

ВЛИЯНИЕ ГУМИНОВЫХ ПРЕПАРАТОВ НА АНАТОМО- МОРФОЛОГИЧЕСКУЮ СТРУКТУРУ В ОНТОГЕНЕЗЕ *FASEOLUS VULGARIS* L.

З.П. Карташева¹⁾, Р.П. Барыкина²⁾, В.В. Мурашѳв²⁾

Россия: 1) Тульский педагогический университет, 2) Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова. E-mail: vvmur@hotmail.ru

Одной из важных проблем современной ботаники остается изучение закономерностей становления в онтогенезе структурной организации растения как целостной динамической системы. Исследования динамики онтогенеза дают возможность осуществить анализ морфо-, органо- и гистогенеза, позволяют выявить корреляции между развитием отдельных органов, установить их истинную природу.

В данной работе проведено исследование строения зародыша зрелого семени, особенностей формирования внешней и внутренней структуры растения с момента прорастания до окончания плодоношения. Это позволило проследить динамику развития и возрастные изменения в ходе онтогенеза бобового однолетника *Faseolus vulgaris*, сорт «Спаржевая» (сем. *Leguminosae*), теплолюбивого, светолюбивого, самоопыляющегося растения с длиной вегетационного периода 80 - 90 дней.

Фасоль обыкновенная является ценной сельскохозяйственной культурой, изучение онтогенеза ее культиваров, с учетом влияния внешних факторов на темпы и ритмы морфо- и гистогенеза представляется весьма актуальным. А избирательное воздействие веществ гуминовой природы на рост и развитие этих растений недостаточно хорошо изучено, хотя полученные из торфа гуминовые удобрения, в целом зарекомендовали себя весьма положительно (Ивченко, 2001). Кроме того, установлено, что реакции растений на различные концентрации гуматов достаточно видоспецифичны. Поэтому выявление индивидуальных особенностей биологии растений приобретает важное теоретическое и практическое значение.

Целью данного исследования было изучение динамики изменений некоторых морфолого-анатомических признаков и химического состава *Faseolus vulgaris* в онтогенезе, обусловленных действием гумата калия (ГК).

В задачи работы входило: выяснение изменений в морфологии и анатомической структуре растения на всех этапах онтогенеза; определение характера влияния ГК на темпы и ритмы органогенеза; установление изменения химического состава растений на определенных этапах онтогенеза под действием ГК.

Формирование внешнего габитуса *Faseolus vulgaris*, особенностей развития их основных органов изучались, начиная с момента прорастания до окончания плодоношения, при выращивании в открытом грунте на опытной биоэкологической станции ТГПУ им. Л.Н. Толстого, расположенной к юго-востоку от г. Тулы. Дополнительный материал по морфологии проростков был получен при выращивании семян в лабораторных условиях в чашках Петри и сосудах с землей. Каждая возрастная группа исследовалась в 10-кратной повторности. Наблюдения за ростом и развитием растений проводились через каждые 5 - 7 дней после внесения гуминовых удобрений. У разновозрастных особей (проростки, ювенильные, взрослые вегетирующие, цветущие и плодоносящие) определяли высоту, число листьев на стебле, размеры листьев срединной формации, степень развития корневой системы и т.д. В эти же сроки растения фиксировали в жидкости Карнуа (этиловый спирт : вода : глицерин – 1:1:1) для дальнейшего анатомического анализа. Готовились временные препараты ручных срезов через лист, стебель и корень по общепринятой методике (Прозина, 1960; Барыкина и др., 2004). В осевых органах учитывались толщина и число клеток

первичной коры по радиусу, доля первичной и вторичной флоэмы от общего объема проводящих тканей, диаметр сосудов, клеток тяжелой и сердцевинной паренхимы, толщина камбиальной зоны, степень одревеснения стенок проводящих элементов.

При изучении листьев определяли размеры и форму клеток эпидермы, плотность устьиц на единицу поверхности листа, число хлоропластов в замыкающих клетках, а также количество и объем проводящих пучков в междоузлиях.

Схема опыта включала следующие варианты обработки семян и растений: семена замачивали в воде, а растения в дальнейшем поливали водопроводной водой (I-контроль); семена замачивали в воде, растения же разных возрастных состояний обрабатывались 0,005% раствором ГК (II); семена замачивали в 0,005% растворе ГК и этим же раствором обрабатывали растения в течение всего онтогенеза (III). Проводили сравнительный с контролем анатомо-морфологический анализ материала, при выборке в каждом варианте не менее 10 растений.

Таблица 1. Количественные морфологические показатели пятидневного проростка (ювенильные растения)

№ п/п	Морфологические параметры	I контроль	II	III
1	Число листьев	2,0±0,02	2,0±0,02	9,0±0,02
2	Длина гипокотилы, см	4,23±0,11	4,34±0,14	5,67±0,1
3	Длина эпикотилы, см	0,51±0,01	0,65±0,02	0,92±0,1
4	Длина главного корня, см	2,55±0,08	2,96±0,10	3,72±0,11

Наблюдения за фасолью обыкновенной – надземнопрорастающим гипокотильным растением, показали, что уже на начальных этапах онтогенеза происходит ускорение развития проростков, обработанных 0,005% раствором ГК (длина главного корня опытных растений превышала таковую у контрольных почти в 1,5 раза). Число листовых зачатков плюмулы не изменялось во всех вариантах, что согласуется с литературными данными, так как эти примордии закладываются в зародыше раньше (Цингер, 1958; Ахундова, 1979; Ржанова, Петухова, Ивашук, 1962; Лисов, 1982), т.е. до отделения семени от материнского растения. Обработку гуминовыми удобрениями важно начинать на ранних этапах онтогенеза, когда происходит формирование основных морфолого-анатомических структур растения.

На ранних этапах онтогенеза проявляются корреляции в развитии органов. Так, у опытных растений с более крупными семядолями гипокотиль в 1,5 раза длиннее, чем у контрольных – с семядолями меньших размеров. Другая корреляция проявилась в развитии листьев и корневой системы: после появления первых листьев наблюдалось замедление роста главного корня. Подобные корреляции указаны в литературе для иных видов бобовых растений (Ржанова, 1975; Ахундова, 1979).

Эпикотиль 5-дневных проростков, обработанных ГК, был в 1,8 раза длиннее такового у контроля (табл. 1). Проводящая система в эпикотиле проростков фасоли пучкового типа. Она составлена листовыми следами, в которых хорошо видны 1-2 слоя камбия. Толщина слоя проводящих тканей в эпикотиле у контрольных растений примерно в 1,3 раза меньше, чем у опытных вариантов.

В возрасте 15 дней при переходе растений в вегетативную фазу развития отмечено замедление разрастания семядолей, увеличение темпов образования листьев. Высота

растений варьирует во всех вариантах: в контроле она оказалась меньше почти в 1,4 раза, по сравнению с вариантом III, что видно из таблицы 2, т.е. очевидно положительное влияние гуминовых препаратов на рост объекта.

Таблица 2. Количественные морфологические показатели 15-дневного растения

Морфологические параметры		I контроль	II	III
1. Высота растения, см		15,12±0,52	17,9±0,61	20,51±0,63
2. Число листьев		6,2±0,14	6,2±0,14	6,8±0,19
3. Размер листа срединной формации	длина, см	9,22±0,24	9,52±0,29	9,63±0,31
	ширина, см	4,71±0,11	5,03±0,15	5,13±0,12
4. Длина главного корня, см		14,13±0,74	15,03±0,90	17,91±0,76
5. Количество клубеньков		17,4±0,73	27,2±0,84	29,1±0,91

Главный корень у ювенильных растений, появившихся из замоченных в гумате семян, на 21% превысил длину корня контрольных экземпляров. Под влиянием гуминовых удобрений происходило усиление ветвления корней фасоли во II-ом и, особенно, III-ем вариантах. В соответствии с этим в 1,7 раза возросло у них и количество бактериальных клубеньков.

У растений этого возрастного состояния влияние гуматов отразилось и на анатомических показателях (табл.3).

Таблица 3 Количественные анатомические показатели фасоли в вегетативную фазу развития

Анатомические признаки	I контроль	II	III
1. Толщина первичной коры, мм	0,24±0,01	0,34±0,01	0,36±0,01
2. Число клеток первичной коры по радиусу	6,0±0,15	6,5±0,14	7,0±0,15
3. Доля I флоэмы от толщины проводящих тканей	1/9	1/8	1/8
4. Доля II флоэмы от толщины проводящих тканей	1/6	1/6	1/5
5. Толщина ксилемы по радиусу, мм	0,59±0,01	0,66±0,02	0,64±0,01
6. Диаметр сосудов, мм	0,04±0,001	0,06±0,001	0,07±0,001
7. Диаметр клеток сердцевинки, мм	0,15±0,003	0,17±0,004	0,17±0,004
8. Длина трихом, мм	0,19±0,007	0,20±0,009	0,24±0,008

Толщина первичной коры стебля в контроле, II-ом и III-ем вариантах составила соответственно 0,24 мм; 0,34 мм и 0,36 мм. Разрастание первичной коры во II-ом и особенно, в III-ем вариантах было обусловлено увеличением числа и размеров составляющих клеток. Видимо, гуминовые препараты стимулируют процессы клеточного деления.

У всех растений в виргинильный период онтогенеза проводящая система кольцевого типа; более крупные синтетические пучки, составленные несколькими листовыми следами, характеризуются большими объемом и числом сосудов вторичной ксилемы.

Первичная флоэма на периферии имеет продольные волокна, которые окружают центральный цилиндр почти непрерывным слоем. Они характеризуются утолщенными сильно лигнифицированными оболочками и составляют в контрольном варианте примерно 1/9 объема проводящих тканей пучка. У опытных растений клеточные стенки волокон одревесневали в меньшей степени, чем в контроле. На основании этого можно предположить, что гуминовые препараты продлевают жизненные процессы протопластов и замедляют старение клеток.

Вторичная флоэма во всех вариантах представлена исключительно тонкостенными элементами. У контрольных растений она включает небольшое число ситовидных трубок с клетками-спутницами, что в известной мере свидетельствует о менее активном у них обмене веществ. Во флоэмной паренхиме дифференцируются идиобласты, заполненные дубильными веществами; наиболее многочисленны они у растений, обработанных раствором гумата калия.

Камбиальная зона у контрольных растений в этот период имеет толщину 3-4 клетки. Камбий откладывает преимущественно широкопросветные сосуды. У растений, обработанных гуминовыми удобрениями, камбиальная зона более мощная □□ включает 4-5 слоев клеток.

Под влиянием гумата калия увеличивается мощность развития вторичной ксилемы (толщина ее в контроле равна 0,59 мм, во II-ом и III-ем вариантах 0,66 мм и 0,64 мм), увеличивается диаметр сосудов в 1,75 раза.

Клетки сердцевинки во II-ом и III-ем вариантах оказались менее вакуолизированными, их размеры больше, межклетники крупнее.

Эпидерме стебля фасоли присуще развитие преимущественно двухклеточных трихом, выполняющих функцию защиты растений от перегрева и потери влаги. Их оболочки относительно быстро утолщаются, протопласты отмирают, полости клеток заполняются воздухом. У опытных растений они примерно на 20% длиннее, чем у контрольных. Таким образом, влияние гуматов проявляется и на этом признаке, растения оказываются более защищенными от высоких температур и потери воды, по сравнению с контрольными.

Раствор гумата калия 0,005% благоприятно воздействует и на эпидерму листьев фасоли, увеличиваются размеры покровных клеток, возрастают плотность и величина устьиц. Это благоприятствует более интенсивному газообмену, фотосинтезу, а, следовательно, более быстрым темпам роста растений и большему образованию органических веществ.

В конце виргинильного периода, в фазу скрытой бутонизации, когда в почву внесено уже значительное количество гуминовых препаратов, их влияние заметно проявляется только на внешней морфологии растений. К этому времени возрастные преобразования микроструктуры вызванные воздействием гуматов в основном завершились.

В фазу бутонизации растения уже полностью сформированы, высота их во II варианте была на 12%, а в III варианте на 27% больше, чем в контроле. Во время бутонизации рост срединных листьев достигал максимума. Разница в длине листовой пластинки между контролем и III вариантом составила примерно 2 см. У опытных растений увеличивалось общее число листьев, возрастали размеры листовых следов (табл. 4).

Таблица 4. Количественные морфологические показатели фасоли в период бутонизации

Морфологические параметры		I контроль	II	III
1. Высота растения, см		22,24±0,88	25,23±1,05	30,57±1,08
2. Число листьев		7,4±0,16	7,6±0,16	8,0±0,21
3. Размер листа срединной формации	длина, см	11,62±0,28	13,31±0,32	13,63±0,34
	ширина, см	6,71±0,14	7,11±0,16	7,17±0,12
4. Длина главного корня, см		18,32±0,86	29,74±1,41	30,42±1,40
5. Количество клубеньков		36,5±1,35	48,1±1,91	50,8±1,96

Заметные преобразования отмечены в корневой системе. Под действием гуминовых удобрений длина главного корня у опытных растений увеличилась по сравнению с контролем примерно на 40%; усилился процесс дифференциации азотфиксирующих клубеньков, количество их во II-ом и III-ем вариантах составило в среднем 48 и 50 соответственно, что примерно на 27% больше по сравнению с контролем.

В период бутонизации семядоли, играющие на ранних этапах онтогенеза важную роль в гетеротрофном питании, отмирали, также как и нижние листья, что обычно связано с выработкой в них абсцизовой кислоты.

О положительном влиянии 0,005% раствора гумата калия можно судить и по количественным анатомическим показателям растений разных вариантов. Выяснилось, что толщина первичной коры стебля у контрольных растений в 1,5 - 1,6 раз меньше, по сравнению с растениями из II-го и III-го вариантов. Более мощное развитие первичной коры связано как с большими размерами слагающих ее клеток, так и с увеличением их числа, что в известной мере подтверждает стимулирующее влияние гуматов на клеточные деления (табл. 5).

Таблица 5. Количественные анатомические показатели фасоли в фазу бутонизации

Анатомические признаки	I контроль	II	III
1. Толщина первичной коры стебля, мм	0,33±0,01	0,49±0,02	0,53±0,01
2. Число клеток первичной коры по радиусу	5,4± 0,17	6,2 1±0,19	6,41±0,20
3. Доля I флоэмы от толщи проводящих тканей	1/8	1/7	1/7
4. Доля II флоэмы от толщи проводящих тканей	1/8	1/7	1/7
5. Толщина ксилемы по радиусу, мм	0,68+ДОЗ	0,71±0,02	0,76±0,02
6. Диаметр сосудов, мм	0,05±0,002	0,07±0,001	0,08± 0,001
7. Диаметр клеток сердцевины, мм	0,15±0,004	0,16±0,004	0,17±0,004
8. Наличие трихом	+	+	+

В период бутонизации при одновременном усилении лигнификации отдельных элементов ксилемы, продолжают формироваться крупные сосуды. Вторичная флоэма имеет много ситовидных трубок и клеток-спутниц. Разница в толщине вторичной ксилемы у растений из контроля и III-го опытного варианта составляет примерно 11%. Диаметр сосудов у контрольных растений в среднем равен 0,05 мм, что на 28% меньше, по сравнению с фасолью из варианта II и на 37% меньше, чем у растений из варианта III. Таким образом, под влиянием гуминовых удобрений более мощно развивается проводящая система растения, что способствует усилению общего обмена веществ на данном этапе онтогенеза.

Растения, вступившие в период генеративного развития - цветения, также отличались своими размерами. Разница в высоте главного побега между контрольными и опытными растениями составила примерно 13%. Под влиянием внесенных в почву гуматов возросло количество листьев. У опытных растений длина листовой пластинки увеличилась на 13%, ширина - примерно на 35%, что видно из таблицы 6.

Таблица 6. Количественные морфологические показатели фасоли в период цветения

Морфологические параметры		I контроль	II	III
1. Высота растения, см		26,12±1,35	29,3±1,14	30,1±1,16
2. Число листьев		9,2±0,21	10,6±0,26	11,1±0,30
3. Размер листа срединной формации	длина, см	13,51±0,46	15,63±0,53	15,59±0,51
	ширина, см	6,93±0,15	10,67±0,24	10,81±0,25
4. Длина главного корня, см		24,3±1,35	33,8±1,70	33,2±1,79
5. Кол-во клубеньков		41,9±1,55	70,6±2,62	72,6±2,68
6. Количество цветков		19,0±0,66	22,3±0,44	24,1±0,44

При переходе в фазу цветения замедлялся рост главного корня и усиливалось его ветвление. Под действием гуминовых препаратов на данном этапе максимально разветвлена корневая система, на 40% возрастало число клубеньков по сравнению с контролем, что является очень важным показателем для сельскохозяйственного использования фасоли как азотфиксирующего растения.

Длина главного корня у опытных растений примерно на 27% превышала таковую в контроле.

Влияние гумата калия сказывалась и на развитии репродуктивной сферы, в частности, число цветков возрастало примерно на 20%. Заметные возрастные изменения претерпели и анатомические структуры вегетативных органов (табл.9).

У контрольных растений начиналось отмирание клеток первичной коры стебля, в то время как у опытных растений клетки оставались живыми и деятельными.

У цветущих растений происходит снижение активности камбия, утолщение оболочек их производных, что особенно четко прослеживалось у контрольных растений.

Элементы ксилемы подвергаются сильному одревеснению в эпикотиле и в гипокотиле; количество сосудов не увеличивается, что обусловлено уменьшением деятельности камбия. Однако, по сравнению с предыдущей фазой развития, диаметр

сосудов увеличивался почти на 30%, т.е. проводящая система остается еще достаточно мощной (табл.7).

Таблица 7. Количественные анатомические показатели фасоли в период цветения

Анатомические признаки	I контроль	II	III
1. Толщина первичной коры, мм	0,30±0,01	0,47±0,01	0,50±0,01
2. Число клеток первичной коры по радиусу	5,2±0,22	5,8±0,18	5,6±0,17
3. Доля I флоэмы от толщины проводящих тканей	1/8	1/6	1/6
4. Доля II флоэмы от толщины проводящих тканей	1/9	1/7	1/7
5. Толщина ксилемы по радиусу, мм	0,68±0,03	0,72±0,02	0,75±0,02
6. Диаметр сосудов, мм	0,08±0,002	0,11±0,003	0,11±0,003
7. Диаметр клеток сердцевинки, мм	0,13±0,005	0,15±0,004	0,16±0,004

Сердцевина разрушается, что особенно заметно у контрольных растений. Базальная часть стебля резко утолщается. Это связано с увеличением числа клеток первичной коры увеличением количества облитерированных элементов флоэмы при одновременном уменьшении числа функционирующих ситовидных трубок, пластические же вещества, идущие от нижних листьев побега, скапливаются в паренхиме нижней части стебля.

По сравнению с начальными этапами онтогенеза разница между плодоносящими растениями II-го и III-го вариантов сглаживалась по всем параметрам, что обусловлено одинаковым количеством внесенных в почву гуматов; предпосевная обработка семян уже практически не влияет на морфолого-анатомические показатели на более поздних этапах развития (табл.8, 9).

Таблица 8. Количественные морфологические показатели фасоли в период плодоношения

Морфологические параметры	I контроль	II	III	
1. Высота растения, см	26,18±1,12	30,71±0,99	31,31±1,08	
2. Число листьев	7.1±0.29	8.60±0.30	9.2±0.20	
3. Размер листа срединной формации	длина, см	13,52±0,73	15,41±0,66	15,63±0,75
	ширина, см	7,01±0,30	10,47±0,45	10,32±0,36
4. Длина главного корня, см	25,09±1,61	32,74±1,90	33,18±1,88	
5. Кол-во клубеньков	38,7±1,43	65,1±2,40	66,7±2,48	
6. Число бобов на растении	24,3±0,83	27,4±0,97	26,1±0,94	
7. Число семян в бобе	3,3±0,06	4,2±0,11	4,2±0,11	

Таблица 9. Количественные анатомические показатели фасоли в фазу плодоношения

Анатомические признаки	I контроль	II	III
1. Толщина первичной коры мм	0,21±0,01	0,42±0,01	0,45±0,01
2. Число клеток первичной коры по радиусу	4,6±0,22	5,1±0,16	4,8±0,16
3. Доля I флоэмы от толщины проводящих тканей	1/8	1/7	1/7
4. Доля II флоэмы от толщины проводящих тканей	1/9	1/7	1/7
5. Толщина ксилемы по радиусу, мм	0,67±0,03	0,70±0,02	0,71±0,02

- Таким образом, достоверно установлено, что гуминовые препараты:
- 1) стимулируют процессы клеточного деления, продлевают жизненные процессы протопластов, замедляя старение клеток.
 - 2) увеличивают мощность развития камбия и его производных - вторичной ксилемы и флоэмы и таким образом, способствуют большей защищенности растений от высоких температур и потерь воды, по сравнению с контрольными.
 - 3) благоприятно воздействуют на эпидерму листьев фасоли, увеличивая размеры покровных клеток, плотность и величину устьиц, что способствует более интенсивному газообмену, фотосинтезу, а, следовательно, более быстрым темпам роста растений и большему образованию органических веществ. Число и размеры листовых пластинок заметно возрастали у обработанных ГВ растений.
 - 4) ускоряют процессы морфогенеза, оказывая благотворное воздействие на развитие корневой системы и образование клубеньков, повышая интенсивность метаболизма.
 - 5) усиливают флоральный органогенез, в частности, возрастает число закладывающихся цветков и плодов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

- Ахундова В.А. 1979. Морфогенез и особенности потенциальной и реальной продуктивности однолетних бобовых растений. М.
- Барыкина Р.П. и др. 2004. Основы микротехнических исследований в ботанике. Справочное руководство. М.
- Ивченко Б. П. 2001. Выступление на научно-практическом семинаре «Опыт и перспективы применения гуминовых удобрений в сельском хозяйстве Ленинградской области»: Санкт-Петербург, 9 ноября 2001г.
- Лисов Н.Д. 1982. Морфофизиологическая характеристика культурных видов фасоли. Канд. дисс. М. 150 с.
- Прозина М.Н. 1960. Ботаническая микротехника. М. 206 с.
- Ржанова Е.И. 1975. Морфофизиологическая характеристика культурных видов трибы виковых. Докт. дисс. Л. 350 с.
- Ржанова Е.И., Петухова В.В., Иващук Е. 1962. Биологический контроль за развитием и ростом фасоли обыкновенной // Биологический контроль в сельском хозяйстве. М. С. 98 - 104.
- Цингер Н.В. 1958. Семя, его развитие и физиологические свойства. М.