

УДК 581.1

**СЕДИМЕНТАЦИЯ АМИЛОПЛАСТОВ В КЛЕТКАХ ЧЕРЕШКОВ ВЕРХУШЕЧНЫХ  
ЛИСТЬЕВ РАСТЕНИЙ ТОМАТА ПРИ ДЕЙСТВИИ ГРАВИСТИМУЛЯЦИИ**

**С.В. Суховеева, Е.М. Кабачевская, И.Д. Вологовский**

*Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск*

Гравитропизм – способность органов растения к пространственной ориентации в направлении по отношению к вектору гравитационного поля Земли.

Понимание молекулярных и физиологических механизмов формирования гравитропического ответа растений является одной из ключевых проблем современной биологии.

Выделяют три основных этапа формирования гравитропического ответа: восприятие гравитационного сигнала, трансдукция сигнала, развитие ассиметричного ростового ответа, который вызывает изгиб органа растения и, в конечном итоге, восстановление его пространственной ориентации.

В ходе первичного этапа развития гравитропического ответа физический гравитационный стимул воспринимается внутриклеточными частицами статолитами, роль которых обычно выполняют амилопласты – непигментированные пластиды, содержащие два или несколько крупных крахмальных зерен. В побегах статолиты чаще всего локализируются в особых клетках статоцитах, формирующих обкладку сосудистых пучков и окружающих сосудистые ткани по всей длине стебля, в то время как в корнях они локализованы в корневом чехлике. При этом статоциты ведут себя как датчики наклона и начальным гравитационным стимулом выступает изменение положения статолитов внутри статоцитов [1]. При перемещении (седиментации) статолитов под действием силы тяжести в нижнюю часть статоцита запускается процесс восприятия гравитационного сигнала: давление статолитов на мембраны нижней части клетки приводит к ее механическому раздражению и инициации перераспределения потоков основного регулятора роста фитогормона ауксина. В результате ассиметричного перераспределения ауксин накапливается преимущественно на нижней стороне гравистимулированного органа. Различие его концентраций приводит к дифференциальному росту растяжением клеток растений на верхней и нижней сторонах зоны гравистимуляции растения, вследствие чего формируется гравитропический изгиб. Рост клеток растений, окруженных жесткой клеточной стенкой, возможен только при временном, обратимом расщеплении структурных элементов, обеспечивающих ее жесткость, что происходит при подкислении внутренней среды клеточной стенки и активации различных гидролаз. К числу фитогормонов, способных регулировать рост клеток растяжением могут относиться не только ауксины, действие которых достаточно подробно изучено, но также брассиностероиды (БС) и этилен.

Следует отметить, что гравитропический ответ растений в основном изучается в корнях и стеблях растений. Чувствительность листьев к гравистимуляции показана в единичных исследованиях.

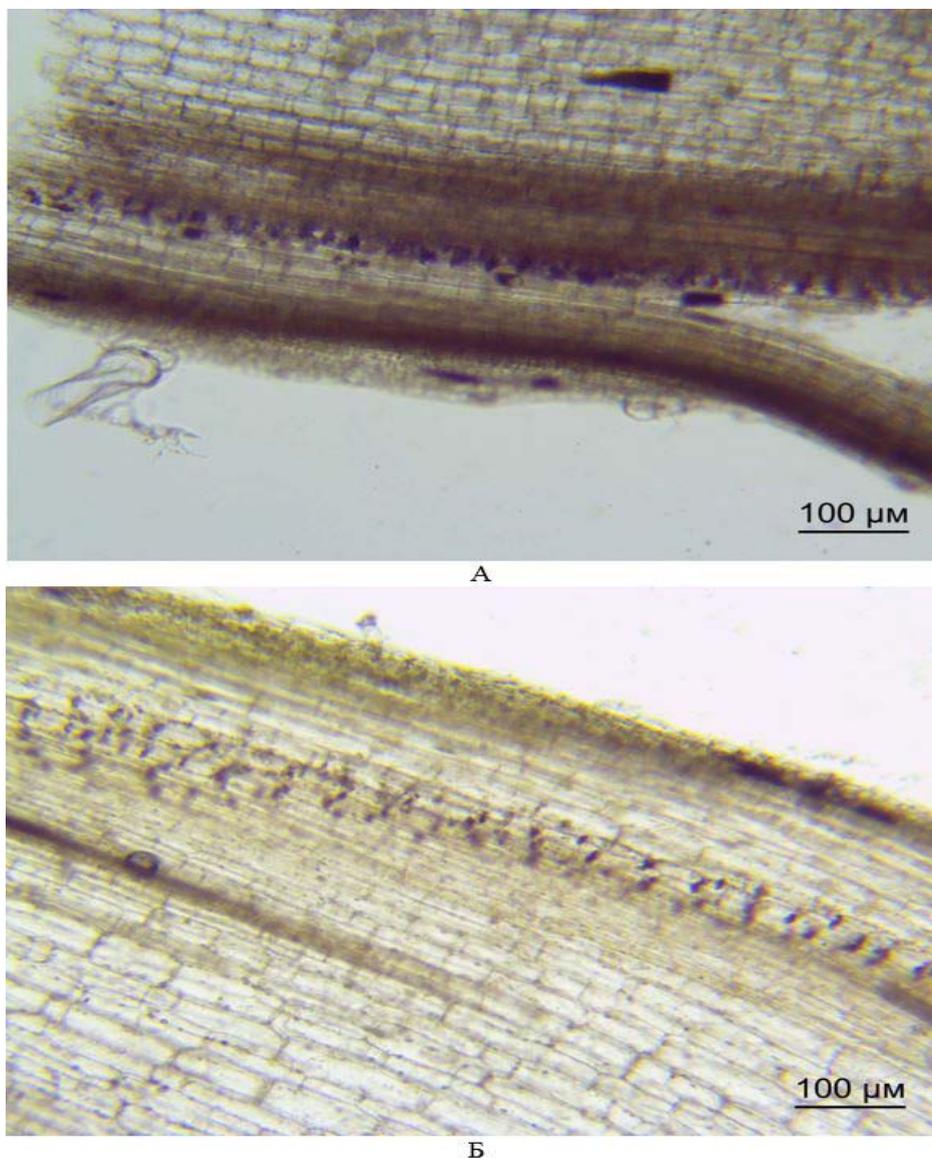
Целью данного исследования стала идентификация положения амилопластов в клетках черешков листьев томата (*Lycopersicon esculentum* L.) в различные временные интервалы после действия одиночного гравистимула, гравистимула и предшественника этилена этефона, гравистимула и синтетического брассиностероида эпина для того, чтобы оценить чувствительность листьев к гравистимулу и наличие в них реакции седиментации статолитов, аналогичное тому, что происходит в стеблях и корнях, а также возможную роль фитогормонов этилена и БС в регуляции гравитропического ответа листьев растений.

В качестве объекта исследования использовали молодые верхушечные листья 50-дневных растений томата. Растения выращивали при 16-часовом световом дне (освещение полихроматическим белым светом, 40 Вт, 150 мкмоль м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup>) при температуре 24°C. Гравистимуляция проводилась путем поворота растений на 90° относительно гравитационного вектора Земли. Для исключения побочного эффекта условий освещенности и возможного развития дополнительной фототропической реакции после поворота растений горизонтально, гравистимуляцию проводили в темноте, предварительно поместив растения контрольных и экспериментальных групп в темноту на 24 ч для адаптации. После адаптации растения поворачивались на бок и выдерживались в горизонтальном положении в течение различных промежутков времени (от 15 мин до 24 ч). Часть опытных растений обрабатывалась (до переноса растений в темноту и гравистимуляции ~~и~~ раствором этефона (Sigma, Germany) в концентрации 100 мг/л, либо раствором (200 мкл/л) эпина (производства ИБОХ НАНБ, ОАО «Белреахим») по одному разу в день в течение 8 дней.

Отбор растительной ткани контрольных и экспериментальных групп растений, проводился на неактивном для фоторецепторов растений тусклом зеленом свету (лампа накаливания 15 Вт, стеклянный светофильтр с максимумом пропускания 470-605 нм, 0,45 мкмоль м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup>). Верхушечные листья растений фиксировали в формалинуксусном спирте в течение 2 ч. После фиксации листья промывали в 70% этаноле и помещали в 2%-ный раствор йодида калия на 1 мин. Окрашенные черешки листьев осветляли в растворе, содержащем 5% глицерина и 50% хлоральгидрата. Анализировали полученные препараты с помощью световой электронной микроскопии.

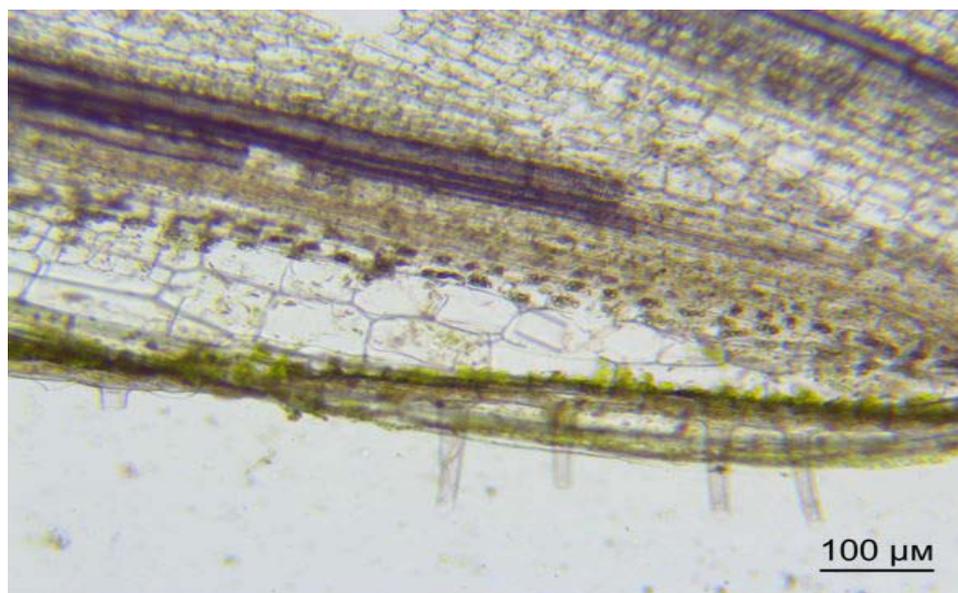
В результате микроскопических исследований срезов черешков верхушечных листьев 50-дневных растений томата нами были обнаружены группы амилопластов в нескольких слоях клеток оболочки пучка черешка листа (Рис. 1А). Осаждение амилопластов при гравистимуляции про-

исходило в соответствии с направлением силы тяжести (Рис. 1Б). Седиментация амилопластов была обнаружена в препаратах уже через 15 мин после гравистимуляции. При обработке растений эпином, как и в случае действия одной гравистимуляции, через 15 мин воздействия гравистимула, было обнаружено осаждение крахмальных зерен в сторону направления силы тяжести (Рис. 2А). Обработка источником экзогенного этилена этефоном значительно замедляла скорость седиментации амилопластов и их количество в черешках листьев по сравнению с контролем (Рис. 2Б). Первые изменения положения амилопластов при предварительной обработке этефоном обнаружены лишь через 1 час гравистимуляции, а не через 15 мин, как при других типах обработок.

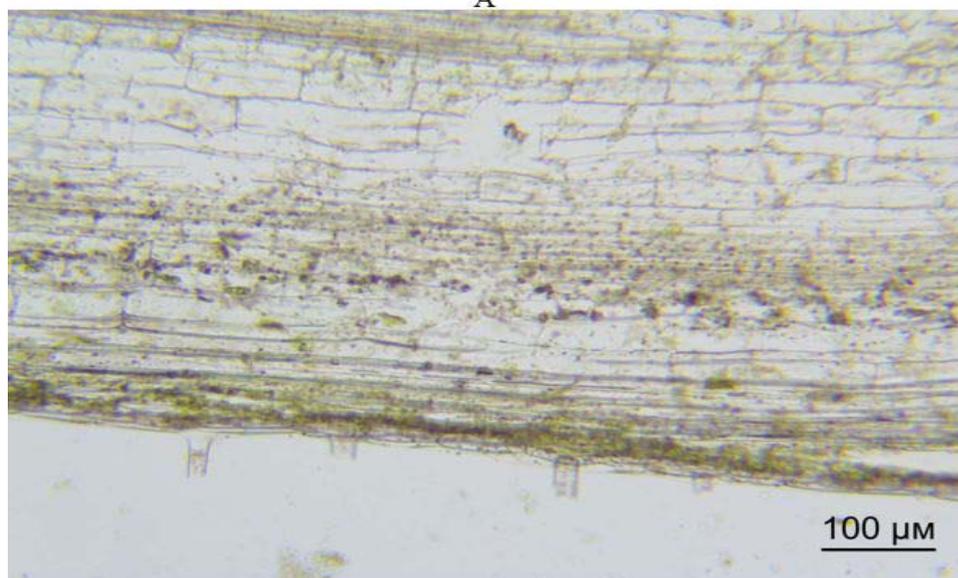


**Рисунок 1. – Амилопласты клеток черешков верхушечных листьев 50-дневных растений томата: А – в контрольной группе без гравистимуляции; Б – при переориентации растений через 15 мин гравистимуляции.**

Таким образом, проведена прямая микроскопическая демонстрация осаждения статолитов в эндодермальных клетках черешков листьев томата после гравистимуляции, также как это имеет место в стеблях и корнях растений. Следует отметить, что нами также зафиксированы движения листьев томата при действии гравистимуляции, которые происходят одновременно с формированием угла изгиба стебля и изменения уровня экспрессии многих генов, ассоциированных с транспортными, сигнальными и метаболическими процессами в клетке (данные не приведены), что согласуется с наблюдаемой седиментацией амилопластов под действием гравистимула. При этом, использованные фитогормоны, особенно этилен, довольно заметно влияли на процесс седиментации. Это обстоятельство также согласуется с тем фактом, что этилен сильно ингибировал формирование угла изгиба растений томата, а эпин его ускорял (данные не приведены).



А



Б

**Рисунок 2. – Гравитационная чувствительность амилопластов в клетках черешков верхушечных листьев 50-дневных растений томата при переориентации растений: А – при обработке эпином через 15 мин гравистимуляции; Б –при обработке этефоном через 1 ч гравистимуляции.**

Способность этилена заметно влиять на характер осаждения амилопластов при гравистимуляции может быть обусловлена влиянием этих фитогормонов на организацию цитоскелета клетки. Участие актиновых микрофиламентов цитоскелета в развитии гравитропического ответа у растений показано, например, в корнях арабидопсиса. Актиновый цитоскелет может выступать положительным регулятором гравитропизма, участвовать в поддержании везикулярного транспорта, а также может играть роль в формировании полярности клеток и распределении переносчиков ауксина в плазмалемме [2], и является неотъемлемым компонентом роста клеток растяжением [3], посредством которого развивается гравитропический изгиб органа. При изменении ориентации корней растений арабидопсиса относительно вектора силы тяжести происходит перестройка актиновых микрофиламентов в зоне растяжения – уменьшается доля аксиально ориентированных и возрастает количество наклонно и поперечно ориентированных микрофиламентов [4]. Организация актинового цитоскелета у растений при гравистимуляции может зависеть от их гормонального статуса [5, 6]. Однако механизмы взаимодействия между динамикой содержания фитогормонов и изменениями в организации цитоскелета в гравитропической реакции растений изучены недостаточно [7], поэтому с уверенностью говорить, связаны ли наблюдаемые нами различия в реакции черешков листьев томата на гравистимул без или на фоне действия этефона или эпина, с участием

цитоскелета, нельзя. Возможно, на фоне присутствия фитогормонов каким-то образом изменяется перемещение вакуоли.

Важно отметить, что наличие специализированных для восприятия гравитационного сигнала органелл амилопластов и их быстрая седиментация в ответ на гравистимул в черешках свидетельствует о важной роли верхушечных листьев в восприятии гравистимуляции растениями.

#### **Список использованных источников**

1. Pouliquen O. A new scenario for gravity detection in plants: the position sensor hypothesis // *Phys. Biol.* – 2017. – V. 14. – P. 035005.

2. Dhonukshe P., Tanaka H., Goh T., Ebine K., Mähönen A., Prasad K., Blilou I., Geldner N., Xu J., Uemura T., Chory J., Ueda T., Nakano A., Scheres B., Friml J. Generation of cell polarity in plants links endocytosis, auxin distribution and cell fate decisions // *Nature* – 2008. – V. 456. P. 962–966.

3. Rahman A., Takahashi M., Shibasaki K., Wu S., Inaba T., Tsurumi S., Baskin T.I. Gravitropism of *Arabidopsis thaliana* roots requires the polarization of PIN2 toward the root tip in meristematic cortical cells // *Plant Cell.* – 2010. – V. 22. P. 1762–1776.

4. Пожванов Г.А., Суслов Д.В., Медведев С.С. Перестройки актинового цитоскелета в ходе гравитропической реакции корней арабидопсиса // *Цитология.* – 2013. – Т. 55. – С. 28–35.

5. Nick P., Han M.-J., An G. Auxin stimulates its own transport by shaping actin filaments // *Plant Physiol.* – 2009. – V. 151. – P. 155–167.

6. Zhao Y., Zhao S., Mao T., Qu X., Cao W., Zhang L., Zhang W., He L., Li S., Ren S., Zhao J., Zhu G., Huang S., Ye K., Ming Y.M., et al. The plant-specific actin binding protein SCAB1 stabilizes actin filaments and regulates stomatal movement in *Arabidopsis* // *Plant Cell* – 2011. – V. 23. – P. 2314–2330.

7. Blancaflor E.B. Regulation of plant gravity sensing and signaling by the actin cytoskeleton // *Am. J. Bot.* – 2013. – V. 100. – P. 143–152