



Г.І. МАРТИН, Л.І. МУСАТЕНКО, К.М. СИТНИК

Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України
вул. Терещенківська, 2, Київ, 01601, Україна
E-mail: phytohormonology@ukr.net

**СУБСТРУКТУРА КЛІТИН ЗАРОДКІВ
ОКРЕМИХ ВИДІВ НАСІННЯ, ЩО
ХАРАКТЕРИЗУЄТЬСЯ ГЛИБОКИМ
ФІЗІОЛОГІЧНИМ СПОКОЄМ**

Ключові слова: насіння, фізіологічний спокій, ультра-структура клітин.

Характерною особливістю насіння є його здатність переходити у стан спокою, проявляючи високу стійкість до дії несприятливих факторів. Насіння окремих видів може суттєво відрізнятися за типом і глибиною спокою. Залежно від здатності проростати у сприятливих умовах розрізняють насіння з вимушеним і органічним спокоєм [14]. Ніколаєва [9] на основі аналізу зв'язків між факторами, які підтримують спокій, і умовами його подолання запропонувала класифікацію органічного спокою, виділивши екзогенний, ендогенний і комбінований типи. Глибокий фізіологічний спокій належить до ендогенного типу і зумовлений зниженою ростовою активністю зародка та недостатньою газопроникністю насінних покривів [10]. Є думка, що знижена ростова активність зародка може зумовлюватися механізмами, які блокують відновлення метаболізму клітин і перехід осьових органів до росту [4]. Природа цих механізмів досі далеко не з'ясована. При дослідженні насіння *Acer tataricum* ми виявили, що перехід зародка до глибокого спокою супроводжується суттєвою

© Г.І. МАРТИН,
Л.І. МУСАТЕНКО,
К.М. СИТНИК, 2005

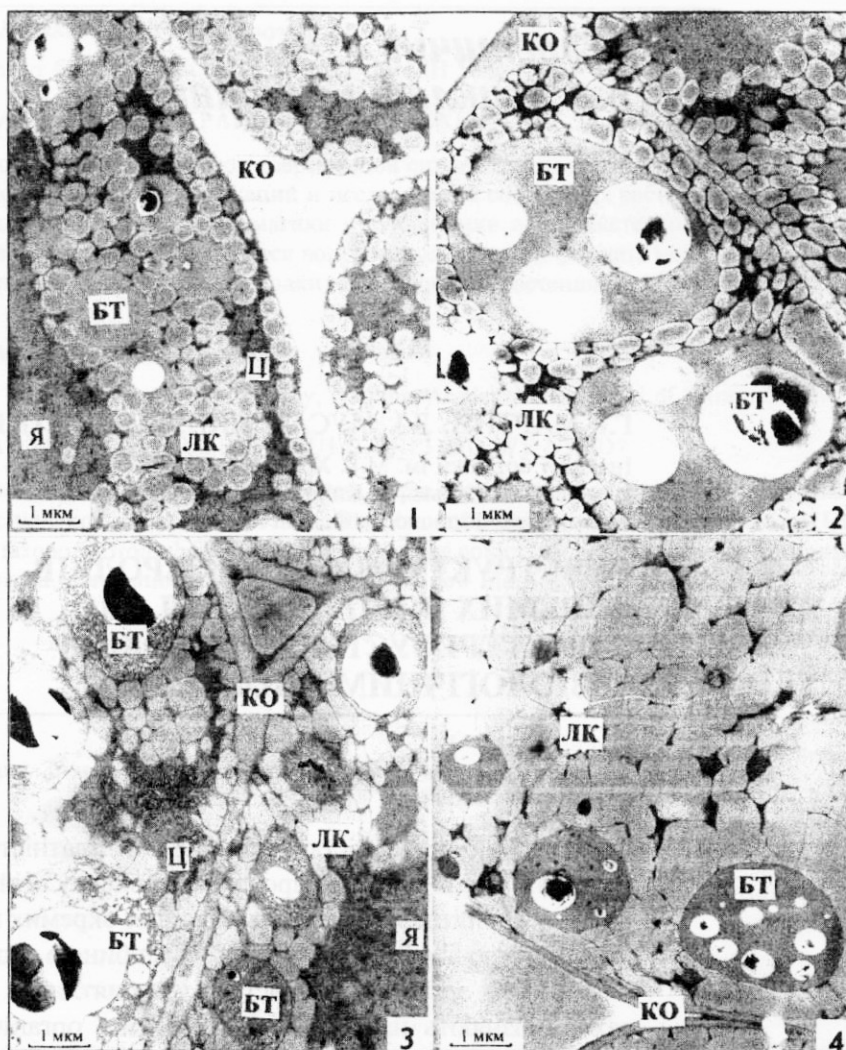
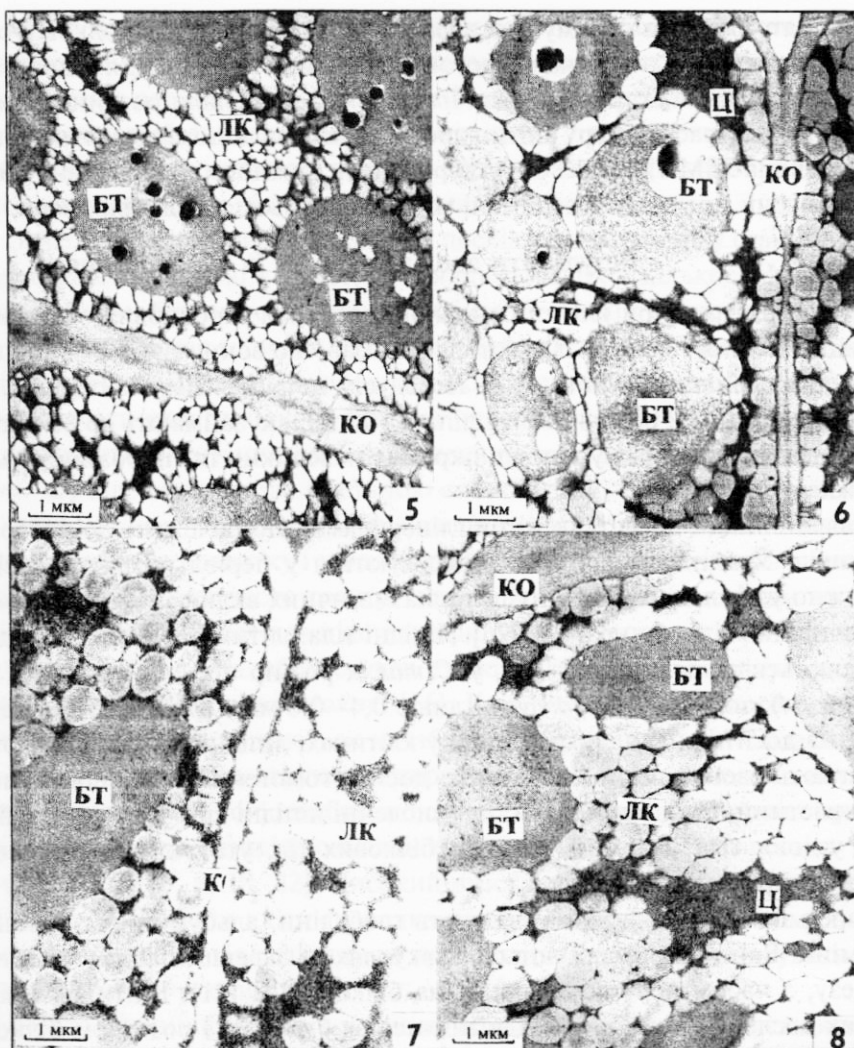


Рисунок. Фрагменти ультраструктури клітин основної паренхіми зародкових осей: 1 — *Acer tataricum* L., 2 — *Amelanchier alnifolia* (Nutt.) Nutt., 3 — *Aronia melanocarpa* (Michx.) Ell., 4 — *Cornus mas* L., 5 — *Lunaria rediviva* L., 6 — *Malus domestica* Borkh., 7 — *Oxalis stricta* L., 8 — *Prunus domestica* L. БТ — білкові тіла, КО — клітинна оболонка, ЛК — ліпідні краплі, Ц — цитоплазма, Я — ядро

Fragments of the cell ultrastructure in the main parenchyma from the embryo axes: 1–8 — species of plant; БТ — protein bodies, КО — cell wall, ЛК — lipid droplets, Ц — cytoplasm, Я — nucleus

перебудовою ультраструктури клітин [5, 23]. Виявлені зміни структури, можливо, є проявом механізмів, що спричинюють вказаний тип спокою. Якщо це так, то клітини насіння інших видів у стані глибокого фізіологічного спокою повинні мати подібну субмікроскопічну організацію. Тому з метою перевірки даного припущення ми проаналізували структуру клітин восьми видів насіння, якому притаманний даний тип спокою.



Продовження рисунка.

Матеріал і методи дослідження

Об'єктом дослідження було насіння восьми видів рослин (*Acer tataricum* L., *Amelanchier alnifolia* (Nutt.) Nutt., *Aronia melanocarpa* (Michx.) Ell., *Cornus mas* L., *Lunaria rediviva* L., *Malus domestica* Borkh., *Oxalis stricta* L., *Prunus domestica* L.), яке характеризується глибоким фізіологічним спокоєм і здатне проростати лише після тривалої (протягом 3–6 місяців) холодної стратифікації [11]. Із зрілого сухого насіння виділяли зародкові осі, які фіксували спочатку у 5 %-му розчині глутарового альдегіду (4 год), а потім — у 1 %-му розчині чотириокису осмію (3 год). Фіксований матеріал зневоднювали етиловим спиртом зростаючої концентрації і вміщували у суміш епоксидних смол епон-аральдит.

Ультратонкі зрізи отримували з гіпокотильної ділянки зародкової осі за допомогою скляних ножів на мікротомі LKB Ultratome III. Для підвищення контрасту клітинних структур зрізи на сіточках обробляли розчином цитрату свинцю. Ультраструктуру клітин досліджували за допомогою електронного мікроскопа JEM 1200 EX. Структуру клітин кожного виду насіння вивчали аналізуючи препарати, отримані мінімум із трьох зародкових осей.

Результати дослідження та їх обговорення

Аналіз ультраструктури клітин основної паренхіми зародкових осей вказаних видів насіння у ділянці гіпокотіля показав, що вони мають ряд спільних структурних ознак (рисунок, 1, 2). Передусім це відсутність крохмалю. Основними запасними речовинами є ліпіди і білки, які займають до 80 % об'єму клітини. Цитоплазма у вигляді окремих невеликих тяжів розміщується у проміжках між ними.

Запасні ліпіди представлені тригліцеридами, що належить до нейтральних жирів. У клітинах вони нагромаджуються у період розвитку насіння переважно у вигляді сферичних цитоплазматичних включень, що отримали назву ліпідних тіл, або крапель [26]. Ліпідні тіла клітин окремих видів дещо відрізняються за розмірами. Так, у *S. mas* їх розмір становив 1,0—1,4 мкм (рисунок, 4), тоді як у *L. rediviva* — лише 0,4—0,6 мкм (рисунок, 5). Незважаючи на досить щільне розміщення у клітинах, ліпідні тіла не зливаються і зберігають свої розміри. Їх матрикс досить гомогенний і відносно низькоконтрастний. Слід відзначити, що численні ліпідні тіла щільно розміщуються уздовж плазмалеми і навколо білкових тіл, утворюючи своєрідний ліпідний шар (рисунок, 3, б).

Серед запасних білків переважають глобуліни, альбуміни, глутеліни та проламіни. Вони нагромаджуються у вакуолях на завершальних етапах ембріогенезу, з часом перетворюючи їх на білкові тіла [21]. Клітини насіння окремих досліджуваних видів відрізнялися за будовою і розміром білкових тіл. Якщо в *A. tataricum* їх розмір становив 1,6—2 мкм, то в *A. alnifolia* — 4,1—4,6 мкм. Білкові тіла *O. stricta* і *P. domestica* були простої будови, в інших шести видів мали складну будову і містили глобоїди і кристалоїди. Певні відміни спостерігались і в структурі матриксу білкових тіл. За даними літератури, різниця у структурі білкових тіл є видовою ознакою насіння, яка залежить від складу запасних білків і їх четвертинної структури [12].

Нагромадження великої кількості запасних речовин у клітинах зародків досліджуваного насіння спричинило до того, що цитоплазма набула форми окремих тяжів, розміщених серед білкових і ліпідних тіл (рисунок). Ядра у клітинах зберігають центральне положення. Для більшості з них характерний звивистий контур з численними виростами і впинаннями. Ядерця невеликого розміру зі щільним гомогенним матриксом. Ядерну оболонку практично неможливо ідентифікувати. Очевидно, це результат суттєвих змін у структурі мембран, втрати ними типової ламелярної будови і контрасту. Вка-

зані зміни мембран стосуються оболонки пластид, мітохондрій та інших цитоплазматичних структур. Так, у клітинах не виявляються елементи ендоплазматичного ретикулуму і диктіосом. Внаслідок перебудови мембран пластид і мітохондрій зникає чітка межа між цими органелами й оточуючою їх гіалоплазмою. Для матриксу органел і гіалоплазми характерні відносно висока електронна щільність і гранулярна структура.

Отже, для клітин зародка насіння досліджуваних видів у стані глибокого фізіологічного спокою характерні наявність великої кількості запасних речовин у формі білкових і ліпідних тіл і суттєві зміни структури мембран та гіалоплазми. Постає запитання: до якої міри наведені особливості субмікроскопічної організації клітин зародка можна вважати проявом механізмів, що спричинюють стан глибокого фізіологічного спокою? Певні можливості для розуміння цього питання дає порівняльний аналіз субструктури клітин насіння, що відрізняється за глибиною спокою. Так, відсутність у рекальцитрантного насіння чітких морфо-фізіологічних показників, які б свідчили про завершення його розвитку і початок проростання, ускладнюють визначення періоду спокою, що часто трактується як його відсутність. Крім того, чутливість до зневоднення дає підставу припустити, що у насіння даного типу відсутні механізми, які забезпечують стійкість зародка до висушування і його перехід у стан глибокого спокою [16]. Клітини зародка зрілого рекальцитрантного насіння залишаються метаболічно активними. Цитоплазма, органели і ядро зберігають структуру, характерну для функціонально активного стану з чітко вираженою мембранною системою. Запасні речовини представлені переважно цукрами і крохмалем і в значно обмеженій кількості — ліпідами та білками [7, 8, 18, 22]. Високий вміст води і відповідний структурно-функціональний стан клітин зародка дозволяє рекальцитрантному насінню швидко переходити від розвитку до проростання, яке інколи відбувається вже на материнській рослині [16].

Багато рослин формують насіння, розвиток якого завершується зневодненням до повітряно-сухого стану і переходом до вимушеного спокою. Численні дослідження ультраструктури клітин зародка такого насіння показали, що на завершальних етапах ембріогенезу в ультраструктурі клітин відбувається ряд змін. Розпадаються і зникають елементи ендоплазматичного ретикулуму, диктіосоми, мікротільця, мікротрубочки, полісоми. Вакуолі заповнює запасний білок, перетворюючи їх на білкові тіла. Запасні ліпіди займають положення по периферії клітини та навколо білкових тіл. Плазмалема, тонопласт, а також ядро, пластиди і мітохондрії зберігають типову структуру з відповідно добре вираженою системою мембран [13, 20, 24, 25]. У сприятливих умовах (волога, температура, газообмін) таке насіння за лічені години відновлює метаболізм і переходить до проростання. Оскільки вимушений спокій підтримується за відсутності сприятливих умов, то стає очевидним, що насіння даного типу не має механізмів фізіологічного гальмування росту зародка, які забезпечують глибокий спокій. Наявні зміни струк-

тури клітин передусім є результатом зниження їх метаболічної активності і набуття стійкості до зневоднення [19].

Проведене дослідження ультраструктури клітин зародків насіння, яке перебувало у стані глибокого фізіологічного спокою, показало, що в ньому, як і в насінні з вимушеним спокоєм, розпадаються і зникають відповідні клітинні структури. Крім того, спостерігаються виражені структурні зміни мембран і матриксу ядра, пластид і мітохондрій. Контраст мембран різко знижується і вони втрачають типову ламелярну структуру. Матрикс органел і оточуюча їх гіалоплазма набувають гранулярної структури і відносно високої електронної щільності. Аналогічні чи подібні дані отримано при дослідженні ультраструктури клітин насіння бересклету [1, 15], сливи [2], яблуні [17], клена [5].

Порівняння структури клітин насіння, що відрізняється за станом спокою, свідчить про наявність певної корелятивної залежності між глибиною спокою й ультраструктурою клітин зародка. Найбільш кардинальні зміни у структурі цитоплазми та її мембранної системи відбуваються у клітинах зародка насіння з глибоким фізіологічним спокоєм, які можуть бути пояснені участю мембран у його формуванні [4, 6]. Немає сумніву також у тому, що мембрани є найвірогіднішим місцем, де відбувається взаємодія екзо- й ендогенних факторів, які підтримують стан спокою насіння [6]. Певну роль у підтриманні спокою, очевидно, можуть відігравати і запасні речовини, зокрема їх кількість і хімічний склад [3]. Перехід насіння до проростання потребує активації процесів поділу і розтягнення клітин органів зародка, що можливе лише після утилізації запасних речовин. Однак щоб підтвердити або спростувати дані положення, потрібні подальші дослідження насіння не лише у стані спокою, а й при виході з нього.

1. Алексеева Х.А. Тонкая структура зародышей покоящихся семян *Euonymus europaeus* L. // Ботан. журн. — 1975. — 60, № 1. — С. 40—46.
2. Алексеева Х.А. Ультраструктура зародыша покоящихся семян *Prunus domestica* L. // Электронная микроскоп. в ботан. исслед. — Рига: Зинатне, 1978. — С. 47—48.
3. Беккер А.М., Николаева М.Г. Изменение липолитической активности семян яблони в процессе стратификации // Физиол. и биохим. культ. раст. — 1984. — 16, № 6. — С. 523—528.
4. Кан А.А. Покой семян: смена концепций и теорий // Физиол. и биохим. покоя и прораст. семян. — М.: Колос, 1982. — С. 47—71.
5. Мартын Г.И., Сытник К.М. Ультраструктура клеток зародыша семян *Acer tataricum* L. при переходе в состояние глубокого физиологического покоя // Доп. НАН України. — 1995. — № 3. — С. 110—113.
6. Мордерер Є.Ю., Гродзинський Д.М. Перекисне окислення ліпідів і регуляція стану органічного спокою насіння // Укр. ботан. журн. — 1988. — 45, № 6. — С. 84—90.
7. Мусатенко Л.І., Генералова В.М., Мартин Г.І. До фізіології спокою насіння *Aesculus hippocastanum* L. // Укр. ботан. журн. — 1997. — 54, № 1. — С. 86—91.
8. Мусатенко Л.І., Генералова В.Н., Мартын Г.И. и др. Гормональный комплекс и ультраструктура созревающих семян *Aesculus hippocastanum* // Физиол. раст. — 2003. — 50, № 3. — С. 404—409.
9. Николаева М.Г. Физиология глубокого покоя семян. — Л.: Наука, 1967. — 206 с.

10. Николаева М.Г. Покой семян и факторы, его контролирующие // Физиол. и биохим. покоя и прораст. семян. — М.: Колос, 1982. — С. 72—96.
11. Николаева М.Г., Разумова М.В., Гладкова В.Н. Справочник по проращиванию покоящихся семян. — Л.: Наука, 1985. — 348 с.
12. Соболев А.М. Запасание белка в семенах растений. — М.: Наука, 1985. — 112 с.
13. Ситник К.М., Мартин Г.И. Вплив зневоднення на ультраструктуру клітин і життєздатність насіння *Phaseolus vulgaris* L., що проростає // Укр. ботан. журн. — 1994. — 51, № 5. — С. 5—14.
14. Amen R.D. A model of seed dormancy // Bot. Rev. — 1968. — 34, N 1. — P. 1—31
15. Beranger-Novat N., Dawidowicz-Grzegorzewska A. Effect of gibberellin on mature *Euonymus europaeus* L. seeds // Ann. Bot. — 1992. — 70. — P. 93—100.
16. Berjak P., Pammenter N.W., Vertucci Ch. Homoiohydrous (recalcitrant) seeds. Developmental status, desiccation sensitivity and the state of water in axes of *Landolphia kirkii* Dyer // Planta. — 1992. — 186, N 2. — P. 249—261.
17. Dawidowicz-Grzegorzewska A. Degradation of protein and lipid bodies during dormancy removal in apple seeds // J. Plant. Physiol. — 1989. — 135, N 1. — P. 43—51.
18. Farrant J.M., Berjak P., Pammenter N.W. Studies on the development of the desiccation-sensitive (recalcitrant) seeds of *Avicennia marina* (Forssk.) Vierh. The acquisition of germinability and response to storage and dehydration // Ann. Bot. — 1993. — 71. — P. 405—410.
19. Klein S., Pollock B.M. Cell fine structure of the developing lima bean seeds related to seed desiccation // Amer. J. Bot. — 1968. — 55, N 6. — P. 658—672.
20. Kuras M. Activation of rape (*Brassica napus* L.) embryo during seed germination. III. Ultrastructure of dry embryo axis // Acta Soc. Bot. Polon. — 1984. — 53, N 2. — P. 171—186.
21. Muntz K. Seed development // Encyclopedia Plant Physiol. — Berlin; New York: Springer Verlag, 1982. — 14. — P. 505—558.
22. Musatenko L.I., Berestetsky V.A., Vedenicheva N.P., Generalova V.N., Martyn G.I., Sytnik K.M. Phytohormones and structure of cells of *Acer saccharinum* seed embryo // Biol. Plantarum. — 1995. — 37, N 4. — P. 553—559.
23. Musatenko L., Generalova V., Martyn G. Embryogenesis and germination of seeds with various types of dormancy // 10th FESPP Congress (Florence, Italy. September, 9—13). — 1996. — P. 37—38.
24. Paulson R.E., Srivastava L.M. The fine structure of the embryo of *Lactuca sativa*. 1. Dry embryo // Can. J. Bot. — 1968. — 55, N 6. — P. 1437—1445.
25. Singh A.P. Fine structure of the dormant embryo of *Medicago sativa* // Amer. J. Bot. — 1977. — 64, N 8. — P. 1008—1022.
26. Slack C.R., Browse J.A. Synthesis of storage lipids in developing seeds. // Seed Physiology. Development. — London; New York: Academ. Press, 1984. — 1. — P. 209—244.

Надійшла 18.05.2005

Г.И. Мартин, Л.И. Мусатенко, К.М. Ситник

Институт ботаники им. Н.Г. Холодного
НАН Украины, г. Киев

СУБСТРУКТУРА КЛЕТОК ЗАРОДЫШЕЙ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ СЕМЯН, ХАРАКТЕРИЗУЮЩИХСЯ ГЛУБОКИМ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИМ ПОКОЕМ

Исследована ультраструктура клеток зародышей семян восьми видов растений (*Acer tataricum* L., *Amelanchier alnifolia* (Nutt.) Nutt., *Aronia melanocarpa* (Michx.) Ell., *Cornus mas* L., *Lunaria rediviva* L., *Malus domestica* Borkh., *Oxalis stricta* L., *Prunus domestica* L.), пребывающих в глубоком физиологическом покое и способных прорасти только после длительной холодной стратификации. Показано, что независимо от вида семян клетки зароды-

ша имеют сходную ультраструктуру: наличие большого количества запасных веществ (до 80 % объема клетки), представленных белковыми и липидными телами; цитоплазма грубогранулярной структуры в виде небольших тяжей располагается между запасными веществами; мембраны претерпевают существенные изменения, выражающиеся в потере типичной ламеллярной структуры и контраста. Вследствие изменений структуры мембран затруднена идентификация клеточных органелл.

Обсуждаются возможные связи между особенностями структуры клеток зародыша и глубиной покоя семян.

G.I. Martyn, L.I. Musatenko, K.M. Sytnik

M.G. Kholodny Institute of Botany,
National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv

EMBRYO CELL SUBSTRUCTURE IN THE SOME SPECIES OF THE SEEDS CHARACTERIZING WITH THE DEEP PHYSIOLOGY QUIESCENCE

Seed embryo cell ultrastructure of eight plant species (*Acer tataricum* L., *Amelanchier alnifolia* (Nutt.) Nutt., *Aronia melanocarpa* (Michx.) Ell., *Cornus mas* L., *Lunaria rediviva* L., *Malus domestica* Borkh., *Oxalis stricta* L., *Prunus domestica* L.), that are in the deep physiology quiescence and able to germinate only after the long cold stratification was studied. It was shown that embryo cells have the similar ultrastructure regardless of the seed species. There is a great amount of storage substances (up to eighty percents of the cell volume) represented with the protein and lipid bodies. Cytoplasm of the roughly granular structure as small reticules is arranged among the storage substances. Membranes undergo the essential changes appearing in the loss of the typical lamellar structure and contrast. Identification of the cell organelles is complicated due to the membrane structure alterations.

The possible links between the peculiarities of the embryo cell structure and the depth of the seed quiescence are discussed.