

УДК 576.3:632.111.8:582.661.21+582.683.2

## **СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНІ ОСОБЛИВОСТІ КЛІТИН ЛИСТКІВ СУРІПИЦІ ОЗИМОЇ ТА ЩИРИЦІ ХВОСТАТОЇ ЗА УМОВ КОРОТКОЧАСНОЇ ДІЇ ВИСОКОЇ ТЕМПЕРАТУРИ**

© 2012 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)*

Досліджено особливості ультраструктурної організації клітин палисадної і 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, відповідно, з С-3 і С-4 типами фотосинтезу, за умов високої температури. Короткочасна (2 год) експозиція рослин при 40°C не позначалася на загальній анатомо-морфологічній будові листків. Водночас спектр перебудови субклітинної організації клітин у суріпиці озимої був більш помітним, ніж щириці хвостатої. Зокрема, виявлено зниження вмісту крохмалю у стромі хлоропластів, появу електронно-щільних глобул, асоційованих з мембранами ендоплазматичного ретикулуму й цитоплазматичної мембрани, збільшення кількості ліпідних глобул в гіалоплазмі клітин суріпиці озимої. В клітинах мезофілу щириці хвостатої виявлено збільшення кількості ліпідних глобул в гіалоплазмі, тенденцію до підвищення розвитку периферійного пластидного ретикулуму.

**Ключові слова:** *Brassica campestris, Amaranthus caudatus, високотемпературний стрес, мезофіл, хлоропласт, мітохондрії, гранули теплового шоку*

Оптимальний ріст і розвиток більшості видів сільськогосподарських та дикорослих рослин відбувається у певному температурному діапазоні, відхилення від якого призводить до зниження продуктивності. Глобальне потепління, що спостерігається впродовж останніх десятиліть, прогнозоване подальше підвищення температури можуть негативно позначитися на рослинності, її різноманітності, видовому складі рослинних угруповань. У зв'язку з цим зростає актуальність дослідження механізмів терморезистентності рослин і пошуку практичних шляхів її підвищення. Основний орган фотосинтезу – листок, що виявляє фенотипічну пластичність за дії екстремальних факторів навколишнього середовища (Кордюм и др., 2003; Atkin et al., 2006), виступає фундаментальною мо-

деллю для вивчення впливу потепління на ріст рослин.

Незважаючи на те, що вплив температурних стресів досліджується впродовж багатьох десятиріч, ультраструктурні аспекти реакції рослин на дію високої температури (ВТ) порівняно з фізіологічними та біохімічними в літературі висвітлені недостатньо. Разом з тим, відомо, що перебудова ультраструктурної організації клітин залежить від рівня, тривалості високо-температурного стресу, виду рослин, комплексу інших супутніх несприятливих факторів. Наприклад, ВТ часто поєднується з високою інсоляцією та дефіцитом вологи, тоді як низька температура супроводжується недостатньою освітленістю й надлишком вологи.

Резистентність рослин до дії ВТ залежить від фази онтогенезу. Найбільш стійкі рослини в стані спокою (насіння, цибулини), найменш – впродовж періоду проростання. У міру росту й розвитку резистентність рослин підвищується. Проте, у період формування гамети рослини та-

---

*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

кож виявляють високу чутливість до температурних стресів. При високотемпературному, як і при низькотемпературному стресах надземна частина, особливо листок, більш уразлива порівняно з кореневою системою.

В структурній організації хлоропластів мезофільних тканин – найбільш чутливих до високотемпературного стресу виявлено зміни у морфології органел, розмірах тилакоїдів, гранальності (Smile, 1978; Шаркова, Буболо, 1996; Кислюк и др., 2004, 2007, 2008; Salem-Fnayou et al., 2011), накопиченні пластоглобул (Кислюк и др., 2007; Salem-Fnayou et al., 2010). На фоні зазначених змін, виявлено зниження вмісту крохмалю (Tong-Xiang et al., 2009; Jin et al., 2011), яке також виявляється в пластидах клітин меристеми й розтягу кореневого апексу (Хохлова и др., 1987; Liu et al., 2009), ендосперму зернівок (Wallwork et al., 1998; Commuri, Jones, 1999; Yamakawa, Nakata, 2010; Hurkman, Wood, 2011). Втім, в клітинах мезофілу листків платану (Velikova et al., 2009), томату (Sam et al., 2001), бобів (Lambrevia et al., 2005) виявлено більш інтенсивний порівняно з контрольним синтез крохмалю, який пов'язують з впливом сублетальних та летальних температур. За результатами досліджень останні для більшості рослин починаються з 36°C і вище (Chen et al., 1988; Палева и др., 1993; Velikova et al., 2009).

Серед реакцій інших клітинних органел за дії ВТ відзначено зменшення кількості крист (Палева и др., 1993; Ciamporova, Mistrik, 1993; Pareek et al., 1997), електронної щільності матриксу мітохондрій (Ciamporova, Mistrik, 1993); зміни морфології ядра, ядерця зі зникненням в ньому гранулярного компонента, електронної щільності нуклеоплазми (Neumann et al., 1984; Хохлова и др., 1987; Commuri, Jones, 1999). В окремих дослідженнях виявлено посилену проліферацію каналів ендоплазматичного ретикулюму, асоційовану з високим рівнем рибосом (Хохлова и др., 1987), зниження товщини клітинної оболонки (Wallwork et al., 1998).

На високих збільшеннях електронно-мікроскопічних знімків в цитоплазмі, ядрі та деяких інших органелах за умов високотемпературного стресу, як і при дії інших несприятливих факторів (гіпоксії, засолення, осмотичного стресу), виявляються гранули теплового шоку (ГТШ) (Хохлова и др., 1987; Cooper, Ho, 1987; Mansfield, et al., 1988; Nover et al., 1989; Порфинова и др., 1992; Ciamporova, Mistrik, 1993). Показано, що до складу останніх входять високомолекулярні (68, 70, 104 кДа) та низько-

молекулярні (15-40 кДа) БТШ і мРНК, синтез яких відбувався за нормальних, достресових умов (Nover et al., 1984; Neumann et al., 1984; Порфинова и др., 1992; Singla, et al., 1998). Ви-сунуто припущення (Nover et al., 1984), що ГТШ зберігають мРНК для синтезу нормальних білків в післястресовий період.

Морфологія, кількість і локалізація ГТШ варіюють в залежності від рівня, тривалості стресу, тканинної специфіки (Хохлова и др., 1987; Палева и др., 1993; Pareek et al., 1997). Слід зазначити, що склад, локалізація та функції різних типів ГТШ досліджено не достатньо. Серед літературних джерел нам не відомі порівняльні дослідження щодо синтезу ГТШ у рослин з різними типами фотосинтезу, терморезистентності.

У зв'язку з наведеними вище даними, метою нашого дослідження було охарактеризувати ефекти короткострокової дії високої (40°C) температури на ультраструктурну організацію клітин листків суріпиці озимої й амаранту хвостатого, що належать, відповідно, до рослин з С-3 і С-4 типами фотосинтезу і різних типів екологічної стратегії (Косаковская и др., 2010).

## МЕТОДИКА

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

25-добові рослини суріпиці озимої й щириці хвостатой на початку світлової фази фотоперіоду піддавалися дії ВТ. Для цього три стакани з кожного варіанта переносили на 2 год у термостат з попередньо установленою освітленістю й температурою 40°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.) глутаральдегіду ("Merck", Німеччина) в 0,1 М какодилатному буфері (рН 7,2) впродовж 3 год з подальшою

## СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНІ ОСОБЛИВОСТІ

дофіксацією 1 % (об/об) розчином тетраоксиду осмію в тому ж буфері, впродовж 1 год за кімнатної температури та 12 год при 4°C. Зразки зневоднювали в етанолі зростаючої концентрації та вміщували у суміш епоксидних смол (Epon 812-Araldite) згідно із загальноприйнятими процедурами (Klymchuk et al., 2001). Поперечні сріблясто-золотисті зрізи (60±10 нм товщиною) листкової пластинки отримували на ультрамікроскопі LKB 8800, фарбували цитратом свинцю (Reynolds, 1963) й досліджували в трансмісійному електронному мікроскопі JEM-1230 (JEOL, Токіо, Японія) за прискорюючої напруги 80 кВ.

*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 ймовірністю не меншою, ніж 95% ( $p \leq 0,05$ ).

### РЕЗУЛЬТАТИ

Електронно-мікроскопічні дослідження поперечних зрізів листкової пластинки суріпиці озимої й амаранту хвостатого включали аналіз ультраструктурної організації клітин палисадної і губчастої тканин мезофілу, обгортки провідних пучків та епідермісу.

*Brassica campestris* var. *Olifer*. Для анатомічної будови листків суріпиці озимої характерні вакуолізовані, здебільшого овальної форми клітини палисадної паренхіми та округлої форми клітини губчастої паренхіми. Проте диференціація між останніми була виражена слабо. Площа перерізу клітин мезофілу в дослідних зразках була нижчою, порівняно з контролем (табл. 1). На діаметральному зрізі клітин мезофілу дослідних і контрольних рослин в серед-

ньому виявлялося 12-13 хлоропластів. Останні розташовувалися переважно по периферії, в безпосередній близькості до цитоплазматичної мембрани (ЦМ). Внутрішня мембранна структура хлоропластів представлена тилакоїдами стромі і гран. В стромі хлоропластів також містилися значні за розмірами крохмальні зерна, пластоглобули (60-90 нм в діаметрі) у кількості 4-6 на зріз органели. Хлоропласти дослідних рослин у порівнянні з контрольними відзначалися меншими розмірами та нижчим вмістом крохмалю (табл. 1; рис. 1А-Г). У незначній частині органел виявлялося порушення цілісності мембран оболонки.

Мітохондрії переважно округлої, овальної, рідше видовженої форми з близькими значеннями площі перерізу й кількості органел на діаметральному зрізі дослідних і контрольних клітин та тенденцією до зниження кількості крист у дослідних органел при порівнянні з контрольними (рис. 1 Д-Ж). Ядра в клітинах мезофілу округлої форми з відносно рівними контурами оболонки, переважно з дифузним хроматином та округлим ядрцем. Диктіосоми у дослідних і контрольних зразках в середньому склалися з п'яти-шести цистерн, відмежовували близькі за кількістю й розмірами пухирці Гольджі.

На відміну від контрольних зразків, на цистернах ендоплазматичного ретикулому дослідних клітин виявлялися електроннощільні глобули з діаметром 30-40 нм (рис. 1 Д). Електроннощільні глобули дещо більших розмірів – 50-70 нм в діаметрі виявлено також в гіалоплазмі поблизу ЦМ (рис. 1 В). Дослідні клітини мезофілу в порівнянні з контрольними мали також більш звивистий контур й локальні порушення цілісності ЦМ. Їх гіалоплазма містила значно більшу кількість ліпідних глобул (рис. 1А-В, Е; табл. 1). У вакуолях спостерігалось підвищення інтенсивності автолітичних процесів, на що вказувало збільшення частоти появи мультівезикулярних тіл.

**Таблиця 1. Ультраструктурні показники клітин мезофілу листків 25-добових рослин *Brassica campestris* за умов короткочасної (2 год) дії високої (40°C) температури**

Показник	Варіант	
	Контроль	40°C
Площа перерізу клітини (мкм <sup>2</sup> )	451,13±15,41	412,76±16,97*
Кількість хлоропластів на перерізі клітини	12,71±1,06	12,54±1,23
Площа хлоропласту (мкм <sup>2</sup> )	26,93±1,31	22,54±1,95*
Площа крохмальних зерен у стромі хлоропласту (мкм <sup>2</sup> )	15,25±1,29	12,67±1,02*
Кількість ліпідних крапель на перерізі клітини	3,75±0,40	5,84±0,53*

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

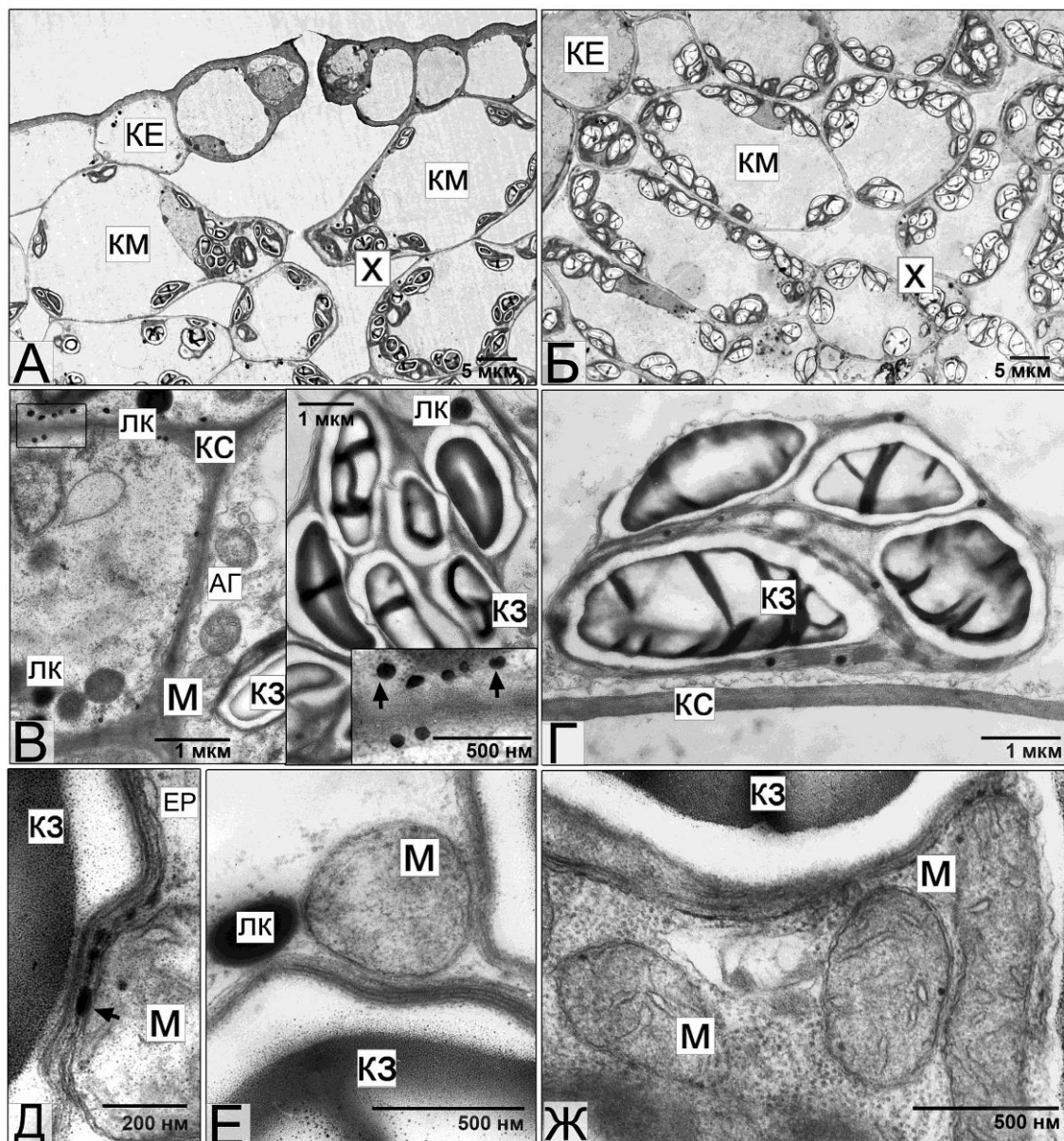


Рис. 1. Клітини листової пластинки (А, Б), хлоропласти (В, Г) і мітохондрії (Д-Ж) клітин мезофілу 25-добових рослин *Brassica campestris* за умов короткострокової (2 год) дії високої (40°C) температури (А, В, Д-Е) та в контролі (Б, Г, Ж). Скорочення: клітина мезофілу (КМ), клітина епідермісу (КЕ); хлоропласт (Х), крохмальне зерно (КЗ), мітохондрія (М), ядро (Я), клітинна стінка (КС), ліпідна краплина (ЛК). Електронно-щільні глобули показані стрілками.

На зрізах клітин верхнього і нижнього епідермісу виявлялися поодинокі хлоропласти менших, ніж у клітинах мезофілу, розмірів з невеликими за розмірами зернами крохмалю. Продихові клітини спостерігалися на абаксальній й адаксальній поверхнях. Як і клітини мезофілу, клітини епідермісу дослідних зразків порівняно з контрольними виявляли значно більшу кількість ліпідних глобул в гіалоплазмі.

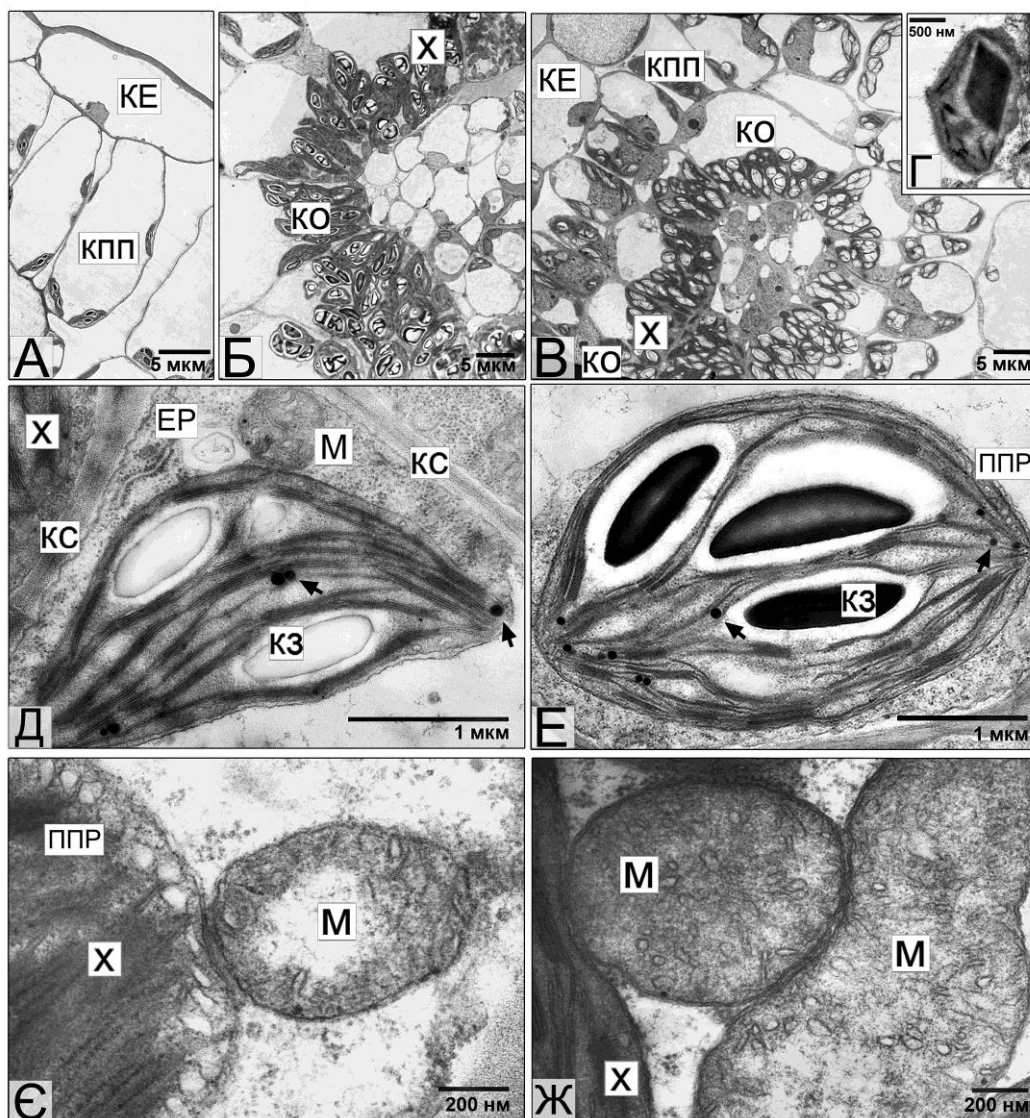
*Amaranthus caudatus* L. Для анатомічної будови листків щириці хвостатої порівняно з суріпицею озимію характерна наявність вираженої диференціації клітин мезофілу на паліса-

дну і губчасту паренхіму. Палісадна паренхіма представлена клітинами видовженої форми, губчаста – округлої або овальної форми (рис. 2А-В). Клітини мезофілу містили велику центральну вакуолю та розташовану тонким шаром вздовж клітинної оболонки цитоплазму. На по-вздовжньому зрізі клітин мезофілу виявлялося 4-5 хлоропластів (табл. 2; рис. 2А-В). Внутрішня мембранна структура хлоропластів була представлена тилакоїдами строми і гран. В строми органел виявлялися також крохмальні зерна, пластоглобули (60-90 нм в діаметрі), вільні рибосоми, периферійний пластидний ретикулум (ППР). Хлоропласти у клітинах мезофі-

## СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНІ ОСОБЛИВОСТІ

**Таблиця 2. Ультраструктурні показники клітин мезофілу листків 25-добових рослин *Amaranthus caudatus* за умов короткочасної (2 год) дії високої (40°C) температури**

Показник	Варіант	
	Контроль	40°C
Площа перерізу клітини (мкм <sup>2</sup> )	423,16±17,10	407,72±9,35
Кількість хлоропластів на перерізі клітини	4,82±0,33	4,75±0,41
Площа перерізу хлоропласту (мкм <sup>2</sup> )	15,76±1,12	14,30±1,17
Площа крохмальних зерен у стромі хлоропласту (мкм <sup>2</sup> )	3,50±0,48	3,02±0,40
Кількість ліпідних крапель на перерізі клітини	7,50±0,76	5,92±0,52*



**Рис. 2. Клітини листової пластинки (А-В), хлоропласти (Д-Е) і мітохондрії (Е-Ж) клітин мезофілу 25-добових рослин *Amaranthus caudatus* за умов короткочасної (2 год) дії високої (40°C) температури (А-Б, Д, Е) та в контролі (В-Г, Е, Ж). Скорочення: клітина палисадної паренхіми (КПП), клітина обкладки (КО) провідного пучка, клітина епідермісу (КЕ); хлоропласт (Х), крохмальне зерно (КЗ), периферійний пластидний ретикулум (ППР), мітохондрія (М), ендоплазматичний ретикулум (ЕР), клітинна стінка (КС), пластоглобула (показана стрілкою).**

лу дослідних рослин у порівнянні з контрольними характеризувалися значно вищим розвитком ППР (рис. 2Д-Е).

Мітохондрії переважно округлої, овальної, рідше видовженої форми з помірним роз-

витком крист й близькою кількістю органел на діаметральному зрізі дослідних і контрольних клітин (рис. 2Д, Е-Ж). В частині дослідних органел спостерігалось локальне зниження електронної щільності матриксу. Ядра у дослідних і

контрольних клітинах округлої форми з відносно рівними контурами оболонки, переважно з дифузним хроматином. Незначні за розміром глибини конденсованого хроматину локалізувалися на периферії, в безпосередній близькості до ядерної оболонки. В нуклеоплазмі виявлялося одне ядро округлої форми з гранулярним й фібрилярним компонентами.

В гіалоплазмі клітин мезофілу обох варіантів виявлялися диктіосоми з 5-6 цистернами та незначною кількістю везикул Гольджі, короткі цистерни гранулярного й агранулярного ретикулуму, численні вільні рибосоми, полірибосоми. Дослідні клітини у порівнянні з контрольними містили більшу кількість ліпідних крапель на перерізі (табл. 2).

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. 2Б-В). Мітохондрії характеризувалися більшими розмірами та більш розвинутими, ніж в клітинах мезофілу, кристами. Клітинні стінки суміжних клітин обгортки провідних пучків і мезофілу були пронизані плазмодесмами.

Подібно до контрольних, в епідермальних клітинах дослідних рослин виявлялися хлоропласти з менш розвинутою, ніж в клітинах мезофілу, мембранною системою та поодинокими зернами крохмалю на зрізах частини органел (рис. 2А-В). Особливістю їх структури була наявність в стромі поліморфних, частіше полігональних за формою, включень (рис. 2Г), які на високих збільшеннях електронного мікроскопа відображали тонку фібрилярну текстуру.

## **ОБГОВОРЕННЯ**

Проведений електронно-мікроскопічний аналіз дозволив виявити суттєві відмінності у відповіді клітин листків суріпиці озимої та щиріці хвостатої на короткострокову (2 год) дію високої (40°C) температури. Клітини мезофілу листків суріпиці озимої порівняно із щиріцею хвостатою виявляли значно ширший спектр перебудови субклітинної організації, який, ймовірно, зумовлений належністю їх до рослин з різними типами фотосинтезу. Відомо, що рослини із С-4 типом фотосинтезу відзначаються відносно вищими темпами росту, меншими витратами води, а завдяки високій фотосинтетичній ак-

тивності клітин обгортки провідних пучків, ефективнішим перетворення CO<sub>2</sub> на вуглеводи; їх оптимальний ріст відбувається при більш високій (30-35°C) температурі, ніж у рослин із С-3 типом фотосинтезу (Гудвин, Мерсер, 1986). До особливостей ультраструктурної організації пластид рослин із С-4 типом фотосинтезу відносять ППР (Laetsch, 1974; Wise, Harris, 1984), який пов'язує з посиленням обміном метаболітами.

Зниження розмірів клітин мезофілу листків суріпиці озимої узгоджується з даними літератури, зокрема, виявленими в дослідженні тривалої дії ВТ на розвиток і субклітинну організацію листків арабідопсису (Jin et al., 2011). Окрім зниження розмірів клітин мезофілу, авторами відзначено прискорення росту рослин, скорочення онтогенезу та зменшення загальної біомаси. Щодо нашого дослідження, зниження розмірів клітин може бути зумовлено втратою рослинами води через порушення стабілізації водного потенціалу клітин за рахунок осмотичної регуляції.

Зменшення вмісту крохмалю в клітинах мезофілу суріпиці озимої не суперечить даним літератури, згідно з якими зниження вмісту крохмалю або повне його зникнення в стромі пластид за дії ВТ спостерігаються не тільки в клітинах мезофілу листків (Smile, 1978; Шаркова, Буболо, 1996; Кислюк и др., 2004; Кислюк и др., 2007; Кислюк и др., 2008; Salem-Fnayu et al., 2010), а й меристеми і зоні розтягування кореневого апексу (Хохлова и др., 1987), ендосперму (Wallwork et al., 1998; Commuri, Jones, 1999; Yamakawa, Nakata, 2010; Hurkman, Wood, 2011). У дослідженні Джін і співавт. (Jin et al., 2011) вміст крохмалю в хлоропластах залежав від рівня тривалої дії ВТ. Так, при підвищенні температури на 2,5 і 5,0°C вміст крохмалю в листках арабідопсису знижувався і становив 53,7±2,36 і 48,8±4,3 мкг/мг сухої речовини, відповідно, порівняно з 61,4±5,7 мкг/мг у контролі (при фотоперіоді 23/18°C, день/ніч). Показано, що перебудова структурної організації хлоропластів супроводжується зниженням інтенсивності фотосинтезу, насамперед, через пригнічення активності Рубіско внаслідок теплової денатурації активази Рубіско (Demirevska-Kerova et al., 2005; Feller et al., 2008).

Виявлена нами тенденція до зменшення кількості крист мітохондрій в клітинах суріпиці озимої, як і зниження кількості крист органел в клітинах мезофілу суниці (Палева и др., 1993), рису (Pareek et al., 1997), арабідопсису (Jin et

## СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНІ ОСОБЛИВОСТІ

al., 2011), кореневого апексу кукурудзи (Ciamporova, Mistrik, 1993) за умов високотемпературного стресу відображають зміни процесів окиснювального фосфорилування, механізми яких повністю не з'ясовані (King et al., 2006).

Особливістю структурної організації клітин мезофілу й епідермісу дослідних рослин суріпиці було значне підвищення вмісту ліпідних глобул в гіалоплазмі. У цьому зв'язку, доцільно посплатися на результати, отриманні після 3-годинної експозиції рослин пшениці за температури 37-38°C. Виявлене збільшення об'єму хлоропластів, що відбувалося за рахунок підвищення в 1,4 раза тилакоїдів строми і гран, асоціювало з підвищенням в 1,5 раза вмісту ліпідів в органельних мембранах за рахунок галакто- і фосфоліпідів при близькому до контролю вмісті білка. Клітини мезофілу при цьому виявляли також удвічі більший вміст пластоглобул (Кислюк и др., 2007). Автори припускають, що під дією ВТ у зрілих хлоропластах сформувалися тилакоїди зі зміненою молекулярною структурою, яка характеризується підвищеним ліпід/білковим співвідношенням. Щодо нашого дослідження, накопичення ліпідних глобул в клітинах суріпиці озимої може свідчити про наявність в гіалоплазмі додакового джерела структурних компонентів триацилгліцеролів – жирних кислот і моноацилгліцеролів, що входять до складу ліпідних глобул, і водночас є структурними компонентами мембранних ліпідів.

Відомо, що за умов підвищення температури на 8-10°C від оптимальної в клітинах рослин відбувається «перепрограмування» геному, зміни у складі мРНК, розпад полісом, що синтезують білки, типові для нормальних умов, та поява полісом, що синтезують БТШ (Nover et al., 1984; Neumann et al., 1984; Порфірова и др., 1992; Singla, et al., 1998). Наслідком зазначених процесів є формування надмолекулярних комплексів, які на ультраструктурному рівні ідентифікуються у вигляді електроннощільних гранул. Одержані нами результати узгоджуються із такою перебудовою клітинного метаболізму у відповідь на дію ВТ. Електронно-щільні глобули двох типів, що за розмірами відповідають ГТШ, були виявлені в гіалоплазмі клітин мезофілу дослідних рослин суріпиці озимої. Зокрема, глобули з діаметром 30-40 нм були асоційовані з мембранами ендоплазматичного ретикулюму, локалізація яких може бути зумовлена місцем їх безпосереднього синтезу (Ciamporova, Mistrik, 1993; Pareek et al., 1997). Показано, що ГТШ (28-43 нм в діаметрі), вияв-

лені в гіалоплазмі клітин мезофілу листків арабідопсису після 2 год експозиції рослин при 37°C, збиралися у конгломерати близько 800 нм в діаметрі біля ядра і каналів ендоплазматичного ретикулюму (Порфірова и др., 1992). Щодо нашого дослідження, електронно-щільні глобули дещо більших розмірів (50-70 нм в діаметрі) локалізувалися також поблизу ЦМ. Враховуючи розміри останніх, локальні порушення ЦМ, ми схильні віднести їх до ГТШ, а не до Ca<sup>2+</sup>-зв'язуючих центрів ЦМ. Висловлено припущення (McKersie, Lesham, 1994), що виявлені в клітинах листків рису ГТШ (Pareek et al., 1997), які за локалізацією близькі з включеннями у нашому дослідженні, можуть брати участь у відновленні цілісності ЦМ у післястресовий період.

На відміну від суріпиці озимої, короткострокова експозиція рослин щиріці хвостатої за температури 40°C спричинювала менший спектр перебудов структурної організації клітин мезофілу, обгортки провідних пучків та епідермісу. В ультраструктурній організації хлоропластів клітин мезофілу відзначалася лише тенденція до більшого розвитку ППР. Нам відомі лише поодинокі дані літератури стосовно особливостей організації ППР при дії ВТ. Зокрема, при дослідженні ефектів освітленості на теплостійкість листків пшениці було показано, що низький (15 клк) її рівень знижував теплове пошкодження хлоропластів, а високий (15-100 клк) викликав деструкцію в чутливій частині популяції хлоропластів з ознаками розбухання ППР та початкового руйнування тилакоїдної системи (Кислюк и др., 2008). Щодо нашого дослідження, ми схилиємося до думки, що посилення розвитку ППР у дослідних клітинах щиріці хвостатої зумовлено прискоренням обмінних процесів органел з гіалоплазмою.

Подібно до суріпиці озимої в гіалоплазмі клітин мезофілу щиріці хвостатої виявлено вищий вміст ліпідних глобул. Враховуючи дані літератури стосовно пошкодження мембран пластид, ЕР, мітохондрій, ядра й цитоплазматичної мембрани за дії ВТ (Ciamporova, Mistrik, 1993; McKersie, Lesham, 1994; Pareek et al., 1997; Кислюк и др., 2008; Velikova et al., 2009), можна припустити, що накопичення ліпідних глобул відбувається за рахунок реутилізації жирних кислот й моноацилгліцеролів внаслідок катаболізму мембранних ліпідів. Супутнє утворення при цьому АТФ (Гудвін, Мерсер, 1986) може сприяти підтриманню енергетичного балансу клітин, що погіршується за умов високотемпературного стресу (Палева и др., 1993;

Ciamporova, Mistrik, 1993; Pareek et al., 1997; Jin et al., 2011).

Виявлені спектри ультраструктурних перебудов клітин дозволяють віднести суріпицю озими до відносно чутливих, а щиріцю хвостату – до резистентних до ВТ рослин. Слід зазначити, що у проведеному нами раніше дослідженні ультраструктурної організації клітин листків суріпиці озимої та амаранту хвостатого за умов короткострокової дії низької (4°C) позитивної температури, було виявлено протилежну тенденцію – рослини суріпиці озимої виявляли вищу резистентність порівняно з амарантом хвостатим (Климчук та ін., 2011).

Таким чином, проведені порівняльні електронно-мікроскопічні дослідження суріпиці озимої та щиріці хвостатої з С-3 та С-4 типами фотосинтезу, відповідно, свідчать про відмінності в спектрі структурних перебудов клітин листків у відповідь на короткострокову дію ВТ у цих видів, які, очевидно, характеризуються різними типами екологічної стратегії (Косаковская и др., 2010), набутої й генетично закріпленої в процесі еволюції при адаптації до змін факторів навколишнього середовища.

*Автори висловлюють щире подяку докт. с-г. наук Д.Б. Рахметову за консультації при визначенні видів рослин і надання насінневого матеріалу.*

## ЛІТЕРАТУРА

Гудвин Т., Мерсер Э. Введение в биохимию растений. – М.: Мир, 1986. – Т. 1. – С. 298-353.

Кислюк И.М., Буболо Л.С., Быков О.Д., Каменцева И.Е., Шерстнева О.А. Защитное и повреждающее действие видимого света на фотосинтетический аппарат пшеницы при гипертермии // Физиология растений. – 2008. – Т. 55. – С. 681-689.

Кислюк И.М., Буболо Л.С., Каменцева И.Е., Котлова Е.Р., Шерстнева О.А. Тепловой шок увеличивает терморезистентность фотосинтетического транспорта электронов, количество мембран и липидов в хлоропластах листьев пшеницы // Физиология растений. – 2007. – Т. 54. – С. 517-525.

Кислюк И.М., Буболо Л.С., Палеева Т.В., Шерстнева О.А. Термоиндуцированное увеличение устойчивости фотосинтетического аппарата пшеницы к совместному действию высокой температуры и видимого света. Фиксация CO<sub>2</sub>, фотосинтетические пигменты и ультраструктура хлоропластов // Физиология растений. – 2004. – Т. 51. – С. 507-515.

Климчук Д.О., Косаківська І.В., Акімов Ю.М., Щербатюк М.М., Воробйова Т.В. Структурно-функціональні особливості листків суріпиці ози-

мої та щиріці хвостатої за умов короткочасної дії низької позитивної температури. // Вісн. Харків. нац. аграрн. ун-ту. Серія Біологія. – 2011. – Вип. 3 (24). – С. 15-24.

Кордюм Е.Л., Сытник К.М., Бараненко В.В., Белявская Н.А., Климчук Д.А., Недуха Е.М. Клеточные механизмы адаптации растений к неблагоприятным воздействиям экологических факторов в естественных условиях. – Киев: Наук. думка, 2003. – 282 с.

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. нац. аграрн. ун-ту. Серія біологія. – 2010. – Вип. 1 (19). – С. 34-43.

Палеева Т.В., Буболо Л.С., Кислюк И.М. Влияние температуры на фотосинтез, дыхание и ультраструктуру клеток листьев земляники // Цитология – 1993. – Т. 35. – С. 60-69.

Порфирова С.А., Клюева П.Ю., Хохлова В.А., Кулаева О.Н. Влияние ингибиторов синтеза РНК и белка на ответ клеток листьев *Arabidopsis thaliana* (L.) на тепловой шок. 2. Локализация и синтез белков теплового шока // Физиология растений. – 1992. – Т. 39. – С. 524-632.

Хохлова В.А., Порфирова С.А., Седана А.В., Бурханова З.А. Действие теплового шока на ультраструктуру клеток и синтез белка в корнях тыквы // Физиология растений. – 1987. – Т. 34. – С. 869-878.

Шаркова В.Е., Буболо Л.С. Влияние теплового стресса на структуру тилакоидной системы хлоропластов в клетках зрелых листьев пшеницы // Физиология растений. – 1996. – Т. 43. – С. 409-417.

Atkin O.K., Loveys B.R., Atkinson L.J., Pons T.L. Phenotypic plasticity and growth temperature: understanding interspecific variability // J. Exp. Bot. – 2006. – V. 57. – P. 267-281.

Chen Y.R., Chou M., Ren S.S., Chen Y.M., Lin C.Y. Observations of soybean root meristematic cells in response to heat shock // Protoplasma. – 1988. – V. 144. – P. 1-9.

Ciamporova M., Mistrik I. The ultrastructural response of root cells to stressful conditions // Environ. Exp. Bot. – 1993. – V. 33. – P. 11-26.

Cooper P., Ho T.H. Intracellular localization of heat shock proteins in maize // Plant Physiol. – 1987. – V. 84. – P. 1197-1203.

Commuri P.D., Jones R.J. Ultrastructural characterization of maize (*Zea mays* L.) kernels exposed to high temperature during endosperm cell division // Plant,



## СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНІ ОСОБЛИВОСТІ

- Cell and Environment. – 1999. – V. 22. – P. 375-385.
- Demirevska-Kepova K., Hölzer R., Simova-Stoilova L., Feller U. Heat stress effects on Rubisco, Rubisco binding protein and Rubisco activase in wheat leaves // Biol. Plant. – 2005. – V. 49. – P. 521-525.
- Feller U, Anders I, Mae T. Rubiscolytics: fate of Rubisco after its enzymatic function in a cell is terminated // J. Exp. Bot. – 2008. – V. 59. – P. 1615-1624.
- Hurkman W.J., Wood D.F. High temperature during grain fill alters the morphology of protein and starch deposits in the starchy endosperm cells of developing wheat (*Triticum aestivum* L.) grain // J. Agric. Food Chem. – 2011. – V. 59. – P. 4938-4946.
- Jin B., Wang L., Wang J., Jiang K. Z., Wang Y., Jiang X.X., Ni C.Y., Wang Y.L., Teng N.J. The effect of experimental warming on leaf functional traits, leaf structure and leaf biochemistry in *Arabidopsis thaliana* // BMC Plant Biol. – 2011. – V. 11. – P. 35-45.
- King A.W., Gunderson C.A., Post W.M., Weston D.J., Wullschlegel S.D. Plant respiration in a warmer world // Science. – 2006. – V. 312. – P. 536-537.
- Klymchuk D.O., Brown C.S. Chapman D.K., Vorobyova T.V., Martyn G.M. Cytochemical localization of calcium in soybean root cap cells in microgravity // Adv. Space Res. – 2001. – V. 27, № 5. – P. 967-972.
- Laetsch W.M. The C4 syndrome: A structural analysis // Annu. Rev. Plant Physiol. – 1974. – V. 25. – P. 27-52.
- Lambrevia M., Stoyanova-Koleva D., Baldjiev G., Tsonov T. Early acclimation changes in the photosynthetic apparatus of bean plants during short-term exposure to elevated CO<sub>2</sub> concentration under high temperature and light intensity // Agric. Ecosyst. Environ. – 2005. – V. 106. – P. 219-232.
- Liu T.X., Zhang Z.S., Wang J.B., Li R.Q. Changes in abscisic acid immunolocalization in heat-stressed pepper seedling // Pak. J. Bot. – 2009. – V. 41. – P. 1173-1178.
- Mansfield M.A., Lingle W.L., Key J.L. The effects of lethal heat shock on nonadapted and thermotolerant root cells of *Glycine max* // J. Ultrastruct. Mol. Struct. Res. – 1988. – V. 99. – P. 96-105.
- McKersie B.D., Leshem Y.Y. Stress and stress coping in cultivated plants. – Dordrecht-Boston-London: Kluwer Academic Publishers, 1994. – 256 p.
- Neumann D., Scharf K.D., Nover L. Heat shock induced changes of plant cell ultrastructure and autoradiographic localization of heat shock proteins // Eur. J. Cell Biol. – 1984. – V. 34. – P. 254-264.
- Nover L., Hellmund D., Neumann D. Heat Shock Response of Eukaryotic Cells. – Biol. Zentralbl. – 1984. – V. 103. – P. 357-435.
- Nover L., K D Scharf K.D., Neumann D. Cytoplasmic heat shock granules are formed from precursor particles and are associated with a specific set of mRNAs // Mol. Cell Biol. – 1989. – V. 9. – P. 1298-1308.
- Pareek A., Singla S., Grover A. Short-term salinity and high temperature stress-associated ultrastructural alterations in young leaf cells of *Oryza sativa* L. // Ann. Bot. – 1997. – V. 80. – P. 629-639.
- Salem-Fnayou A.B., Bouamama B., Ghorbel A., Mliki A. Investigations on the leaf anatomy and ultrastructure of grapevine (*Vitis vinifera*) under heat stress // Microsc. Res. Tech. – 2011. – V. 74. – P. 756-762.
- Sam O., Nunez M., Ruiz-Sanchez M.C., Dell'Amico J., Falcom V., de la Rosa M.C., Seoane J. Effect of brassinosteroid analogue and high temperature stress on leaf ultrastructure of *Lycopersicon esculentum* // Biol. Plant. – 2001. – V. 44. – P. 213-218.
- Singla S.L., Pareek A., Kush A.K., Grover A. Distribution patterns of the 104 kDa stress-associated protein in rice // Plant Mol. Biol. – 1998. – V. 37. – P. 911-919.
- Smillie R.M., Critchley C., Bain J.M., Nott R. Effect of growth temperature on chloroplast structure and activity in barley // Plant Physiol. – 1978. – V. 62. – P. 191-196.
- Velikova V, Tsonev T, Barta C, Centritto M, Koleva D, Stefanova M, Busheva M, Loreto F. BVOC emissions, photosynthetic characteristics and changes in chloroplast ultrastructure of *Platanus orientalis* L. exposed to elevated CO<sub>2</sub> and high temperature // Environ Pollut. – 2009. – V. 157 (10). – P. 2629-2637.
- Wallwork M.A.B., Lenner C.F., Logue S.J., Sedgley M. Effect of high temperature during grain-filling on the structure of developing and malted barley grains // Ann. Bot. – 1998. – V. 82. – P. 587-599.
- Wise R.R., Harris J.B. The three-dimensional structure of the *Cyphomandra betacea* chloroplast peripheral reticulum // Protoplasma. – 1984. – V. 119. – P. 222-225.
- Yamakawa H., Hakata M. Atlas of rice grain filling-related metabolism under high temperature: joint analysis of metabolome and transcriptome demonstrated inhibition of starch accumulation and induction of amino acid accumulation // Plant Cell Physiol. – 2010. – V. 51. – P. 795-809.

Надійшла до редакції  
21.09.2011 р.

**STRUCTURE-FUNCTIONAL PECULIARITIES  
OF *BRASSICA CAMPESTRIS* AND *AMARANTHUS CAUDATUS*  
LEAVE CELLS UNDER HIGH TEMPERATURE**

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

*M.G. Kholodny Institute of Botany  
of 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 high temperature are presented. Short-term (for 2 h) plant exposures to 40°C at the beginning of the light period do not affect the leaf anatomy-morphologic properties. At the same time, revealed ultrastructural alterations were more expressed in *B. campestris* than *A. caudatus* leaf cells. In particular, reduction in chloroplast starch content, appearance of electreondence granules associated with the endoplasmic reticulum membranes and plasma membrane as well as accumulation of the lipid droplets in the hialoplasm were noted in *B. campestris* leaf cells. The *A. caudatus* mesophyll cells have showed an increase in the level of lipid droplets in the hialoplasm and more developed plastid peripheral reticulum.

**Key words:** *Brassica campestris*, *Amaranthus caudatus*, high temperature stress, mesophyll, chloroplast, mitochondrion, heat shock electreondence granules

**СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ  
КЛЕТОК ЛИСТЬЕВ СУРЕПИЦЫ ОЗИМОЙ И АМАРАНТА ХВОСТАТОГО  
В УСЛОВИЯХ КРАТКОВРЕМЕННОГО ДЕЙСТВИЯ ВЫСОКОЙ 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)*

Исследованы 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 с C-3 и C-4 типами фотосинтеза, в условиях высокой температуры. Кратковременная (2 ч) экспозиция растений при 40°C в начале световой фазы фотопериода не отображалась на анатомо-морфологической организации листьев. В то же время, выявленная перестройка субклеточной организации клеток в большей степени была выражена в листьях сурепицы озимой, чем амаранта хвостатого. В частности, обнаружено снижение содержания крахмала в стромах хлоропластов, появление электронно-плотных глобул, ассоциированных с мембранами эндоплазматической сети и цитоплазматической мембраной, увеличение количества липидных глобул в гиалоплазме клеток сурепицы озимой. В клетках мезофилла амаранта хвостатого высокая температура увеличивала количество липидных глобул в гиалоплазме, развитие периферического пластидного ретикулума.

**Ключевые слова:** *Brassica campestris*, *Amaranthus caudatus*, высокотемпературный стресс, мезофилл, хлоропласт, митохондрия, гранулы теплового шока