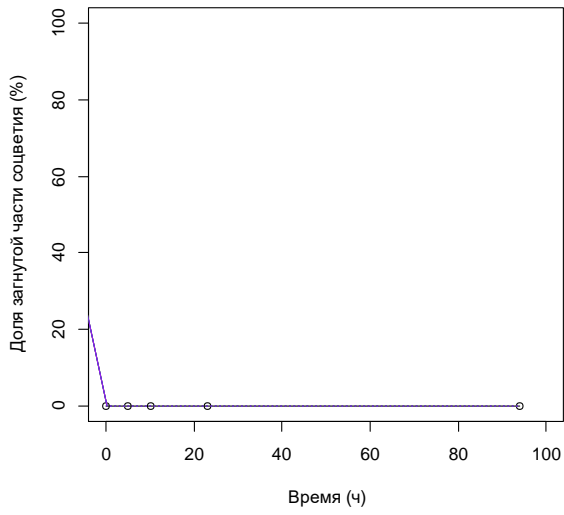


Без меристемы 31-35

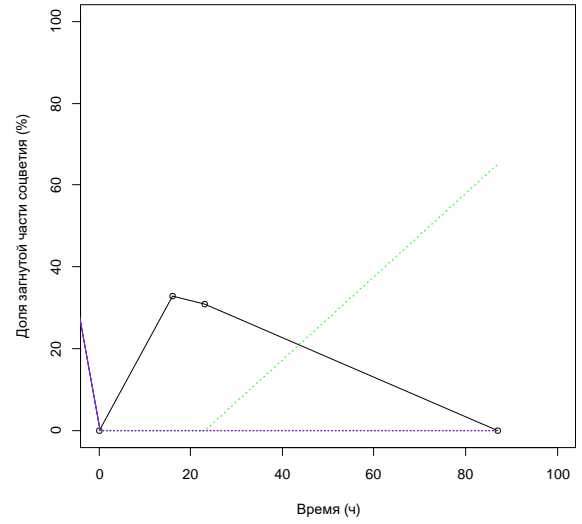


Графики для группы без 10 см:

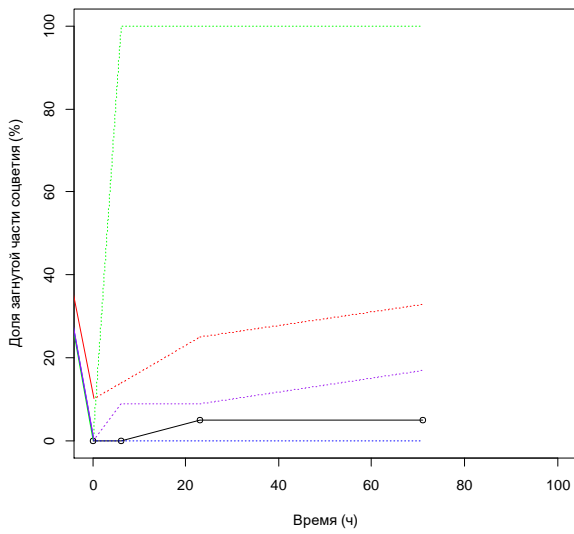
Без 10см



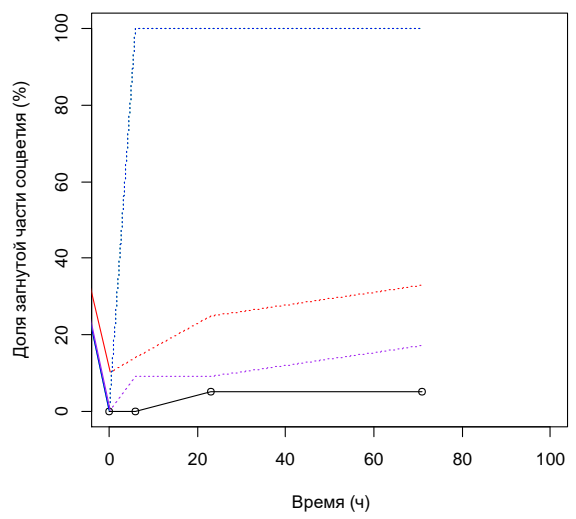
Без 10см



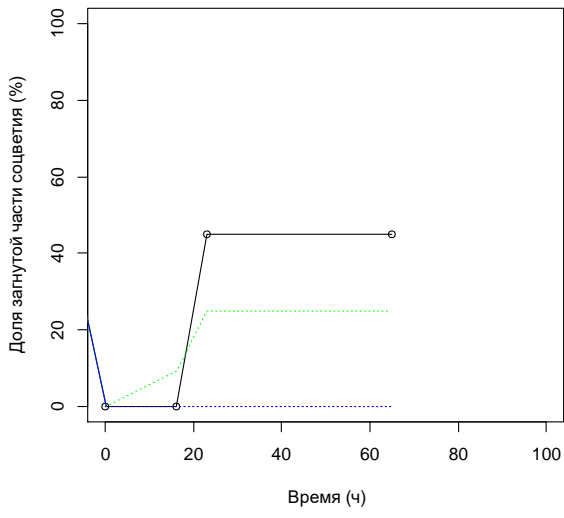
Без 10см



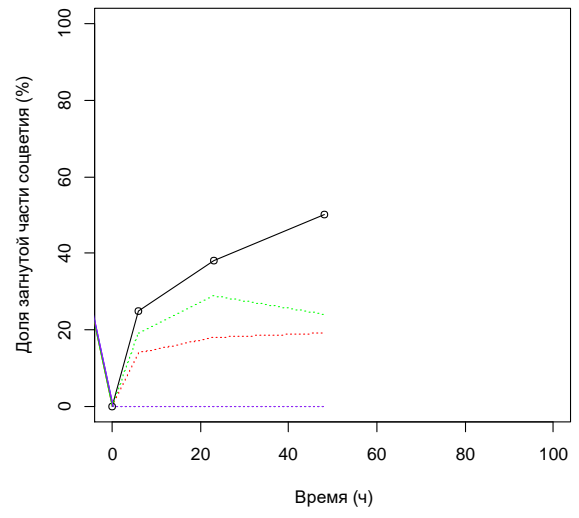
Без 10см



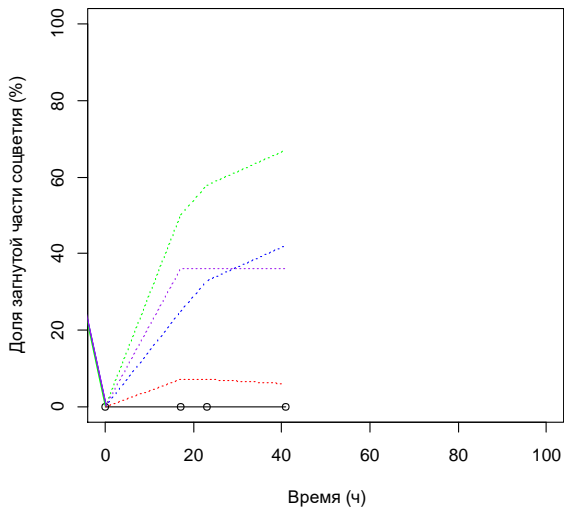
Без 10см



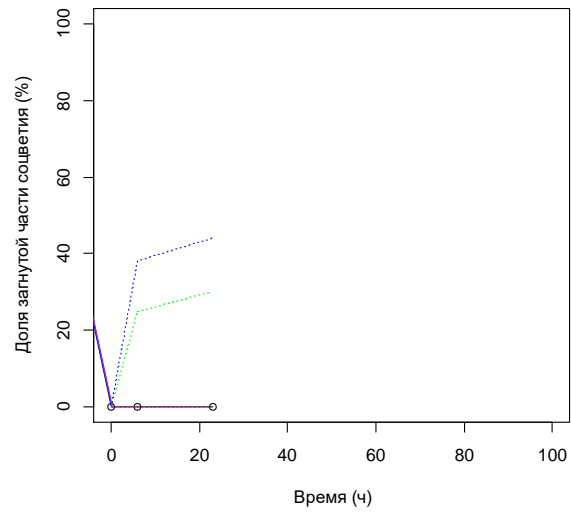
Без 10см



Без 10см



Без 10см



Приложение 2



Контроль



Без меристемы



Без 10 см