

Переход к цветению: от экспериментальной ботаники до молекулярной биологии

Владимир Подольный

В марте 2012 года исполнилось бы 110 лет со дня рождения Михаила Христофоровича Чайлахяна. Он был одним из тех немногих учёных, которые заложили основы современной биологии развития растений. Канадский биохимик Ганс Селье делил учёных примерно на две группы: немногочисленные открыватели научных проблем и тех, кто, хорошо владея современными методами, способен разрабатывать эти проблемы. Обе группы исследователей важны для получения и продвижения научных знаний. М. Х. Чайлахян несомненно относится к первой из этих групп.

В то время в биологии развития главными для выявления «специфических» и пока неизвестных внутренних факторов, регулирующих образование и рост новых органов растения, были феноменологические методы. Среди них были формовка растений, прививки и другие хирургические воздействия, влияние различных условий освещения и температур. Затем присоединились обработка физиологически активными веществами и методы аналитической биохимии. Это была экспериментальная ботаника, недалеко ушедшая от описательной ботаники, но, благодаря экспериментальным исследованиям, из нее выросла современная физиология растений. Экспериментальная ботаника, хотя и не выявляет биохимическую природу искомым регуляторов, но позволяет очертить границы их поиска, разработать критерии, по которым их можно идентифицировать. М. Х. Чайлахян виртуозно владел такими экспериментальными методами. Поэтому эта статья не о биографии М.Х.Чайлахяна, она о главной идее его жизни: предсказании, а затем открытии специализированного регулятора перехода растений к цветению.

Переход от вегетативного состояния, когда образуются только листья и другие вегетативные органы, к следующей фазе развития, когда начинают образовываться зачатки цветков и соцветий, является периодом кардинальных изменений физиологии всего растения. Знания того, каковы внутренние причины этих изменений и как ими управлять, чрезвычайно важны для агрономической практики. Однако, они были получены исследователями, имевшими чисто академический интерес и весьма далёкими от практики.

Одним из первых значительных шагов к пониманию проблемы перехода к цветению было открытие фотопериодизма Гарднером и Аллардом в 1925 году. Они обнаружили, что зацветание растений может вызываться определённой длиной светового дня (длиной фотопериода). Действительно, длина фотопериода меняется в течении года: она длинее в середине лета и становится короче с приближением осени и весной. Фотопериод почти не меняется на экваторе и значительно варьирует по мере удаления от него. Растения подстраивают свой жизненный цикл к условиям, обеспечивающим их успешное размножение. Они живут по солнечным часам. Всё началось с обнаружения на табачных плантациях Висконсина необычных растений. Они интенсивно росли, но не цвели, даже когда другие растения табака уже давно отцвели. Эксперименты показали, что эти растения быстро зацветали в условиях укороченного светового дня (9 часов) вместо обычных 16 часов. Таким образом, длина светового дня оказалась внешним сигналом, позволяющим или не позволяющим растениям переходить к цветению. Вскоре на фотопериодическую чувствительность были испытаны практически все доступные исследователям растения (1).

Для зацветания одним растениям требуется продолжительный фотопериод, другим - короткий. Есть растения нейтральные к длине дня, цветущие при любых

фотопериодических условиях. Для каждого фотопериодически чувствительного растения требуется определённая критическая длина дня, начиная с которой они могут быть индуцированы к цветению. Некоторые виды растений были особенно чувствительны: им было достаточно одного длинного или короткого дня. Экспериментаторы получили возможность запускать процесс зацветания в нужное для них время.

Открытие фотопериодизма позволило сделать следующий шаг в выявлении внутренних факторов запуска цветения. В середине 30-х годов молодой исследователь Михаил Христофорович Чайлахян экспериментально показал, что именно лист является органом, воспринимающим фотопериодическое воздействие. Более того, используя методы экспериментальной ботаники: хирургию растений, прививки, различные фотопериодические воздействия, он выявил, что лист является источником некоего фактора, способного передвигаться по живым проводящим сосудам в почку и вызывать там образование цветков. Способностью образовываться в одном органе, затем передвигаться в другой и вызывать там специфические изменения, обладают гормоны. Они были известны у животных. У растений к тому времени также выявлены природные регуляторы роста со свойствами гормонов.

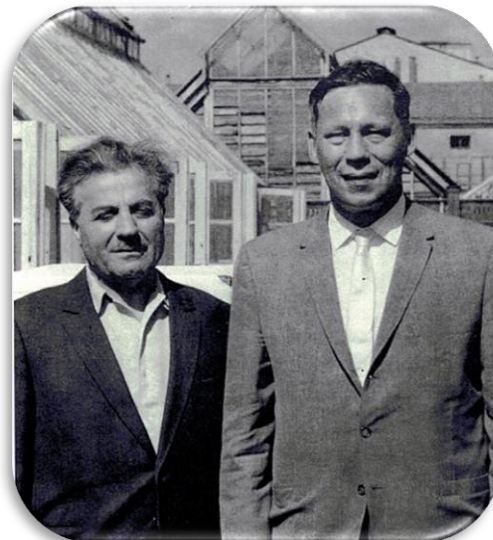


Рис.1. М. Х. Чайлахян (слева) вместе с другим исследователем, внесшим большой вклад в изучение проблемы цветения - с американским коллегой А. Лангом (примерно 1972 год)

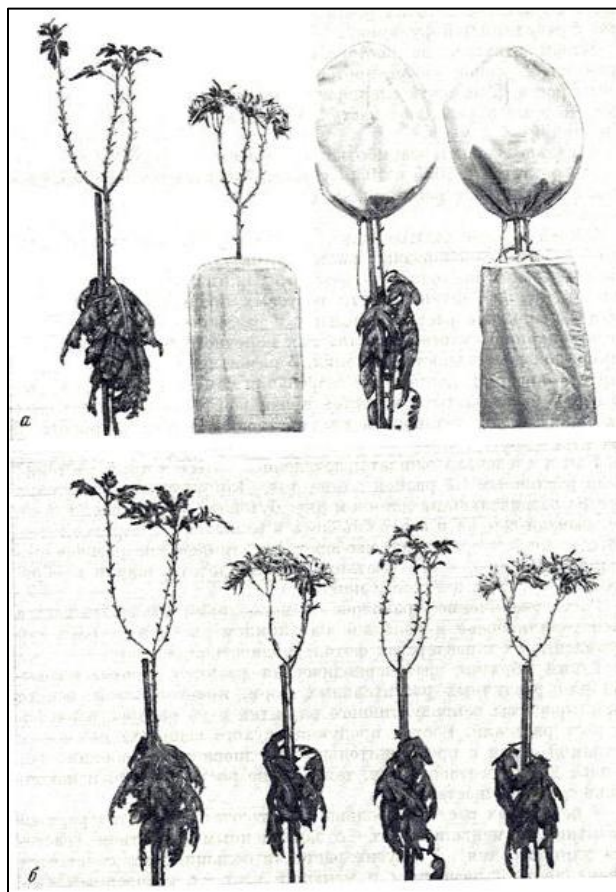


Рис. 2. а – растения накрыты футлярами, б – без футляров. (Фото 19/10/1936 года)

Многочисленные эксперименты М. Х. Чайлахяна убедительно доказывали существование нового вида гормона – гормона цветения, вызывающего зацветание растений. Оно было названо «Флориген» (Флор – цветок, ген – образовывать). Флориген обладает способностью проходить через прививку из одного растения в другое, даже при прививках между растениями разных видов, даже между длиннодневными, короткодневными и нейтральными растениями. Таким образом, гипотетический флориген должен быть универсальным для многих растений, независимо от их фотопериодической природы и происхождения. Далее некоторые из экспериментов Чайлахяна.

Если вегетирующие растения хризантемы сформировать, как показано на рис.2, когда листья находятся на некотором расстоянии от верхушечной почки, и давать короткий день или листьям, или верхушечной почке (для этого их в тёмный период суток

накрывали светонепроницаемыми футлярами), то цветение происходит только тогда, когда короткий день получали листья.

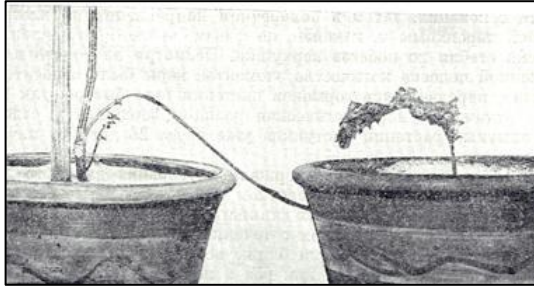


Рис.3. Лист периллы, фото 1/09/1938 года

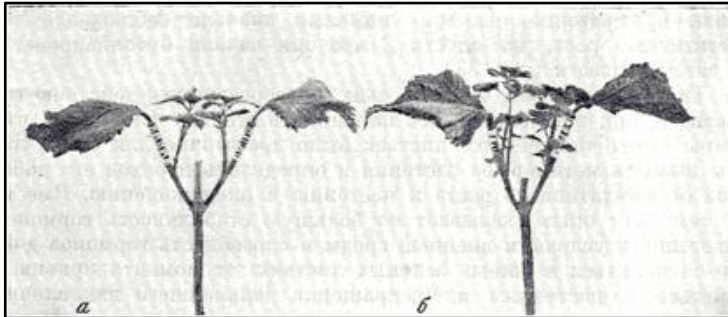


Рис.4. а – контрольные растения с привитыми неиндуцированными листьями, побеги вегетируют; б – прививки индуцированных листьев, побеги с характерными для зацветающих растений листьями; фото 05/09/1956 года

У периллы (Рис.3) лист можно отщепить вместе с полоской стебля, посадить в другой горшок и там дать ему короткий день. Предполагаемый гормон цветения перетекает из отделённого листа, и в почке ниже места отщепления образуется цветок.

Можно привить даже отдельные индуцированные листья. У периллы один и тот же индуцированный лист можно перепрививать семь раз (Рис.4), где *а* – контрольные растения с

привитыми неиндуцированными листьями, побеги вегетируют; *б* – прививки индуцированных листьев, побеги с характерными для зацветающих растений листьями.

В 1937 году М. Х. Чайлахян написал книгу «Гормональная теория развития растений» (2), в которой он впервые обосновал представление о гормоне цветения. Идея о существовании специального гормона цветения была поддержана и подтверждена

исследованиями зарубежных коллег. Однако, на родине Михаилу Христофоровичу пришлось дорого заплатить за своё открытие. Тем более, что это пришлось на годы разгрома отечественной науки, который невозможно ничем рационально объяснить. Его книга подверглась резкой и несправедливой критике со стороны Лысенко. У Михаила Христофоровича отняли лабораторию. На Учёном Совете Института Физиологии Растений АН СССР от него требовали отказаться от своих взглядов. Он рассказывал мне, как работал над книгой. Он писал её по ночам, день был для экспериментов. Писал, сидя в прихожей своей небольшой квартиры, чтобы не беспокоить жену и сына. Он слышал, как подъезжали машины, хлопала дверь подъезда, раздавались шаги и останавливались пока ещё не у его двери. Утром становилось известным, кого взяли. Чемоданчик с вещами у него всегда был наготове. Тем не менее, он продолжал защищать свои взгляды. Судьба дала ему возможность закончить свою работу.

Следующей задачей было выяснить, какова же химическая природа флоригена. Было сделано огромное число попыток выделить вещество с флоригеновой активностью, из индуцированных к цветению растений, которое было бы способным вызвать цветение у неиндуцированных растений. Почти все они оказались безуспешными или невозпроизводимыми. Такие исследования проводились и в лаборатории Чайлахяна, и исследователями других стран, гораздо лучше вооружённых методами современной аналитической биохимии.

В 50-е годы был выделен новый гормон роста «Гибберелловая кислота» (ГК). Она вызывала сильный рост стеблей. Американский учёный Ланг прислал Чайлахяну несколько граммов этого нового регулятора роста. Чайлахян в СССР и Ланг в Америке стали тестировать ГК на способность вызывать цветение. Результат был положительным: несколько капель гормона ГК, нанесённые на верхушку растения вызывали цветение

длиннодневных растений, даже если они росли в условиях неблагоприятного для цветения в условиях короткого дня. Измерение внутреннего содержания ГК показало, что этот уровень значительно повышался в условиях, благоприятного для зацветания, длинного дня. Однако ГК не вызывала цветения у короткодневных растений. Это не позволяло идентифицировать её как флориген. Поиски продолжались (3,4).

Время идентификации флоригена пришло лишь с современным развитием генетики и молекулярной биологии. Новейшие методы этих разделов биологии дают возможность найти кратчайший путь от феномена, в нашем случае – зацветания, к биохимическим факторам его вызывающим. В качестве растения для моделирования был выбран Арабидопсис. Это растение стало своеобразной ботанической мухой Дрозофилой, одного из основных модельных организмов в генетике. В этом качестве у Арабидопсиса много преимуществ. Он легко поддается мутагенезу, у него много природных мутантов, у него расшифрован геном. В него легко вводить чужеродные гены. У Арабидопсиса были выделены мутантные линии (сорты) с разным характером зацветания, но одинаковых по всем другим параметрам. Это позволяет исследовать только процессы, опосредованные изменениями в генах цветения. Кроме того, Арабидопсис это миниатюрное растение, которое легко выращивать в лабораторных, контролируемых условиях, на искусственной питательной среде (5).

Как ранее показал Чайлахян, восприятие фотопериодического воздействия происходит в листе. В листе Арабидопсиса был найден специфический рецептор для этого восприятия. Он оказался полипептидом, связанным с хромофорной группой, которая реагирует на спектральный состав света. Его назвали «Фитохром». Хромофорная группа может находиться в двух состояниях. Одно из них, Фитохром красный с пиком поглощения в красной области спектра, 660нм, при освещении красным светом переходит в дальне-красную форму с пиком поглощения 730нм. Освещение дальне-красным светом переводит его обратно в красную форму. Дальне-красная форма является биологически активной, но ночью, в темноте переходит в красную неактивную форму. Спектральный состав солнечного света в течении суток меняется, в зависимости от угла его падения. Фитохром улавливает эти изменения и служит растению инструментом для измерения времени. Такой механизм измерения времени напоминает песочные часы (1). Как часть механизма измерения времени, он запускает активацию гена “Gigantea”. Белок, продукт этого гена, в свою очередь активирует ген “Constans” (CO). И вот уже ген CO активирует образование следующего участника этой цепочки. Это ген и соответствующий ему белок “Flowering Locus T” (FT). Было доказано, что именно он соединяет события, происходящие в листе, с теми, которые происходят в почке. Он обладает способностью передвигаться по проводящим пучкам стебля. обладает и другими свойствами Флоригена. Он служит передающим звеном при прививке от длиннодневных растений - к короткодневным, и наоборот. Его нашли у растений разных видов. Его внутреннее содержание повышается по мере приближения к образованию зачатков цветков. Его можно найти и в цветущих деревьях и в травянистых однолетних растениях. Белок FT универсален. Можно наконец констатировать, что через 70 лет после экспериментальных предсказаний Флориген был идентифицирован (6).

Мы кратко рассмотрели только фотопериодический путь регуляции перехода к цветению. Но проблема намного сложнее (7). В последнее время показан многофакторный контроль перехода к цветению. Есть ещё молекулярные механизмы которые включаются пониженной температурой при яровизации, механизмы, связанные с внутренними возрастными процессами, которые почти совсем не изучены. Исследуется контроль, включающий участие гиббереллинов (одним из первых регуляторов этой группы была уже упомянутая Гибберелловая кислота). Этот контроль работает, в основном, у

длиннодневных растений. Но все виды контроля используют белок FT, который является интегратором различных путей регуляции.

Исследование молекулярных механизмов перехода к цветению в настоящее время стало одной из горячих областей современной биологии развития живых организмов. Обнаруживаются не только новые гены, задействованные в регуляции цветения, но и исследуются молекулярные контакты между ними, эпигенетический (надгенный) контроль их активации и отключения. В последнее время большое внимание уделяется негативному контролю этих процессов. Интересно, что переход к взрослой фазе развития, когда появляется способность к половому размножению, регулируется функционально и биохимически сходными механизмами у растений, насекомых (на примере дрозофиллы) и, вероятно, животных.

Вспоминаю, на столе у Михаила Христофоровича под стеклом лежали карточки с различными высказываниями. На одной из них было написано: « Законченных исследований не бывает. Бывают законченные исследователи, уже ни к чему не способные». Действительно, наука флориген уже обнаружила, но молекулярная картина регуляции цветения оказалась более сложной. Исследования продолжаются.

Источники

1. Fosket D. E. 1994. Plant Growth and Development. Academic Press. 580 p.
2. Чайлахян М. Х. 1937. Гормональная теория развития растений. М. Изд. АН СССР. 198 с.
3. Чайлахян М. Х. 1988. Регуляция цветения высших растений. М. Наука. 559 с.
4. Ланг А. Г. 1994. Гормональная регуляция цветения растений. Первое Чайлахяновское чтение. 27-59. М. Наука.
5. Simpson G. G. and Dean C. 2002. Arabidopsis, the Roseta Stone of Flowering Time. Science. 296. 285-289.
6. Zeevaart J.A. D. 2006. Florigen Coming of Age after 70 Years. The Plant Cell. 18.1783-1789. Michaelis S. D. 2009. Flowering Time Regulation Produces Much Fruit. Current Opinion in Plant Biology. 12. 75-80.