

Московская школа на Юго-Западе №1543

Изменение ориентации относительно земли
соцветия *Lupinus polyphyllus* (Fabaceae)

Выполнил:

ученик 9 Б класса

Ю. М. Рашидов

М. Р. Яворский

Научные руководители:

П. А. Волкова

Н. С. Глаголева

Москва 2024

Введение

Цветки вертикальных кистевидных или колосовидных соцветий, опыляемых пчелами, как правило, расположены определенным образом. Предполагается, что правильное расположение цветков улучшает распознавание опылителем и увеличивает вероятность опыления, а также может обеспечить большую согласованность движения опылителя по соцветиям. Изменение ориентации цветков приводит к увеличению количества перемещений опылителей, снижению количества переносимой пыльцы одним насекомым за одно посещение цветка (Hui Wang, Shuang Tie, 2014).

При повреждении растений или механическом изменении их положения вследствие влияния внешних факторов, растению необходимо восстановить свое пространственное положение. Побеги растений могут изгибаться вверх под действием силы тяжести, это явление известно как гравитропизм побегов (Tsugawa et al., 2020). Способность органов растения расти против действия силы земного притяжения зависит от статоцитов.

Статоциты – это клетки, которые ощущают гравитацию посредством сложного движения небольших заполненных крахмалом амилопластических органелл, называемых статолитами (Bastien et al., 2012).

Статолиты откладываются в нижней части клеток и перераспределяют фитогормон ауксин. Ауксин стимулирует удлинение и рост клеток и влияет на изгиб органов растения там, где его концентрация выше. Синтез ауксина в соцветии происходит в апикальной меристеме оси самого соцветия (Алехина и др., 2005) и в меристемах цветков.

Когда растение наклонено, статолиты движутся в направлении силы тяжести и запускают сигнальные процессы, вызывающие изгиб растения (Chauvet et al., 2019).

Chauvet et al. (2019) выдвинули гипотезу о том, что реакция изменения положения колеоптиля (первого зародышевого листа после семядолей) происходит с задержкой, так как ауксину необходимо время для перемещения

к клеткам coleoptilya из апикальной меристемы. Мы хотели определить, влияет ли отсутствие цветков и, соответственно, снижение синтеза ауксина, на способность соцветия восстанавливать ориентацию относительно земли.

В качестве объекта исследования мы выбрали *Lupinus polyphyllus* (Fabaceae), цветки которого располагаются на оси крупного соцветия, поэтому с ними удобно производить манипуляции.

Чем моложе люпин, т.е. чем больше в его соцветии еще не опыленных цветков, тем большая часть его соцветия восстанавливает вертикальное положение. Если учесть, что восстановление положения необходимо для опыления, то довольно логично, что часть соцветия со старыми, уже оплодотворенными цветками не восстанавливает своего положения. (Яворский и др., 2023). Поэтому мы выдвинули гипотезу о том, что место изгиба находилось между раскрывшимися и нераскрывшимися цветками, при этом мы приняли раскрывшиеся цветки за опыленные, а нераскрывшиеся за неопыленные. (Рис.1, 2).



Рисунок 1. Нераскрывшийся цветок



Рисунок 2. Раскрывшийся цветок

Цель работы

Определить, влияет ли наличие цветков на соцветии на изменение ориентации относительно земли соцветия *Lupinus polyphyllus*.

Задачи

- 1) Сравнить, как изгибаются соцветия с цветками и без.
- 2) Определить, насколько реальное место изгиба совпадает с предполагаемым местом изгиба.

Материалы и методы

Все работы Михаил Яворский в Ярославской области, Некоузском районе, в 2 км южнее пос. Борок, на территории стационара Сунога ИБВВ РАН (Рис. 3) с 30 июня по 5 июля 2024 года. Было выбрано 20 пар люпинов с соцветиями, находящимися примерно на одной стадии развития (соцветия на более поздних стадиях развития длиннее, чем молодые соцветия и имеют отцветшие цветки). У одного люпина из каждой пары обрывали все цветки на соцветии. У всех люпинов меняли ориентацию соцветия в период времени с 9.30 до 12.00, полученные результаты фиксировали с 17.30 до 20.00.

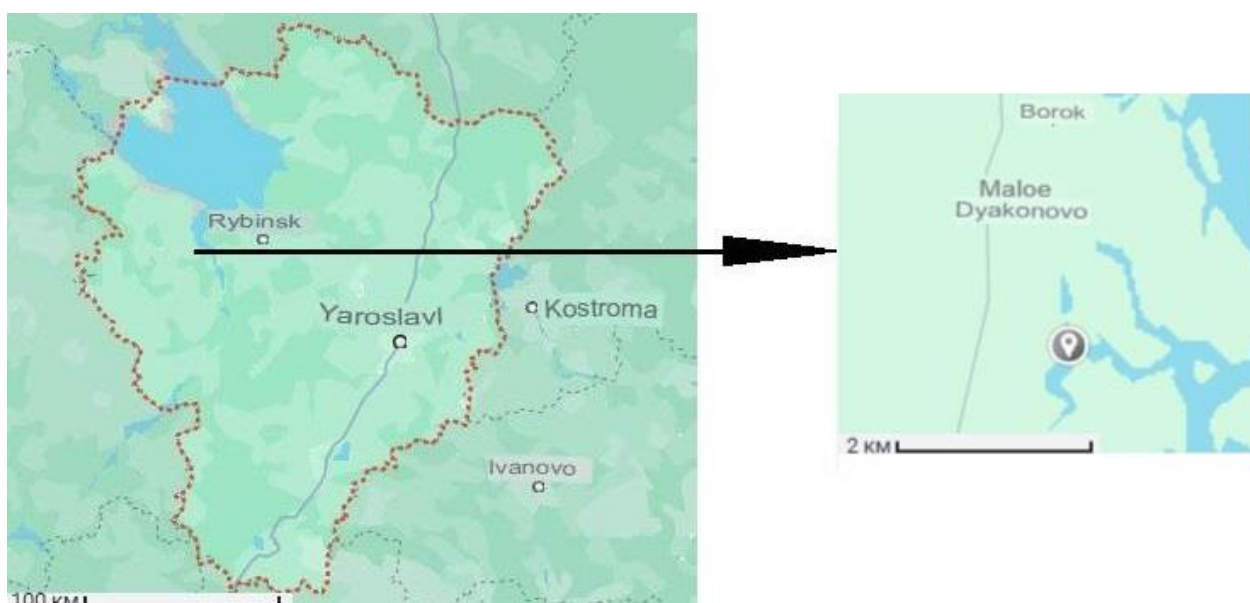


Рисунок 3. Местоположение полевых работ

Каждый люпин мы исследовали по следующему протоколу:

1. Выбирали люпин и давали ему индивидуальный номер, ставили колышек с номером на расстоянии 40 см от люпина.

2. Ставили одну или две метки на предполагаемом месте изгиба корректирующей жидкостью. Две метки мы ставили, если между раскрывшимися и нераскрывшимися цветками были узлы не до конца раскрывшихся цветков (не до конца раскрывшимся мы считали цветок, парус которого отходил от лодочки примерно меньше чем на 45 градусов).

3. Фотографировали номер люпина.

4. Фотографировали люпин в исходном состоянии (брали уровень, выравнивали его строго вертикально, и ставили его вплотную к люпину, фотографировали люпин на расстоянии 40 см от него) (рис. 4).

4*. Обрывали цветки с соцветия у одного люпина из каждой пары.

5. Подвязывали люпин (брали люпин и аккуратно сгибали его, чтобы основание соцветия было параллельно земле, привязывали один конец шнура за 5-10 см от нижнего края (начала) соцветия, а второй – к колышку и устанавливали колышек в землю).

6. Следующую фотографию делали через 8 часов вечером (Рис. 5, 6).

Все фото люпина мы делали камерой телефона, плоскость уровня перпендикулярна земле, уровень держали вплотную к растению, плоскость фотокамеры примерно параллельна плоскости уровня.

Последующая работа проводилась с фотографиями, сделанными Яворским М.Р.

С помощью программы **ImageJ** измеряли начальную длину всего соцветия и длину от начала соцветия (началом соцветия мы считали точку на стебле, от которого отходит цветоножка самого нижнего цветка в соцветии) до изгиба (местом изгиба мы считали место, где соцветие отклоняется от прямой своего роста, т.к. соцветие изгибалось плавно). Если стебель люпина

изогнулся до начала соцветия, то в качестве значения длины до изгиба мы брали отрицательное значение.

Также мы измеряли расстояние от места изгиба до поставленной метки (предполагаемого места изгиба). Если поставленная нами метка была ближе к началу соцветия, чем изгиб, то мы считали это значение отрицательным. Если было поставлено две метки, мы считали расстояние от изгиба до каждой метки и находили среднее арифметическое (рис. 7).

Далее мы считали отношение длины от начала соцветия до изгиба к начальной длине соцветия (далее – относительная длина незагнутой части соцветия) и отношение длины от изгиба до предполагаемого места изгиба к начальной длине соцветия (далее – относительная длина от изгиба до предполагаемого места изгиба) (рис. 8).



Рисунок 4. Люпин в исходном состоянии



Рисунок 5. Люпин с оборванными цветками спустя 8 часов после подвязки



Рисунок 6. Люпин спустя 8 часов после подвязки

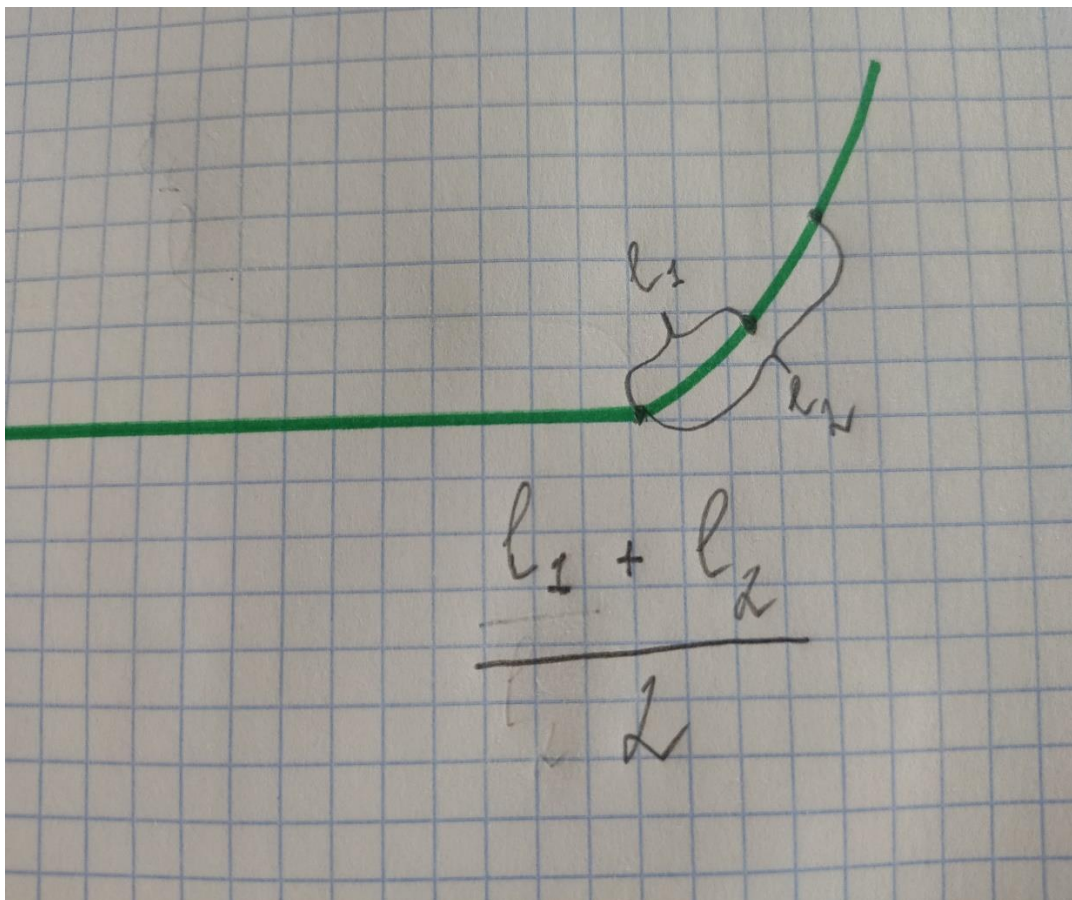


Рисунок 7. Расстояние от изгиба до первой (l1) и второй (l2) метки.

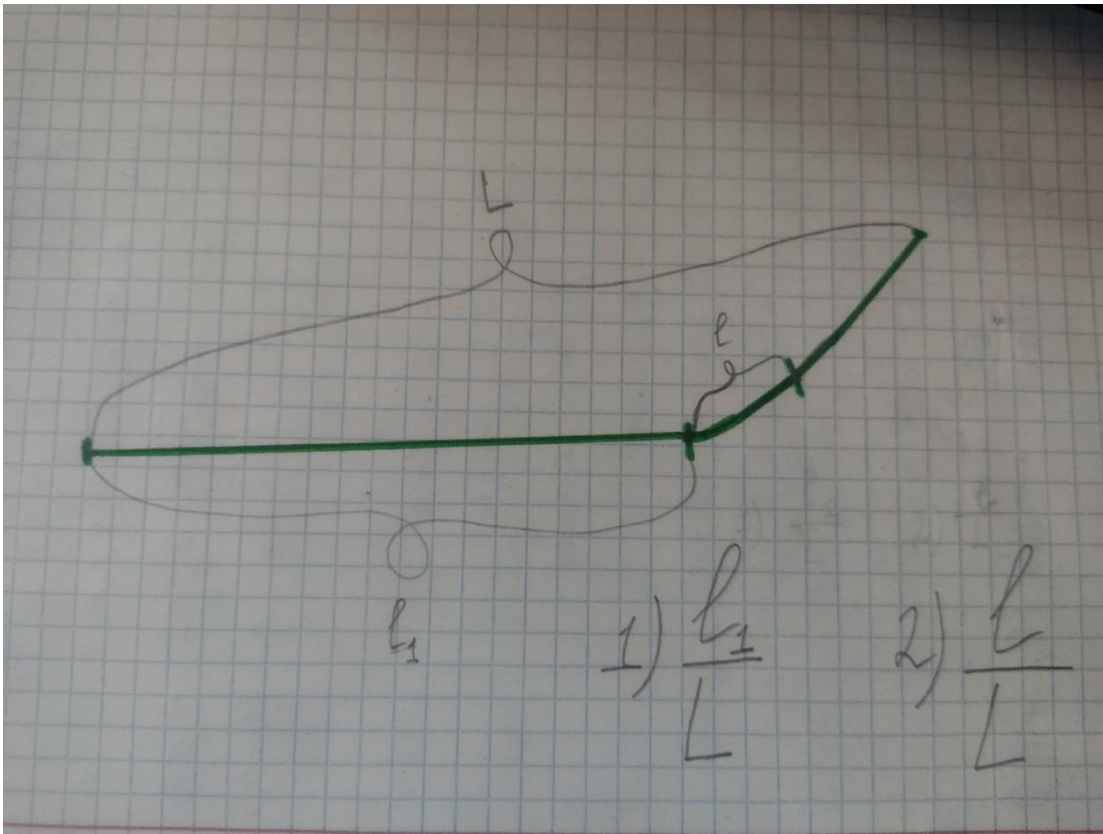


Рисунок 8. Расстояние от начала соцветия до изгиба (l_1), расстояние от изгиба до метки (l) и длина всего соцветия (L).

Мы построили диаграмму рассеяния зависимости относительной длины не загнутой части соцветия от начальной длины соцветия люпинов с цветками и без цветков (Рис. 9). С помощью теста Спирмена проверили статистическую значимость связи между относительной длиной не загнутой части соцветия и начальной длиной соцветия. Также мы проверили тестом Вилкоксона (в каждой выборке меньше 30 исследований) статистическую значимость различий между относительной длиной не загнутой части соцветия с цветками и без цветков.

Чтобы узнать, насколько отличается относительная длина от изгиба до предполагаемого места изгиба двух групп, мы построили диаграмму рассеяния зависимости относительной длины от изгиба до предполагаемого места изгиба от всей длины соцветия (Рис. 10). Если предполагаемое место изгиба было помечено двумя метками, мы считали среднее арифметическое двух расстояний: от изгиба до первой метки и от этой метки до второй метки,

при этом первой всегда считалась метка дальше от начала соцветия, чем реальный изгиб.

А чтобы узнать, насколько различается расстояние от изгиба до предполагаемого места изгиба в сантиметрах, мы построили три гистограммы: отдельно для каждой выборки и попарно.

Все статистические тесты и графические построения мы делали в программе **R**, только гистограмму для люпинов попарно мы сделали в программе **Excel**.

Результаты

Между относительной длиной не загнутой части соцветия и начальной длиной соцветия есть положительная корреляция как у люпинов с цветками (тест Спирмена: $p\text{-value} = 0.046$, $R = 0.46$), так и у люпинов без цветков (тест Спирмена: $p\text{-value} = 0.002$, $R = 0.76$) (Рис. 9).

Соцветия без цветков восстанавливают свою ориентацию в той же степени, что и обычные соцветия (относительная длина не загнутой части соцветия достоверно не различается, тест Вилкоксона: $p = 0.62$).

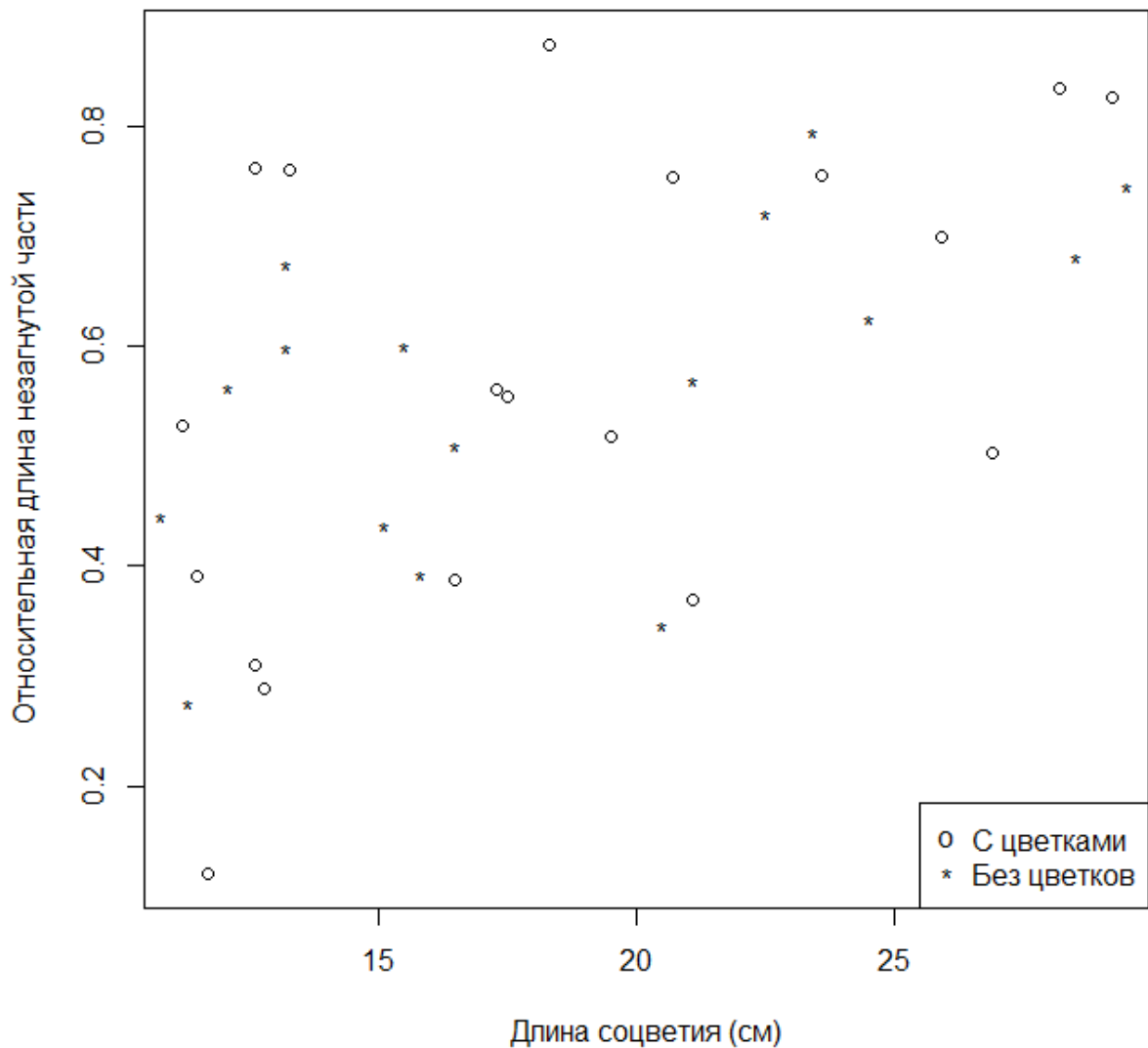


Рисунок 9. Зависимость относительной длины незагнутой части соцветия и начальной длины соцветия люпинов с цветками и без цветков.

Между относительной длиной от изгиба до предполагаемого места изгиба и начальной длиной соцветия есть отрицательная корреляция у люпинов с цветками (тест Спирмена: $p\text{-value} = 0,04$ $R = -0.67$), а у люпинов без цветков ее нет (тест Спирмена: $p\text{-value} = 0.4$) (Рис. 10).

Относительная длина от изгиба до предполагаемого места изгиба у соцветий с цветками и без примерно одинакова (тест Вилкоксона: $p = 0,5$).

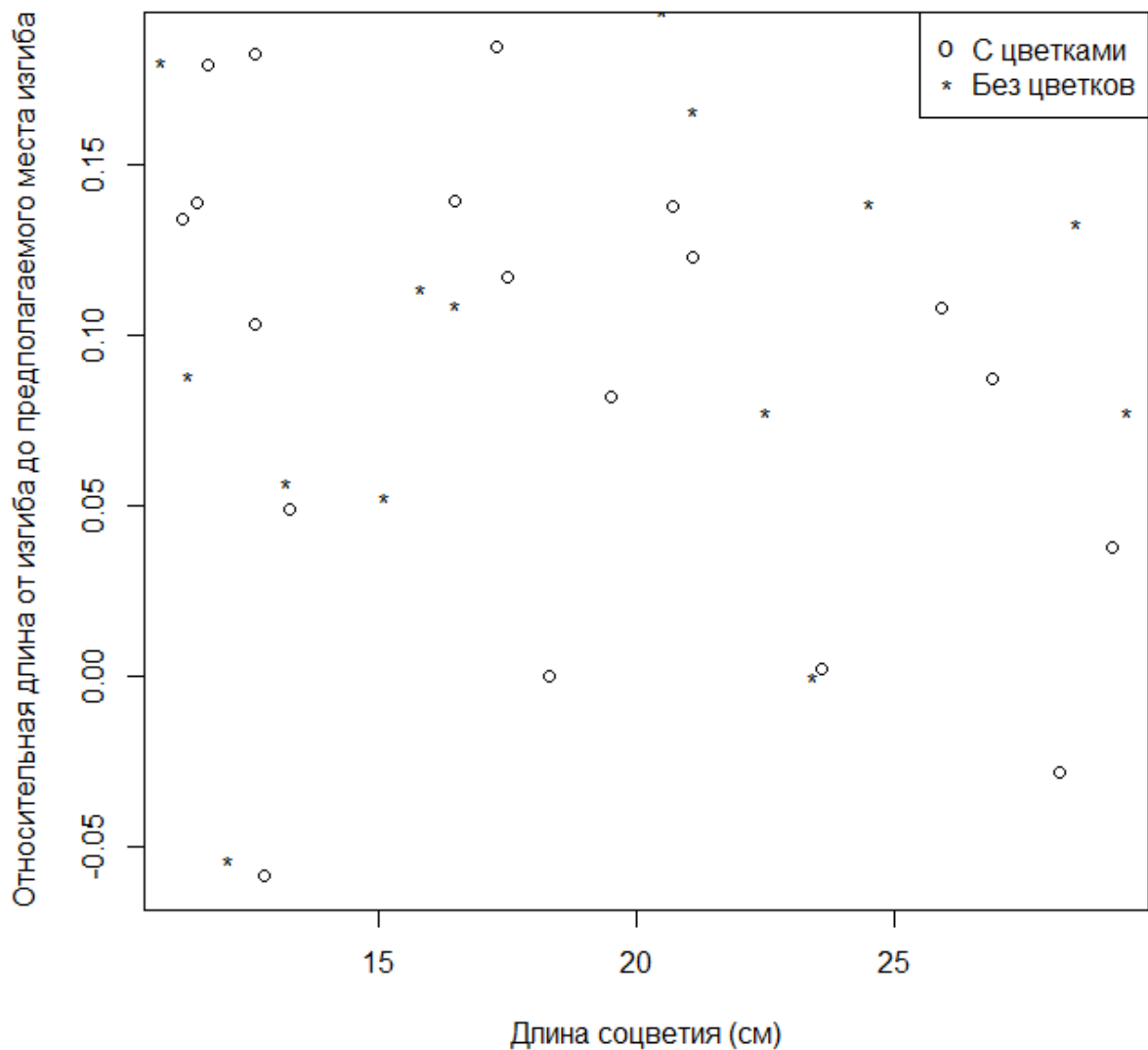


Рисунок 10. Зависимость относительной длины от изгиба до предполагаемого места изгиба от длины соцветия люпинов с цветками и без цветков.

На диаграммах рассеяния некоторые значения совпадали.

У люпинов с цветками расстояние от изгиба до предполагаемого места изгиба в 65% случаев составляет 1 - 3 см. Нижнее значение -1, верхнее значение 4 (Рис. 11).

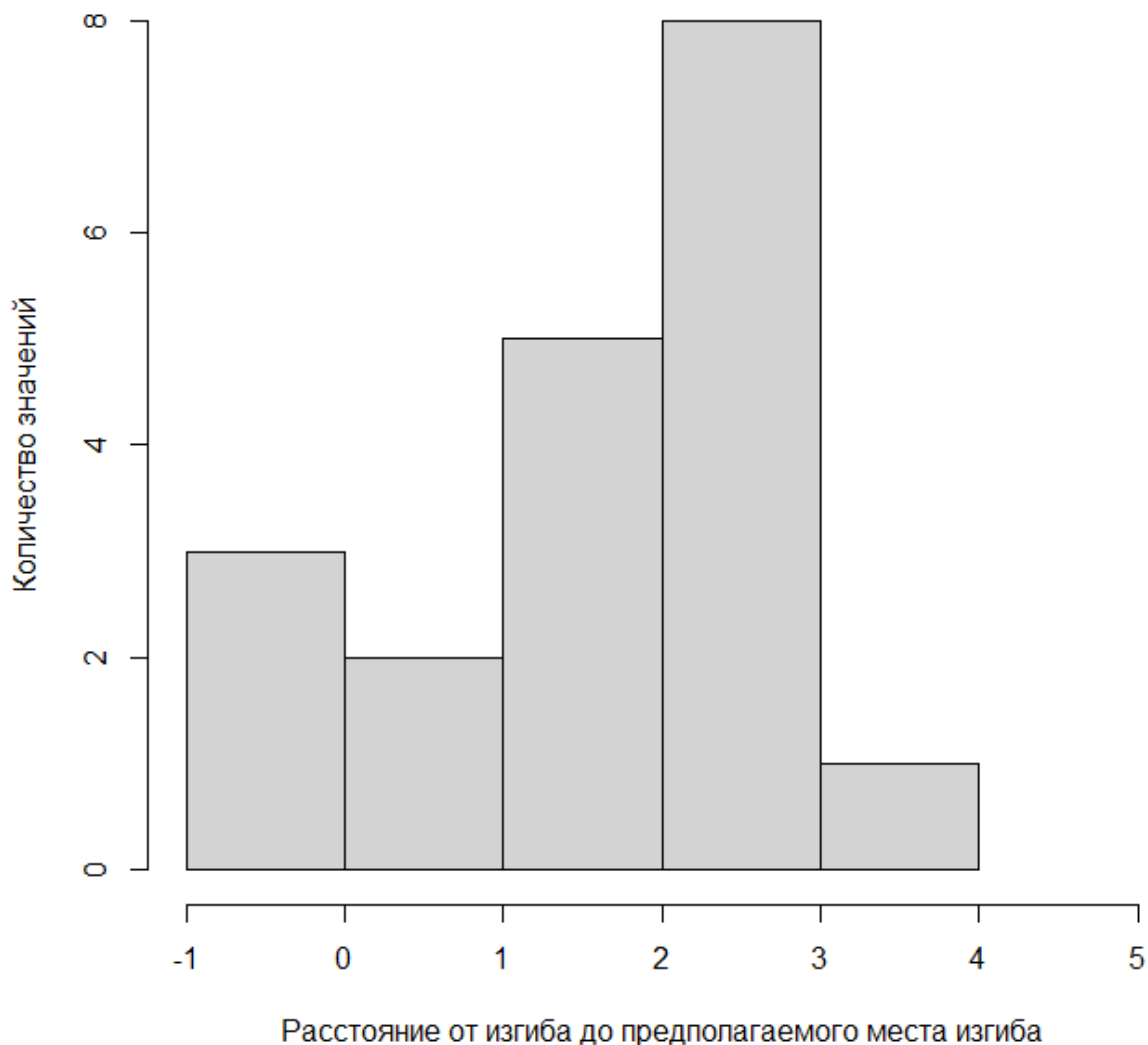


Рисунок 11. Расстояние от изгиба до предполагаемого места изгиба люпинов с цветками (см).

У люпинов без цветков расстояние от изгиба до предполагаемого места изгиба в 30% случаев составляет 3 - 4 см, в 45% случаев 0 - 2. Нижнее значение -1, верхнее значение 5 (Рис. 12, 13).

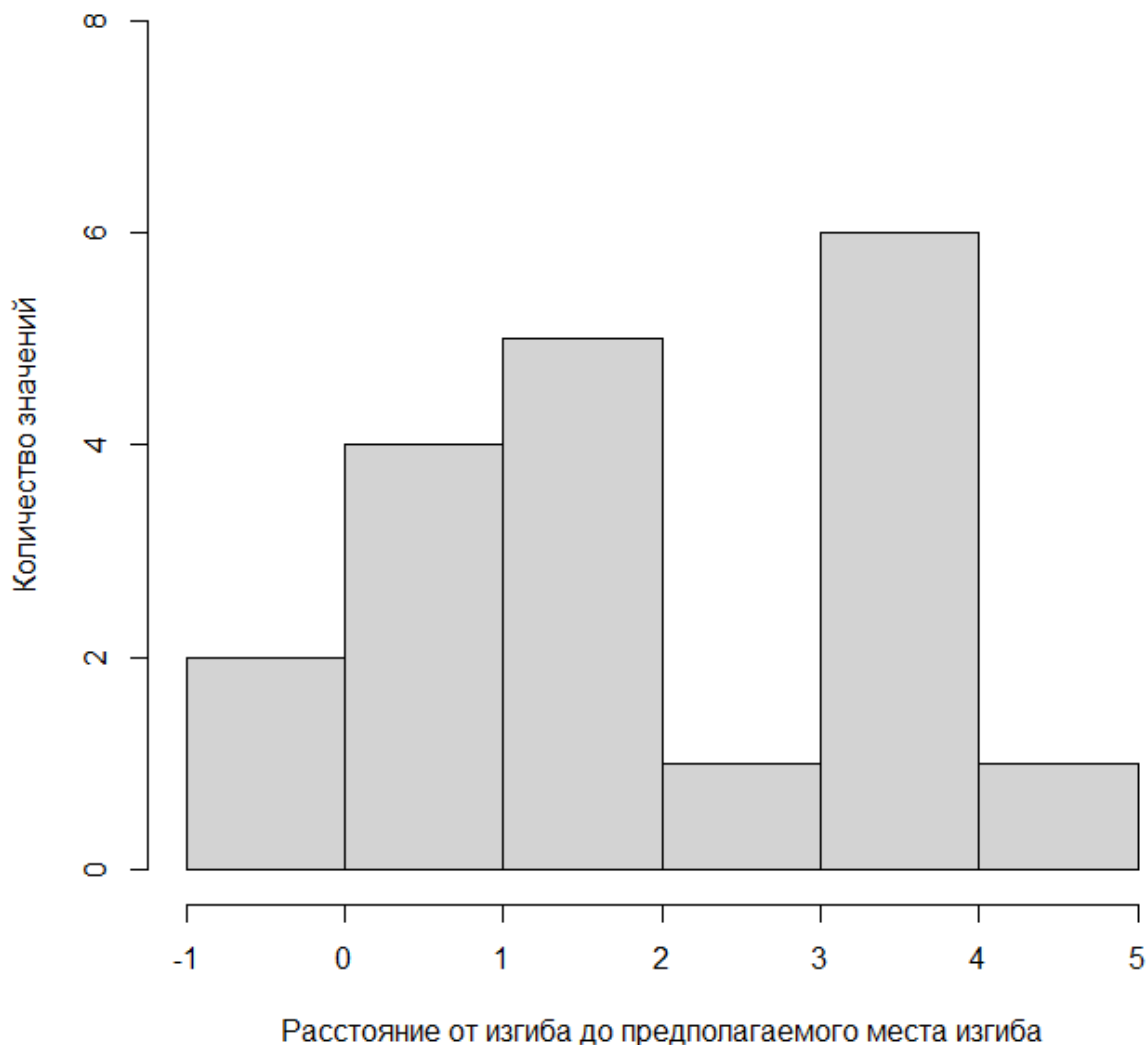


Рисунок 12. Расстояние от изгиба до предполагаемого люпинов без цветков (см).

У всех люпинов в среднем расстояние от изгиба до метки было примерно 2 см.

На гистограммах расстояния от изгиба до предполагаемого места изгиба соцветий без цветков и с цветками по отдельности мы убрали одну пару люпинов из-за сильного выброса.

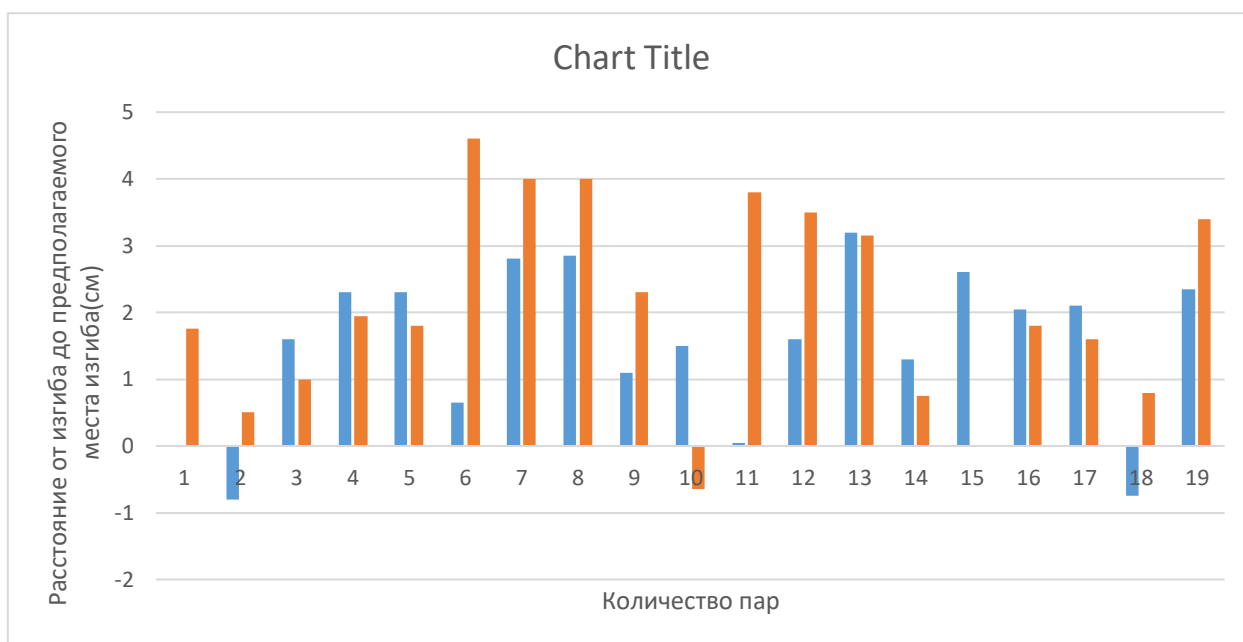


Рисунок 13. Расстояние от изгиба до предполагаемого места изгиба люпинов попарно (см). Оранжевым – люпины без цветков, синим – люпины с цветками.

Обсуждение

Мы выяснили, что соцветия без цветков восстанавливают свою ориентацию в той же степени, что и обычные соцветия, несмотря на то что, из-за отсутствия цветков снизился синтез ауксина. Возможно, так происходит потому, что вместе со снижением синтеза ауксина снижается и вес соцветия.

На основе наших наблюдений, у люпинов с цветками между относительной длиной от изгиба до предполагаемого места изгиба и начальной длиной соцветия есть отрицательная корреляция, а у люпинов без цветков ее нет, возможно это связано с тем, что в наших наблюдениях есть большая погрешность измерений и выборка слишком маленькая. Чтобы получить более точные результаты, можно взять более крупную выборку люпинов и производить те же самые манипуляции. Наличие этой связи у люпинов с цветками может быть связано с тем, что у молодых соцветий сложнее провести границу между раскрывшимися и нераскрывшимися цветками, т.к. узлы

находятся ближе друг к другу, кроме того, молодые соцветия удлиняются быстрее, чем старые, и из-за этого погрешность становится больше.

У всех люпинов хотя бы одна метка была дальше от начала соцветия, чем изгиб (Рис. 9, 10). В среднем расстояние от изгиба до метки было примерно 2 см, что равно примерно одному-двум узлам не до конца раскрывшихся цветков. В связи с этим, можно сказать, что наша гипотеза о расположении места изгиба подтвердилась только частично: изгиб действительно находится примерно между раскрывшимися и нераскрывшимися цветами, но иногда один-два узла с раскрывшимися цветками тоже входили в загнутую часть соцветия.

Помимо погрешности в измерениях это может быть связано со следующим фактором: мы ставили метку между раскрывшимися и нераскрывшимися цветками, считая нераскрывшийся цветок неопыленным, а раскрывшийся опыленным. Но на самом деле только что раскрывшийся цветок, расположенный близко к нераскрывшимся, тоже мог быть еще неопыленным, и из-за этого мог входить в загнутую часть соцветия. Для уточнения этого надо провести дополнительную серию экспериментов, где бы точнее определялось, какие цветки опылены.

Также точка, которую мы принимали за точку изгиба, могла оказываться ближе к началу соцветия, чем граница между раскрывшимися и нераскрывшимися цветками, т.к. саму точку мы ставили в месте, где соцветие только начинало отклоняться от прямой своего роста, а граница могла находиться около точки наибольшей кривизны кривой изгиба.

Выводы

- 1) Отсутствие цветков на соцветии не влияет на точку изгиба соцветия.
- 2) Место изгиба находится в среднем на 2 см ближе к началу соцветия относительно границы между раскрывшимися и нераскрывшимися цветками.

Благодарности

Мы благодарим Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН и лично его директора А.В. Крылова за предоставленную территорию стационара "Сунога" и разрешение на проведение работ, а также П.А. Волкову, С.М. Глаголеву, П.Н. Петрова, Н.С. Глаголеву, Л.А. Абрамову и Е.В. Елисееву за организацию и проведение практики.

Отдельно выражаем свою благодарность за рекомендации по планированию и оформлению работы П.А. Волковой и Н.С. Глаголевой, а также проведенные полевые работы и предоставленные фотографии люпинов М.Р. Яворскому.

Список литературы

Алехина Н.Д., Балнокин Ю.В., Гавриленко В.Ф. и др. 2005. Физиология растений: Учебник для студ. Вузов. Издательский центр "Академия". 640 с

Насунова А. Д., Яворский М. Р. 2023. Изменение ориентации относительно земли соцветия *Lupinus polyphyllus* (Fabaceae) в зависимости от наличия верхушки соцветия. Электронный ресурс. Режим доступа: https://bioclass.ru/wp-content/uploads/2024/09/lupin23_fin-_3_.pdf

Bastien R., Bohrd T., Moulia B., Douadys S. 2012. Unifying model of shoot gravitropism reveals proprioception as a central feature of posture control in plant. Journal Proceedings of the National Academy of Sciences. 755-760.

DOI:[10.1073/pnas.1214301109](https://doi.org/10.1073/pnas.1214301109)

Chauvet H., Moulia B., Legué V., Forterre Y., Pouliquen O. 2019. Revealing the hierarchy of processes and time-scales that control the tropic response of shoots to gravi-stimulations. *Journal of Experimental Botany*. 70(6): 1955–1967. doi:10.1093/jxb/erz027

Hui W., Shuang T., Dan Y., You-Hao G., Chun-Feng Y. 2014. Change of Floral Orientation within an Inflorescence Affects Pollinator Behavior and Pollination Efficiency in a Bee-Pollinated Plant, *Corydalis shearer*.

DOI:[10.1371/journal.pone.0095381](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0095381)

R Core Team. 2023. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>

Tsugawa S., Kanda N., Nakamura M., Goh T., Ohtani M., Demura T. 2020. Spatio-temporal kinematic analysis of shoot gravitropism in *Arabidopsis thaliana*. DOI: 10.5511/plantbiotechnology.20.0708a