

УДК 576.3:58.036:582.661.21:582.683.2

СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНІ ОСОБЛИВОСТІ КЛІТИН ЛИСТКІВ СУРІПИЦІ ОЗИМОЇ ТА ЩИРИЦІ ХВОСТАТОЇ ЗА УМОВ КОРОТКОЧАСНОЇ ДІЇ НИЗЬКОЇ ПОЗИТИВНОЇ ТЕМПЕРАТУРИ

© 2011 р. Д. О. Климчук, І. В. Косаківська, Ю. М. Акімов,
М. М. Щербатюк, Т. В. Воробйова

Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного
Національної академії наук України
(Київ, Україна)

Визначено особливості ультраструктурної організації клітин палісадної та губчастої тканин мезофілу, обгортки провідних пучків та епідермісу листків 25-добових рослин суріпиці озимої *Brassica campestris* var. *Olifera* та щириці хвостатої *Amaranthus caudatus* L., що належать до рослин з С-3 і С-4 типом фотосинтезу, за умов низької позитивної температури. Короткочасна (2 год) експозиція рослин за температури 4°C наприкінці темної фази фотоперіоду не відбивалася на анатомо-морфологічній будові листків. Водночас зміни ультраструктурної організації фотосинтетичного апарату й мітохондрію в клітинах мезофілу більшою мірою виявлялися у щириці хвостатої, ніж у суріпиці озимої. Зокрема, відзначено зниження реутилізації транзитного крохмалю в стромі хлоропластів щириці хвостатої та тенденцію до зниження його реутилізації у суріпиці озимої. Також виявлено тенденцію до зниження електронної щільності матриксу мітохондрій в рослинах обох дослідних видів. У хлоропластах щириці хвостатої спостерігалася тенденція до зниження розвитку периферійного пластидного ретикулуму.

Ключові слова: *Brassica campestris*, *Amaranthus caudatus*, *холодовий стрес*, *мезофіл*, *хлоропласт*, *мітохондрія*

Низька й висока температури належать до найбільш поширених факторів природного середовища, відхилення від оптимального значення яких спричинює суттєве зниження продуктивності рослин. Досить детально досліджений вплив низької позитивної температури на фотосинтетичні тканини. Залежно від рівня, тривалості дії та притаманної рослинам чутливості до холодного стресу ефекти низької температури (НТ) можуть виявлятися на субклітинному, клітинному і анатомічному рівнях (Балагурова и др., 1983; Wise et al., 1983; Чельцова, 1985; Kratsch, Wise, 2000; Saropulos, Drennan, 2007). Найбільш чутливими до низькотемпературного стресу вважаються хлоропласти фотосинтетичних тканин. Крім того,

різні види рослин відповідають на холодний стрес подібним спектром перебудови ультраструктурної організації. Останній включає набухання хлоропластів, зменшення розмірів і кількості крохмальних зерен, розширення тилакоїдів і руйнування гран, формування периферійного пластидного ретикулуму (ППР), накопичення пластоглобул в стромі органел, порушення цілісності оболонки (Taylor, Graig, 1971; Силаева, 1978; Балагурова и др., 1983; Musser et al., 1984; Gemel et al., 1986; Kratsch, Wise, 2000).

Низька температура викликала більший спектр перебудови ультраструктурної організації, наприклад, хлоропластів, з порушенням їх розміру, цілісності мембран оболонки тощо, у чутливих до холодного стресу рослин *Sorghum bicolor* L., *Paspalum dilatatum* Poir. (Taylor, Craig 1971), *Episcia reptans* Mart. (Murphy, Wilson 1981), *Phaseolus vulgaris* L., *Gossypium*

Адреса для кореспонденції: Климчук Дмитро Олександрович, Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України, вул. Терещенківська, 2, Київ, 01601, Україна;
e-mail: microscopy@botany.kiev.ua

hirsutum L. (Wise et al. 1983), *Glycine max* L. (Musser et al. 1984), *Cucumis sativus* L. (Wise, Naylor, 1987), *Vigna radiata* L. (Ma et al. 1990), *Zea mays* L. (Pinhero et al. 1999, Sopher et al., 1999) та томатів і бобів (Holaday et al., 1992; Brüggemann et al., 1994). Водночас у стійких до холодного стресу рослин *Pisum sativum* L., *Brassica oleracea* var. *Acephala* (Wise et al., 1983, Wise and Naylor 1987), шпинату, озимого жита і ріпаку (Holaday et al., 1992; Hurry et al., 1994, 1995) виявляли лише набухання органел без порушення цілості мембран оболонки (Wise et al. 1983; Wise, Naylor, 1987).

Щодо реакції інших клітинних органел на низьку температуру відзначено відсутність помітних змін в ультраструктурі мітохондрій на фоні суттєвої перебудови фотосинтетичного апарату в листках тютюну (Nesler, Wernsman, 1980), кукурудзи (Taylor, Graig, 1971). Водночас набухання і дезінтеграція мітохондрій мали місце в листках чутливих до холоду рослин *Episcia reptans* Mart. (Murphy, Wilson, 1981), *Ephedra vulgaris* Richt. (Leddet, Geneves, 1982) і стійкої до холоду вівсяниці лугової (Балагурова и др., 1983). У не багатьох дослідженнях розглянуто структуру ядра, в організації якого виявлені порушення в конденсації хроматину у рослин *Saintpaulia ionantha* L. (Yan et al., 1996), зміни в кількості ядерць у *Triticum aestivum* L. (Gazeau, 1985) та реакцію клітин нефотосинтезуючих тканин на холододовий стрес (Аветисова, Кадыков, 1985; Sauter, Kloth, 1987; Gamalei et al., 1994; Ishikawa, 1996).

При тривалому витримуванні рослин в умовах помірної НТ відзначали посилення гідратації, потовщення листкової пластинки. Клітини мезофілу листків при цьому характеризувалися більшим вмістом цитоплазми і менш розвинутими вакуолями (Кислюк и др., 1983; Буболо и др., 1988). Кількість хлоропластів, мітохондрій, диктіосом й цистерн ендоплазматичного ретикулюму перевищувала відповідні контрольні показники (Мирославов и др., 1984; Аветисова, Кадыков, 1985; Буболо и др., 1988). Втім, тривале витримування рослин за відносно низької, наприклад 2°C, температури призводило до значного розширення внутрішнього простору тилакоїдів, акумуляції пластоглобул, порушення цілості гран і оболонки хлоропластів (Taylor, Graig, 1971; Wise et al. 1983; Ma et al. 1990; Wu et al., 1997).

Слід зазначити, що переважну більшість досліджень проведено під час світлової фази, а ультраструктурні аспекти відповіді рослин на холододовий стрес впродовж темної фази фо-

топеріоду в літературі висвітлені недостатньо. Тому, метою нашої роботи було вивчення короткотривалої дії низької (+4°C) позитивної температури наприкінці темної фази фотоперіоду на ультраструктурну організацію клітин листків 25-добових рослин суріпиці озимої та амаранту хвостатого, що відповідно належать до рослин з С-3 і С-4 типами фотосинтезу. Температура +4°C використовується в лабораторній практиці для тимчасової затримки росту рослин і вважається некритичною для розвитку. При цьому імовірний вплив тимчасового гальмування росту на подальший розвиток залишається поза увагою дослідників.

МЕТОДИКА

Рослинний матеріал. Відкаліброване насіння суріпиці *Brassica campestris* var. *Olifera* та щириці хвостатої *Amaranthus caudatus* L. прощували в вегетаційних стаканах діаметром 7 і висотою 10 см на комерційній ґрунтовій суміші Квіткова №1 (виробник ПП «Тамара», Україна). Стакани поміщали в ростову камеру з 15/9 (день/ніч) год фотоперіодом, освітленістю 5,5±0,5 клк (люмінесцентні лампи ДС-20, Росія), 75% відносною вологістю повітря і сталою 24±1°C температурою. До контейнерів щоденно вносили по 20 мл дистильованої води.

25-добові рослини суріпиці і щириці наприкінці темного періоду піддавалися дії низької позитивної температури. Для цього три стакани з кожного варіанта переносили на 2 год в холодильну камеру з температурою 4°C.

Електронна мікроскопія. Для електронно-мікроскопічного дослідження висічки діаметром 2 мм із середньої частини сформованих справжніх верхніх листків п'яти рослин фіксували розчином 3% (об./об.) глютаральдегіду ("Merck", Німеччина) в 0,1 М какодилатному буфері (рН 7,2) впродовж 3 год з подальшою дофіксацією 1% (об./об.) розчином тетраоксиду осмію в тому ж буфері впродовж 1 год за кімнатної температури і 12 год при 4°C. Зразки зневоднювали в етанолі зростаючої концентрації та вміщували у суміш епоксидних (Ерор 812-Araldite) смол згідно із загальноприйнятими процедурами (Климчук et al., 2001). Поперечні срібно-золотисті зрізи (60±10 нм товщиною) листкової пластинки отримували на ультрамікротомі LKB 8800, поміщали на покриті формваром мідні сітки, фарбували цитратом свинцю (Reynolds, 1963). Досліджували зразки в трансмісійному електронному мікроскопі JEM-1230 EX (JEOL, Японія) за прискорюючої напруги 80 кВ.

СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНІ ОСОБЛИВОСТІ

Статистичний аналіз. Морфометричний аналіз проводили за допомогою програми UTHSCSA Image Tool 3.0, використовуючи масштабну лінійку електронно-мікроскопічних зображень. Відхилення від середнього арифметичного вираховували за допомогою програми Excel пакета Microsoft Office 2003; достовірність різниці між середніми показниками в досліджуваних умовах визначали з рівнем ймовірності $P \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ

Електронно-мікроскопічні дослідження поперечних зрізів листової пластинки суріпиці

озимої і амаранту хвостатого включали аналіз ультраструктурної організації клітин палисадної і губчастої тканин мезофілу, обгортки провідних пучків та епідермісу.

Brassica campestris var. *Olifera*

Для анатомічної будови листків дослідних і контрольних рослин суріпиці озимої характерні округлої або овальної форми клітини мезофілу зі слабкою диференціацією на палисадну і губчасту паренхіму, розвинуті повітряні порожнини (рис. 1А-Б), з яких фотосинтезуючі клітини безпосередньо поглинають вуглекислоту. Хлоропласти на зрізах клітин мезофілу розташовані зазвичай по периферії, в безпосеред-

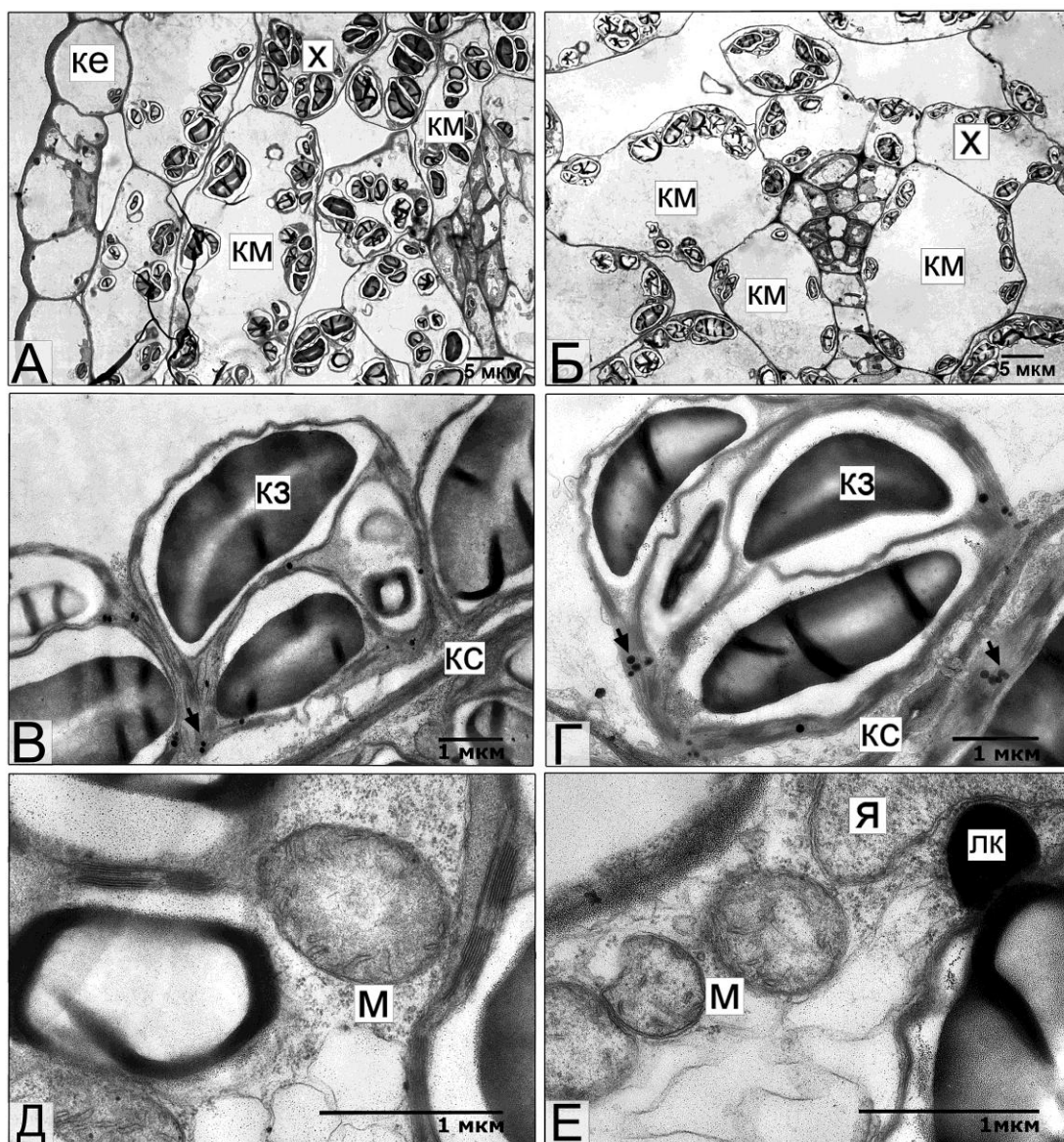


Рис. 1. Електронні мікрофотографії клітин листової пластинки (А, Б) хлоропластів (В, Г) і мітохондрій (Д, Е) клітин мезофілу 25-добових рослин *Brassica campestris* за умов короткочасної (2 год.) дії температури 4°C (А, В, Д) та в контролі (Б, Г, Е). Клітина мезофілу (КМ), клітина епідермісу (КЕ); хлоропласт (Х), крохмальне зерно (КЗ), пластоглобула – показана стрілкою, мітохондрія (М), ядро (Я), клітинна стінка (КС), ліпідна краплина (ЛК).

Таблиця 1. Ультроструктурні показники клітин мезофілу листків 25-добових рослин *Brassica campestris* за умов короткочасної (2 год) дії температури 4°C

Показник	Варіант	
	Контроль	+4 °C
Площа перерізу клітини (мкм ²)	443,86±16,53	464,05±12,41
Кількість хлоропластів на перерізі клітини	12,11±1,56	11,93±1,64
Площа хлоропласту (мкм ²)	26,16±1,21	29,84±1,67*
Площа крохмальних зерен у стромі хлоропласту (мкм ²)	13,98±1,12	15,92±1,15
Кількість мітохондрій на перерізі клітини	6,73±0,13	6,67±0,28
Площа мітохондрії (мкм ²)	0,46±0,27	0,48±0,23

Примітка: Тут і в табл. 2: * - статистично достовірна різниця між середніми показниками з рівнем ймовірності $P \leq 0,05$.

ній близькості до цитоплазматичної мембрани, містять помірно розвинуті грани, значні за розмірами крохмальні зерна, пластоглобули (60-90 нм в діаметрі). Зерна крохмалю в стромі органел оточені простором з низькою електронною щільністю, ширина якого в різних органелах може варіювати в значних (40-400 нм) межах (рис. 1А-Г). Зустрічаються мітохондрії переважно округлої форми з незначною варіабельністю розмірів, помірно розвинутими кристами (рис. 1Д-Е) та близьким значенням кількості органел на зріз дослідних і контрольних клітин (табл. 1). Ядро в клітинах мезофілу округлої форми з відносно рівними контурами оболонки, переважно з дифузним хроматином та округлим ядерцем. Диктіосоми, що в середньому склалися з п'яти-шести цистерн, та топографія цистерн гранулярного і агранулярного ретикулуму не мали помітних змін при порівнянні з контрольними. Гіалоплазма, як і в контролі, містила численні незв'язані рибосоми, полірибосоми та поодинокі ліпідні глобули.

На зрізах клітин верхнього і нижнього епідермісу виявлялися також поодинокі хлоропласти з меншими, ніж у клітинах мезофілу, розмірами та незначними за розмірами зернами крохмалю (рис. 1А-Б). Продихові клітини спостерігалися на абаксальній та адаксальній листових поверхнях.

Середня площа перерізу дослідних рослин дещо перевищувала контрольні показники (табл. 1). Розміри хлоропластів у клітинах мезофілу дослідних рослин були вищими, а вміст крохмалю в стромі органел відображав тенденцію до збільшення при порівнянні з контрольними (табл. 1; рис. 1А-С). Організація внутрішньої мембрани мітохондрій в клітинах дослідних рослин в цілому була близькою до контрольної, проте у частини дослідних органел відзначалося зниження електронної щільності матриксу (рис. 1Д-Е).

Amaranthus caudatus L.

Для анатомічної будови листків щиріці хвостатої в порівнянні з суріпицею озимою характерна наявність вираженої диференціації клітин мезофілу на палисадну і губчасту паренхіму (рис. 2А-Б). В стромі хлоропластів клітин мезофілу, окрім тилакоїдів строми, гран, крохмальних зерен і пластоглобул (60-90 нм в діаметрі), був присутній ППР (рис. 2Б). Крохмальні зерна в стромі хлоропластів, порівняно з суріпицею, значно менших розмірів та, подібно до останньої, оточувалися простором з відносно низькою електронною щільністю (рис. 2А-С; табл. 1, 2). Мітохондрії у клітинах мезофілу переважно округлої форми з дещо більш розвиненими кристами у порівнянні з суріпицею озимою (рис. 2Д-Е).

Ядро в листках дослідних і контрольних рослин щиріці хвостатої округлої форми з переважно дифузним хроматином та незначним, локалізованим по периферії, в безпосередній близькості до ядерної оболонки, вмістом конденсованого хроматину, округлим ядерцем. Апарат Гольджі з незначною кількістю везикул диктіосом та цистерни гранулярного й агранулярного ретикулуму без помітних змін порівняно з контрольними. Гіалоплазма, як і в контролі, містила численні вільні рибосоми, полірибосоми та поодинокі ліпідні глобули.

Клітини обгортки провідних пучків листків дослідних і контрольних рослин округлої форми, вакуолізовані, хоча і з більшим, ніж у клітинах мезофілу, вмістом цитоплазми. Хлоропласти з не меншим, ніж у клітинах мезофілу, вмістом крохмальних зерен, локалізувалися на боці, що прилягає до провідного пучка (рис. 2А-Б). Клітинні стінки суміжних клітин обгортки провідних пучків і мезофілу пронизані численними плазмодесмами.

СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНІ ОСОБЛИВОСТІ

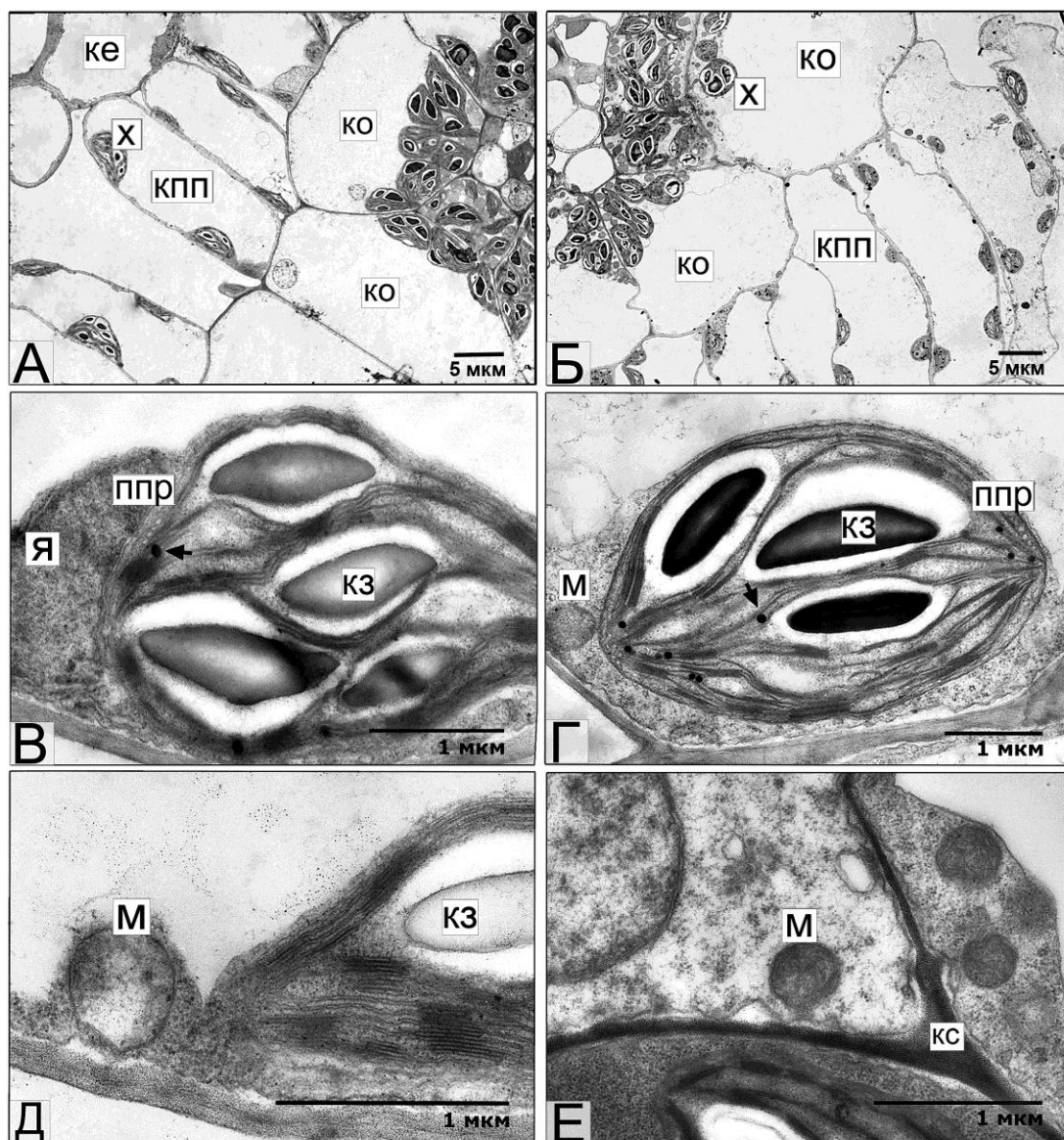


Рис. 2. Електронні мікрофотографії клітин листової пластинки (А, Б) хлоропластів (В, Г) і мітохондрій (Д, Е) клітин мезофілу 25-ти добових рослин *Amaranthus caudatus* за умов короткочасної (2 год.) дії температури 4°C (А, В, Д) та в контролі (Б, Г, Е). Клітина палисадної паренхіми (КПП), клітина обгортки (КО) провідних пучків, клітина епідермісу (КЕ); хлоропласт (Х), крохмальне зерно (КЗ), пластоглобула – показана стрілкою, периферійний пластидний ретикулум (ППР), мітохондрія (М), ядро (Я), клітинна стінка (КС), ліпідна краплина (ЛК).

Подібно до контрольних в епідермальних клітинах дослідних рослин виявлялися хлоропласти з менш розвинутою, ніж в клітинах мезофілу, мембранною системою та на зрізах частини органел з поодинокими зернами крохмалю (рис. 2А-Б). Особливістю їх структури була наявність в стромі поліморфних, частіше полігональних, включень, які за високих збільшень мікроскопу виявляли тонку фібрилярну текстуру. Кількість продигових клітин переважала на адаксальній поверхні листків.

Як і в листках суріпиці озимої, площа перерізу клітин мезофілу дослідних рослин щиріці хвостатої дещо перевищувала контрольний показник. Хлоропласти клітин мезофілу дослідних рослин мали відносно більший вміст крохмалю й тенденцію до зниження у розвитку ППР. Середня площа перерізу хлоропластів й мітохондрій у клітинах мезофілу дослідних рослин мала тенденцію до підвищення, а електронна щільність матриксу мітохондрій – до зниження при порівнянні з контрольними (табл. 2; рис. 2Д-Е).

Таблиця 2. Ультраструктурні показники клітин мезофілу листків 25-добових рослин *Amarantus caudatus* за умов короткочасної (2 год) дії температури 4°C

Показник	Варіант	
	Контроль	+4°C
Площа перерізу клітини (мкм ²)	428,75±11,34	447,15±8,98
Кількість хлоропластів на перерізі клітини	4,87±0,56	4,84±0,78
Площа хлоропласту (мкм ²)	15,51±1,63	16,93±1,47
Площа крохмальних зерен у стромі хлоропласту (мкм ²)	3,25±0,34	4,69±0,62*
Кількість мітохондрій на перерізі клітини	7,51±0,37	7,84±0,23
Площа мітохондрії (мкм ²)	1,03±0,27	1,12±0,24

ОБГОВОРЕННЯ

Проведений електронно-мікроскопічний аналіз виявив ряд відмінностей в структурній організації клітин листків суріпиці озимої та щиріці хвостатої, які зумовлені належністю їх, відповідно, до рослин з С-3 і С-4 типами фотосинтезу. Відомо, що оптимальний ріст рослин із С-4 типом фотосинтезу відбувається при більш високій (30-35°C), ніж рослин із С-3 типом фотосинтезу, денній температурі й інтенсивності освітлення. Вони відзначаються відносно вищими темпами росту (4-5 г сухої маси на 1 дм² листової поверхні) порівняно з рослинами із С-3 типом фотосинтезу (0,5-2,0 г сухої маси на 1 дм² листової поверхні), а також значно меншими витратами води (250-350 г і 450-950 г на 1 г сухої речовини, відповідно) (Гудвин, Мерсер, 1986). На відміну від рослин із С-3 типом фотосинтезу, провідні пучки рослин із С-4 типом фотосинтезу оточені щільно розташованими клітинами обгортки. Перетворення CO₂ у вуглеводи у них відбувається не тільки в реакціях циклу Кальвіна, які здійснюються, подібно до рослин із С-3 типом фотосинтезу, в клітинах палисадної та губчатої тканин мезофілу, але й в інших реакціях, що йдуть в клітинах обгортки провідних пучків (Гудвин, Мерсер, 1986). До особливостей ультраструктурної організації пластид рослин із С-4 типом фотосинтезу відносять також периферійний пластидний ретикулум (Laetsch, 1974; Wise, Harris, 1984), наявність якого пов'язують з посиленням обміном метаболітами.

Наведені вище характеристики рослин із С-3 і С-4 типами фотосинтезу добре простежуються на особливостях структурної організації досліджуваних нами представників суріпиці озимої та щиріці хвостатої. Так, на зрізах листків щиріці хвостатої виявилось в 2,5 рази менше, ніж у суріпиці озимої, хлоропластів, які відзначалися меншим вмістом крохмалю. Водночас значна кількість хлоропластів із високим вмістом крохмалю концентрувалася в клітинах

обкладки, які, завдяки чисельним плазмодесмам, перебувають в тісному контакті із клітинами мезофілу. Зазначені структурні особливості, ймовірно, зумовлюють відносно нижчу інтенсивність фотодихання, і, як результат, більшу продуктивність рослин із С-4 типом фотосинтезу.

Оцінка ступеня перебудови ультраструктурної організації клітин показала, що рослини щиріці хвостатої виявилися більш чутливими до низької температури порівняно із суріпицею озимою. Загальною реакцією рослин на низьку температуру було збільшення вмісту крохмалю в хлоропластах клітин мезофілу. Відомо, що пластидний крохмаль синтезується в світловій фазі фотоперіоду у вигляді крохмальних зерен і зазвичай гідролізується впродовж темної фази з утворенням розчинних моно- та олігосахаридів – основного джерела для росту рослин у нічний період. Вміст крохмалю в стромі пластид, співвідношення його з розчинними вуглеводами та активністю гідролітичних ферментів (α- та β-амілази) розглядаються як важливі показники реакції рослин на дію несприятливих температур (Atatsuma et al., 2005; Yano et al., 2005; Kitajima et al., 2009; Марковская и др., 2010).

Очевидно, що вищий вміст крохмалю в стромі хлоропластів дослідних рослин щиріці хвостатої й суріпиці озимої зумовлений зниженням його деградації, що узгоджується з даними інших авторів щодо зникнення або значного зниження вмісту крохмалю на фоні перебудови ультраструктурної організації пластид (зростання парціального об'єму стромы, зменшення кількості тилакоїдів в гранах тощо) за дії НТ впродовж світлової фази фотоперіоду (Taylor, Graig, 1971; Силаева, 1978; Балагурова и др., 1983; Musser et al., 1984; Gemel et al., 1986; Kratsch, Wise, 2000). Зниження деградації транзитного крохмалю в нашому дослідженні може бути зумовлене порушенням відтоку продуктів гідролізу крохмалю з органел в результаті зниження інтенсивності обмінних процесів

СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНІ ОСОБЛИВОСТІ

під дією холоду. Припускається, що продукти деградації крохмалю затримуються у вивільненому після його розпаду просторі. При цьому навколо залишків крохмальних зерен формується область низької електронної щільності, яка добре виявляється на електронних мікрофотографіях.

За даними літератури, холодний стрес супроводжується посиленням розвитку ППР. Його появу відзначали також і в листках рослин із С-3 типом фотосинтезу – бобів, бавовни (Wise et al, 1983), сої (Musser et al., 1984). Висунуто припущення, що пластидний ретикулум посилює транспорт метаболітів через внутрішню мембрану хлоропластів (Laetsch, 1974; Wise, Harris, 1984), регулюючи осмотичний потенціал органел, які набрякають за умов холодного стресу. Щодо нашого дослідження, тенденція до відносного зниження у розвитку ППР в листках щиріці хвостатої, як і тенденція до зниження інтенсивності деградації транзиторного крохмалю в хлоропластах, може відображати уповільнення обмінних процесів в органелах під дією низької температури.

Незважаючи на те, що мітохондрії порівняно з хлоропластами належать до органел, більш стійких до дії НТ (Taylor, Graig, 1971; Nesler, Wernsman, 1980; Wise et al., 1983; Wise, Naylor, 1987), і відомості, що холодний стрес викликає перебудову мітохондрій лише у дуже чутливих рослин (Wise et al., 1983, Wise, Naylor 1987), отримані нами результати відображають тенденції до збільшення площі перерізу органел у клітинах мезофілу щиріці хвостатої, зниження електронної щільності матриксу (більш вираженого в листках щиріці хвостатої, ніж суріпиці озимої). Такі ефекти в цілому узгоджуються з даними про набрякання, отриманими іншими авторами (Murphy, Wilson, 1981; Laddet, Gereves, 1982; Балагурова и др., 1983; Чельцова, 1985) на листках як чутливих до низької температури *Episcia reptans* Mart за експериментальних умов (5°C впродовж 6 год експозиції), близьких до таких у нашому дослідженні (Murphy, Wilson, 1981), так і нечутливих до низької температури рослин *Ephedra vulgaris* після 24-годинної експозиції при 2°C (Laddet, Gereves, 1982).

Проведене нами дослідження свідчить, що короткотривала експозиція суріпиці озимої та щиріці хвостатої – рослин з різними типами фотосинтезу – за температури +4°C спричинює зміни ультраструктурної організації клітин мезофілу, насамперед хлоропластів і мітохондрій. Одержані спектри ультраструктурної перебу-

дови клітин дозволяють віднести суріпицю озиму до відносно толерантних, а щиріцю хвостату – до більш чутливих до низької температури рослин, що узгоджується з даними літератури (Murphy, Wilson 1981). Слід зауважити, що вивчення білків листків суріпиці озимої і щиріці хвостатої за дії температурних стресів дозволило виявити молекулярні біомаркери стійкості цих видів, які мають однакову екологічну та різні біохімічні стратегії (Косаковская и др., 2010). Разом з тим, виявлене зниження деградації крохмалю в клітинах мезофілу листків щиріці хвостатої й суріпиці озимої може бути зумовлено як зниженням транспорту продуктів розпаду крохмалю, так і синтезу й транспорту крохмаль-деградуючих ферментів. У сучасних дослідженнях відзначається роль ендомембран – ендоплазматичного ретикулуму та апарату Гольджі – у метаболізмі крохмалю (Atatsuma et al., 2005; Kitajima et al., 2009; Hummel et al., 2010). З'являються дані щодо наявності везикулярного транспорту між мембранами ендоплазматичного ретикулуму, апарату Гольджі і зовнішньої мембрани оболонки пластид, за допомогою якого ферменти метаболізму крохмалю надходять у хлоропласт (Kitajima et al., 2009). Проте взаємозв'язок між цими органелами за умов несприятливих температур висвітлений недостатньо і потребує подальших досліджень.

Автори висловлюють щире вдячність д.с.-г.н. Д.Б. Рахметову за консультації при визначенні видів рослин і надання насінневого матеріалу.

ЛІТЕРАТУРА

- Аветисова Л.В., Кадыков В.А. Ультраструктура клеток апикальной меристемы побега пшеницы, развивающегося при низких положительных температурах. II. Цитоплазматические структуры // Цитология. – 1985. – Т. 27, № 1. – С. 28-32.
- Балагурова Н.И., Дроздов С.Н., Тихова М.А., Сулимова Г.И. Изменение ультраструктуры клеток листьев овсяницы луговой при холодном закаливании // Цитология. – 1983. – Т. 25, № 5. – С. 516-521.
- Буболо Л.С., Палеева Т.В., Кислюк И.М. Влияние температуры выращивания и кратковременной акклимации на ультраструктуру клеток, фотосинтез и дыхание листьев *Tradescantia albiflora* (Commelinaceae) // Ботан. журн. – 1988. – Т. 73. – С. 45-54.
- Гудвин Т., Мерсер Э. Введение в биохимию растений. – М.: Мир, 1986. – Т. 1. – 393 с.

- Кислюк И.М., Васьковський М.Д., Буболо Л.С., Палеева Т.В.* Влияние температуры на строение листьев и фотосинтез *Carex lugens* (Суревцеве) и *Arctagrostis arundinacea* (Розовцеве) // Ботан. журн. – 1983. – Т. 68. – С. 1325–1332.
- Косаковская И.В., Климчук Д.А., Блюма Д.А., Демиревская К.* Влияние температурных стрессов на белки и ультраструктуру растений с разными типами экологических стратегий // Вісн. Харків. націон. аграрн. ун-ту. Серія Біологія. – 2010. – Вип. 1 (19). – С. 34-43.
- Марковская Е. Ф., Шерудило Е. Г., Галибина Н. А., Сысоева М. И.* Роль углеводов в реакции теплолюбивых растений на кратковременные и длительные низкотемпературные воздействия // Физиология растений. – 2010. – Т. 57, № 5. – С. 687-694.
- Мирославов Е.А., Кислюк И.М., Шухтина Г.Г.* Ультраструктура клеток, дыхание и фотосинтез листьев озимой пшеницы, выращенной в контролируемых условиях при разной температуре // Цитология. – 1984. – Т. 26, № 6. – С. 672-677.
- Силаева А.М.* Структура хлоропластов и факторы среды. – Киев: Наук. думка, 1978. – 202 с.
- Чельцова Л.П.* Изменение содержания митохондрий в тканях пшеницы в условиях пониженной температуры. – Изв. АН СССР. Серия биологическая. – 1985. – №1. – С. 81-89.
- Asatsuma S, Sawada C, Itoh K. et al.* Involvement of alpha-amylase I-1 in starch degradation in rice chloroplasts // Plant Cell Physiol. – 2005. – V. 46. – P. 858-869.
- Brüggemann W., Klaucke S., Maas-Kantel K.* Long-term chilling of young tomato plants under low light. V. Kinetic and molecular properties of two key enzymes of the Calvin cycle in *Lycopersicon esculentum* Mill. and *L. peruvianum* Mill. // Planta. – 1994. – V. 194. – P. 160–168.
- Gamalei Y.V., Van Bel A.J.E., Pakhomova M.V., Sjutkina V.* Effects of temperature on the conformation of the endoplasmic reticulum and on starch accumulation in leaves with the symplastic minor-vein configuration // Planta. – 1994. – V. 194. – P. 443-453.
- Gazeau C.M.* Influence of the temperature and of the duration of a cryoprotective treatment on the cold resistance of wheat seedlings. Ultrastructure of the leaf primordia nucleolus // Can. J. Bot. – 1985. – V. 63. – P. 663-671.
- Gemel J., Golinowski W., Kaniuga Z.* Low-temperature induced changes in chloroplast ultrastructure in relation to changes of Hill reaction activity, manganese and free fatty acid levels in chloroplasts of chilling-sensitive and chilling-resistant plants // Acta Physiologiae Plantarum. – 1986. – V. 8. – P. 135-143.
- Holiday A.S., Martindale W., Alred R. et al.* Changes in activities of enzymes of carbon metabolism in leaves during exposure of plants to low temperature // Plant Physiol. – 1992. – V. 98. – P. 1105-1114.
- Hummel E., Osterrieder A., Robinson D. G., Hawes C.* Inhibition of Golgi function causes plastid starch accumulation // J. Exp. Bot. – 2010. V. 61. – P. 2603-2614.
- Hurry V.M., Malmberg G., Gardeström P., Öquist G.* Effects of a short-term shift to low temperature and of long-term cold hardening on photosynthesis and ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase and sucrose phosphate synthase activity in leaves of winter rye (*Secale cereale* L.) // Plant Physiol. – 1994. – V. 106. – P. 983–990.
- Hurry V.M., Strand Å., Tobiason M. et al.* Cold hardening of spring and winter wheat and rape results in differential effects on growth, carbon metabolism, and carbohydrate content // Plant Physiol. – 1995. – V. 109. – P. 697–706.
- Ishikawa H.A.* Ultrastructural features of chilling injury: injured cells and the early events during chilling of suspension-cultured mung bean cells // Amer. J. Bot. – 1996. – V. 83. – P. 825-835.
- Kitajima A, Asatsuma S, Okada H. et al.* The rice alpha-amylase glycoprotein is targeted from the Golgi apparatus through the secretory pathway to the plastids // Plant Cell. – 2009 – V. 21. – P. 2844-2858.
- Klymchuk D.O., Brown C.S. Chapman D.K et al.* Cytochemical localization of calcium in soybean root cap cells in microgravity // Adv. Space Res. – 2001. – V. 27, № 5. – P. 967-972.
- Kratsch H. A., Wise R. R.* The ultrastructure of chilling stress // Plant, Cell Environment. – 2000. – V. 23. – P. 337-350.
- Laetsch W.M.* The C4 syndrome: A structural analysis // Annu. Rev. Plant Physiol. – 1974. – V. 25. – P. 27-52.
- Leddet P.C., Geneves L.* Effects of low temperatures (+6 degrees C and +2 degrees C) on the fine structure of mitochondria and chloroplasts in the *Ephedra* tissues, cultivated in vitro // Annales Des Sciences Naturelles. – 1982. – V.13. – P. 27-49.
- Ma S., Lin C., Chen Y.* Comparative studies of chilling stress on alterations of chloroplast ultrastructure and protein synthesis in the leaves of chilling-sensitive (mungbean) and -insensitive (pea) seedlings // Botanical Bulletin of the Academia Sinica. – 1990. – V. 31. – P. 263-272.
- Murphy C., Wilson J.M.* Ultrastructural features of chilling-injury in *Episcia reptans* // Plant, Cell and Environment. – 1981. – V. 4. – P. 261-265.

СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНІ ОСОБЛИВОСТІ

- Musser R.L., Thomas S.A., Wise R.R. et al. Chloroplast ultrastructure, chlorophyll fluorescence, and pigment composition in chilling-stressed soybeans // *Plant Physiol.* – 1984. – V. 74. – P. 749-754.
- Nessler C.L., Wernsman E.A. Ultrastructural observations of extranuclear temperature-sensitive lethality in *Nicotiana tabacum* L // *Botanical Gazette.* – 1980. – V. 141. – P. 9-14.
- Pinhero R.G., Paliyath G., Yada R.Y., Murr D.P. Chloroplast membrane organization in chilling-tolerant and chilling-sensitive maize seedlings // *J. Plant Physiol.* – 1999. – V. 155. – P. 691-698.
- Reynolds S. The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy // *J. Cell Biol.* – 1963. – V. 17. – P. 208-212.
- Saropulos A.S., Drennan D.S.H. Ultrastructural alterations in mesophyll and bundle sheath chloroplasts of two maize cultivars in response to chilling at high irradiance // *Biol. Plant.* – 2007. – V. 51, № 4. – P. 690-698.
- Sauter J.J., Kloth S. Changes in carbohydrates and ultrastructure in xylem ray cells of *Populus* in response to chilling // *Protoplasma.* – 1987. – V. 137. – P. 45-55.
- Sopher C.R., Krol M., Huner N.P.A. et al. Chloroplastic changes associated with paclobutrazol-induced stress protection in maize seedlings // *Can. J. Bot.* – 1999. – V. 77. – P. 279-290.
- Taylor A.O., Craig A.S. Plants under climatic stress. II. Low temperature, high light effects on chloroplast ultrastructure // *Plant Physiol.* – 1971. – V. 47. – P. 719-725.
- Wise R.R., Harris J.B. The three-dimensional structure of the *Cyphomandra betacea* chloroplast peripheral reticulum // *Protoplasma.* – 1984. – V. 119. – P. 222-225.
- Wise R.R., McWilliam J.R., Naylor A.W. A comparative study of low-temperature-induced ultrastructural alterations of three species with differing chilling sensitivities // *Plant Cell Environ.* – 1983. – V.6. – P.525-535,
- Wise R.R., Naylor A.W. Chilling-enhanced photooxidation. The peroxidative destruction of lipids during chilling injury to photosynthesis and ultrastructure // *Plant Physiol.* – 1987. – V. 83. – P. 272-277.
- Wu J., Lightner J., Warwick N., Browse J. Low-temperature damage and subsequent recovery of fab1 mutant *Arabidopsis* exposed to 2°C // *Plant Physiol.* – 1997. – V. 113. – P. 347-356.
- Yano R., Nakamura M., Yoneyama T., Nishida I. Starch-related alpha-glucan/water dikinase is involved in the cold-induced development of freezing tolerance in *Arabidopsis* // *Plant Physiol.* – 2005. – V. 138. – P. 837-846.
- Yun J.G., Hayashi T., Yazawa S., Katoh T., Yasuda Y. Acute morphological changes of palisade cells of *Saintpaulia* leaves induced by a rapid temperature drop // *J. Plant Research.* – 1996. – V. 109. – P. 339-342.

Надійшла до редакції
12.08.2011 р.

STRUCTURE-FUNCTIONAL PECULIARITIES OF *BRASSICA CAMPESTRIS* AND *AMARANTUS CAUDATUS* LEAVE CELLS UNDER LOW POSITIVE TEMPERATURE

D. O. Klymchuk, I. V. Kosakivska, Yu. M. Akimov,
M. M. Shcherbatyuk, T. V. Vorobyova

*M.G. Kholodny Institute of Botany
of the National Academy of Sciences of Ukraine
(Kyiv, Ukraine)*

Ultrastructural peculiarities of mesophyll, bundle sheath and epidermis cells in leaves of *Brassica campestris* var. *Olifera* and *Amaranthus caudatus* L., belonging to plants with C-3 and C-4 carbon fixation, respectively, under low positive temperature conditions are presented. Short term (2 h) plant exposure at the end of the dark period to 4°C does not affect the leaf anatomy-morphologic properties. At the same time, revealed ultrastructural alterations in mesophyll chloroplasts and mitochondria were more expressed in *A. caudatus* than *B. campestris* leaves. In particular, chloroplasts with less degraded starch granules in *A. caudatus* and the tendency to less degraded starch granules in *B. campestris* as well as mitochondria with tendency to less electron opaque matrix were

КЛИМЧУК та ін.

noted in the both stressed species. In addition, *A. caudatus* mesophyll chloroplasts had less developed peripheral reticulum.

Key words: *Brassica campestris*, *Amaranthus caudatus* chilling stress, mesophyll, chloroplast, mitochondrion

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ КЛЕТОК ЛИСТЬЕВ СУРЕПИЦЫ ОЗИМОЙ И АМАРАНТА ХВОСТАТОГО В УСЛОВИЯХ КРАТКОВРЕМЕННОГО ДЕЙСТВИЯ НИЗКОЙ ПОЛОЖИТЕЛЬНОЙ ТЕМПЕРАТУРЫ

Д. А. Климчук, И. В. Косаковская, Ю. Н. Акимов,
Н. Н. Щербатюк, Т. В. Воробьева

*Институт ботаники им. Н.Г. Холодного
Национальной академии наук Украины
(Киев, Украина)*

Приведены особенности ультраструктурной организации клеток палисадной и губчатой тканей мезофилла, обкладки проводящих пучков и эпидермиса листьев 25-суточных растений сурепицы озимой *Brassica campestris* var. *Olifera* и амаранта хвостатого *Amaranthus caudatus* L., принадлежащих к растениям, соответственно, с С-3 и С-4 типами фотосинтеза, в условиях низкой положительной температуры. Краткосрочная (2 ч) экспозиция растений при 4°C в конце темновой фазы фотопериода не отображалась на анатомо-морфологической организации листьев. В то же время перестройка ультраструктурной организации фотосинтетического аппарата и митохондрия клеток мезофилла в большей степени была выражена в листьях амаранта хвостатого, чем сурепицы озимой. В частности, отмечены снижение реутилизации транзитного крахмала в стромах хлоропластов амаранта хвостатого и тенденция к снижению его реутилизации у сурепицы озимой. Также выявлена тенденция к снижению электронной плотности матрикса митохондрий у обоих опытных растений. Кроме того, в хлоропластах листьев опытных растений амаранта хвостатого наблюдалось снижение развития периферического пластидного ретикулума.

Ключевые слова: *Brassica campestris*, *Amarantus*, *холодовой стресс*, мезофилл, хлоропласт, митохондрия