

Я.М. КАЛІНІНА

Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України, Київ
E-mail: yanakalinina@yahoo.com

МІКРОТРУБОЧКИ В КЛІТИНАХ ЕПІДЕРМІСУ ТА КОРИ КОРЕНЯ *BRASSICA RAPA* ЗА УМОВ КЛІНОСТАТУВАННЯ



Організацію ендоплазматичних та кортикальних мікротрубочок (КМТ) в клітинах епідермісу та кори в різних ростових зонах головного кореня шестидобових проростків *Brassica rapa L.* в контролі та за умов кліно-статування досліджено за допомогою конфокальної мікроскопії. За умов кліно-статування зміни в просторовій організації КМТ знайдено в дистальній зоні розтягу (ДЗР). В клітинах коренів контрольного варіанта КМТ представлені паралельними рядами мікротрубочок, розташованих поперечно до довгої вісі кореня. При кліно-статуванні спостерігається поява більш коротких дезорієнтованих КМТ. Водночас відбувається зменшення довжини клітин кори в центральній зоні розтягу (ЦЗР) за умов кліно-статування. Припускається, що уповільнення анізотропного росту, характерного для клітин ЦЗР, пов'язане з дезорієнтацією КМТ в ДЗР за умов кліно-статування.

© Я.М. КАЛІНІНА, 2006

ISSN 0564-3783. Цитология и генетика. 2006. № 5

Вступ. З'ясування механізмів гравічутливості рослинних клітин, не спеціалізованих до сприйняття гравітаційного вектора, потребує досліджень тубулінового цитоскелету в умовах мікрогравітації та кліно-статування як можливої мішені впливу гравітації, оскільки продемонстровано, що процес самоорганізації мікротрубочок (МТ) *in vitro* є гравітаційно залежним [1–3]. Розрізняють ендоплазматичні мікротрубочки (ЕМТ) і кортикальні (КМТ). ЕМТ беруть участь в організації цитоплазми і, як свідчать дослідження з використанням анти-МТ речовин та дезінтеграції МТ шляхом охолодження, впливають на розміри ядра [4]. КМТ розташовані в периферійній зоні клітини і здійснюють контроль над формою та спрямованістю росту клітин, оскільки, як вважається, вони визначають напрямок відкладання мікрофібрил целюлози в клітинній стінці [5–9].

Особливості структурної організації апекса кореня дають унікальну можливість дослідження впливу кліно-статування на цитоскелет клітин, що мають різний тип росту. В апікальній меристемі кореня відбуваються клітинні поділи, після чого здійснюється повільний більш менш ізодіаметричний ріст клітин в дистальній зоні розтягу (ДЗР) та швидкий анізотропний в центральній зоні розтягу (ЦЗР). Особливу увагу привертає ДЗР, оскільки порівняно з іншими ростовими зонами кореня її клітини мають специфічну чутливість до ауксину, етилену, кальцію, механічного тиску, водного і сольового стресів та гравітації [9–11].

Популяція КМТ дуже динамічна і може швидко змінювати свою орієнтацію у відповідь на дію таких чинників, як світло, холод, іони кальцію, гормони, осмотичний стрес або ушкодження рослини [12–15]. За умов кліно-статування зазначено появу хаотично розташованих КМТ в епідермальних клітинах кореня *Beta vulgaris* [16]. Кількість робіт з дослідження МТ в клітинах кореня, не спеціалізованих до сприйняття гравітаційного стимулу, за умов зміненої гравітації дуже обмежена.

Метою нашої роботи було вивчення впливу кліно-статування, що частково моделює біологічні ефекти мікрогравітації, на організацію МТ в різних ростових зонах кореня в процесах росту та диференціювання клітин.

Матеріали та методи. Для досліджень використовували шестидобові проростки рапсу *Brassica rapa L.*, довжина коренів яких не пере-

вищувала 4 см. Насінини *B. rapa* пророщували при освітленні 12 000 лк і температурі 24–25 °С на середовищі MS (Murashige & Skoog, 1962), що містило половинний набір солей, з додаванням 1%-ного агару та 15%-ної сахарози. Перед пророщуванням насінини стерилізували в 15%-ному розчині гіпохлориту натрію протягом 5 хв. В дослідному варіанті чашки Петрі з насінням прикріплювали на вісь горизонтального кліностату, що обертався зі швидкістю 2 об/хв. На шосту добу апекси коренів (5–7 мм) промивали в буфері (МТСБ), який стабілізує мікротрубочки (50 мМ PIPES, 5 мМ MgSO₄, 5 мМ EDTA, рН 6,9) і фіксували в 3,7%-ному параформальдегіді 1 год при кімнатній температурі. Після швидкого промивання зразків в МТСБ проводили дегідратацію зразків в серії спиртів зростаючої концентрації за загальноприйнятою методикою. Збезджені зразки при 37 °С поступово заливали у віск Східмана, що складався з поліетиленгліколю 400 дістеарату («Fluka», Німеччина) та 1-гексадеканолю («Sigma», США). Поздовжні зрізи товщиною 7 мкм отримували на мікротомі Reichert (Австрія). Зрізи розміщували на предметному склі, покритому 0,5%-ним розчином поліетиленіміна. Видалення воску Східмана проводили шляхом заміщення воску спиртом та наступним проведенням зразків за спадючими концентраціями спиртів. Для візуалізації МТ скельця із зразками поміщали в 1%-ний розчин тритону X-100, потім промивали в МТСБ і 1 год інкубували з первинними моноклональними мишиними антитілами проти α -тубуліну («Molecular Probes», США), (розведення 1:200 у фосфатному буфері (PBS)). Після ретельного промивання в PBS проводили інкубацію з вторинними антитілами, міченими флуоресцинізотіоціанатом, FITC («Sigma», США), (розведення 1:20 в PBS) протягом 1 год при кімнатній температурі в темноті. Пофарбовані зрізи промивали в PBS і додатково фарбували розчином (1 мкг/мл) DAPI (4,6-діамідіно-2-феніліндолом) 10 хв для візуалізації ядерної ДНК. Зрізи підфарбовували 1%-ним розчином толуїдинового синього. Стельця із зрізами промивали в PBS і монтували в суміш гліцерину і PBS (4:1, рН 8,0), що містила парафенілендіамін (10 мг/мл) з метою запобігання вигорання флуоресцентної мітки.

Препарати досліджували за допомогою конфокального лазерного скануючого мікроскопа LSM 5 PASCAL («Carl Zeiss», Німеччина) з фільтрами BP 420–480 нм для FITC та BP 505–530 нм для DAPI. Використовували об'єктив Plan-Neofluar 100*/1.3 Oil. На основі серійних оптичних зрізів (товщиною 40–50 мкм) будували тривимірні моделі за допомогою програмного забезпечення Carl Zeiss LSM 5. Досліджували організацію КМТ та ЕМТ в епідермальних клітинах та клітинах кори в різних ростових зонах головного кореня.

Для визначення впливу орієнтації КМТ на анізотропність росту вимірювали довжину клітин епідерми, субепідермального та другого шарів кори в меристемі, ДЗР та ЦЗР на напівтонких зрізах. Для цього апекси головних коренів довжиною приблизно 5 мм фіксували сумішшю 1%-ного глютаральдегіді та 5%-ного параформальдегіді (1 : 1) та дофіксували 1%-ним OsO₄ на какодилатному буфері, рН 7,2. Збездження в серії спиртів зростаючої концентрації та ацетону і переведення фіксованого матеріалу в суміш епоксидних смол епон-аралдит здійснювали за загальноприйнятими методиками [17]. Поздовжні зрізи (завтовшки 1,5–1,8 мкм) виготовляли на ультрамікротомі XL (RMC). Препарати фарбували за Шик-реакцією з підфарбовуванням толуїдиновим синім [17]. Дослідження проводили у світлооптичному мікроскопі NF («Carl Zeiss», Німеччина). Для вимірювань анатомічних елементів було використано окуляр-мікромір МОВ-1-15х(ЛОМО, Росія). Статистичну обробку здійснювали за загальноприйнятими методами [18]. Достовірність різниці оцінювали за критерієм Ст'юдента.

Результати досліджень та їх обговорення. Імунофлуоресцентне дослідження ЕМТ в клітинах різних ростових зон головного кореня проростків *B. rapa* в стаціонарних умовах вирощування показало, що їх організація в контролі поступово змінюється в процесі росту та диференціювання клітин. Порівняно з іншими ростовими зонами кореня в меристемі спостерігається відносно велика кількість ЕМТ із найбільшою щільністю навколо ядра. Короткі МТ в основному неупорядковано розташовуються по всьому об'єму цитоплазми або розходяться від ядра в напрямку периферійно-

го шару цитоплазми. В ДЗР, де починається активна вакуолізація, радіальні пучки МТ відходять від ядерної оболонки до периферії клітини (рис. 1, *a*). ДЗР розглядали як зону більш-менш ізодіаметрального росту, яка знаходиться між меристемою та ЦЗР [9—11]. Початком ЦЗР вважали ділянку, де довжина клітин збільшувалася удвічі порівняно з клітинами початку ДЗР, а закінченням — рівень утворення кореневих волосків, характерних для зони диференціювання. В ЦЗР кількість ЕМТ поступово зменшується; вони локалізуються головним чином біля ядра та в тяжках цитоплазми, що перетинають клітину. В зоні диференціювання ЕМТ майже відсутні, вони спостерігаються лише біля ядра та у вузькому шарі цитоплазми, що зберігається безпосередньо біля цитоплазматичної мембрани.

За умов кліностагування топографія ЕМТ схожа з контролем в різних ростових зонах кореня відповідно. ЕМТ формують сітку навколо ядра і з'єднують її з кортикальними шарами цитоплазми (рис. 1, *b*). Змін форми та локалізації ядер за умов кліностагування порівняно з контролем не спостерігали.

КМТ переважають за кількістю ЕМТ в клітинах епідерми та кортексу кореня *B. rapa*. В клітинах меристеми КМТ представлені щільними компактними паралельними рядами, розташованими безпосередньо під цитоплазматичною мембраною перпендикулярно до осі росту кореня. Зазвичай напрямком розташування пучків КМТ в клітинах меристеми варіює, але в своїй більшості вони мають тенденцію орієнтуватися поперечно до довгої осі кореня. Після закінчення мітозів з початком росту клітин пучки КМТ стають менш щільними, що дозволяє розрізнити окремі КМТ. В периферійних шарах цитоплазми клітин ДЗР спостерігаються впорядковані паралельні ряди МТ, розташовані поперечно до довгої осі кореня (рис. 1, *a*). В клітинах ЦЗР КМТ зберігають паралельну орієнтацію, проте відстань між окремими пучками КМТ трохи збільшується, вони розташовуються поперечно до довгої осі клітини, опоясуючи клітину по периферії. Наприкінці центральної зони розтягу КМТ змінюють орієнтацію і розташовуються навскіс. Поступово кут нахилу пучків КМТ збільшується, згодом наближаючись до поздовжньої орієнтації КМТ в зрілих клітинах.

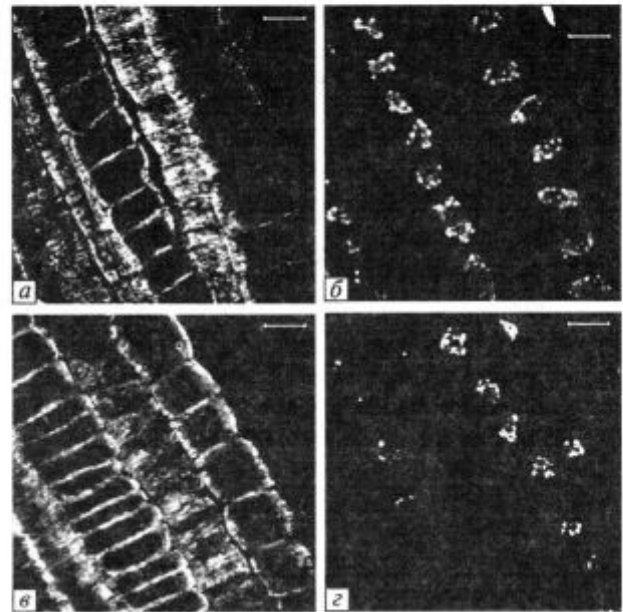


Рис. 1. МТ (*a, v*) та ядерна ДНК (*б, з*) в клітинах ДЗР кореня *B. rapa*; *a, б* — контроль; *в, з* — кліностагування. Лазерне сканування пройшло через КМТ в субепідермальному шарі клітин та ЕМТ в епідермісі клітин. Масштаб 20 мкм

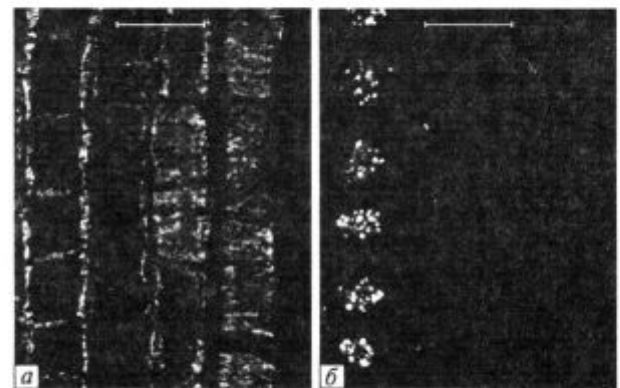


Рис. 2. МТ (*a*) та ядерна ДНК (*б*) в клітинах ДЗР кореня *B. rapa* за умов кліностагування. Масштаб 20 мкм

При кліностагуванні КМТ в загальних рисах схожі з контролем, проте спостерігаються і певні відхилення в їх просторовій організації, а саме, в ДЗР популяція КМТ більш різноманітна: на фоні правильно впорядкованих паралельних рядів КМТ з'являються численні МТ, які відхиляються від поперечного розташування у різні боки (рис. 1 і 2). Дезорієнтовані МТ мають відносно меншу довжину порівняно з поперечно орієнтованими КМТ. Іноді за умов

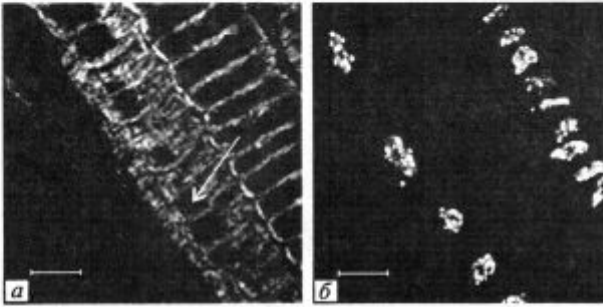


Рис. 3. МТ (а) та ядерна ДНК (б) в меристематичних клітинах кореня *V. gara* за умов кліностакування. Стрілка вказує на «дірки», що виникають в кортикальних шарах МТ при кліноставанні. Масштаб 20 мкм



Рис. 4. Довжина клітин, мкм (по вертикалі) різних ростових зон головного кореня проростків *V. gara*. Умовні позначення: А — контроль, Б — кліностакування; 1 — протодерма, 2 — зовнішній шар перилеми, 3 — внутрішній шар перилеми, 4 — епідерма, 5 — субепідермальний шар, 6 — кора, 7 — епідерма, 8 — субепідермальний шар, 9 — кора

кліностакування в клітинах меристеми та ДЗР з'являються ділянки, де добре впорядковані поперечні скупчення пучків КМТ не суцільні, як в контролі, а з помітними «дірками» (рис. 3), подібними до тих, які утворюються при короткотривалій обробці (протягом 15 хв) коренів проростків *Zea mays* колхцином [4].

Експерименти з полімеризацією МТ *in vitro* показали, що в контролі МТ полімеризуються в певному напрямку залежно від розміщення зразків відносно напрямку вектора гравітації, а за умов мікрогравітації новоутворені МТ зорієнтовані хаотично [1, 3]. В зв'язку з цим можна припустити, що кліностакування негативно впливає на процес полімеризації МТ, внаслідок чого дезорієнтовані КМТ не здатні утворювати довгі гетерополімери. Якщо в контролі КМТ полімеризуються паралельно

вже існуючим МТ, то при кліноставанні поперечно розташовані КМТ заважають полімеризації дезорієнтованих КМТ, внаслідок чого вони мають меншу довжину.

Орієнтація КМТ досить варіабельна при кліноставанні: поряд з клітинами з порушеною орієнтацією КМТ були клітини з нормальною організацією КМТ, подібною до контролю, що свідчить про неоднозначність реакції рослинних клітин на умови постійної зміни орієнтації об'єкта відносно гравітаційного вектора. Слід зазначити, що як в контролі, так і при кліноставанні організація КМТ певною мірою також відрізняється у клітинах першого та другого шарів кори, що знаходяться на одному рівні наприкінці ДЗР. Це, можливо, пов'язано з тим, що перехід від ізодіаметричного до анізотропного росту відбувається швидше в другому шарі кори.

Щоб перевірити, яким чином зміни організації КМТ, що відбуваються за умов кліностакування, відбиваються на їх функціях, а саме на регуляції анізотропії росту, ми порівняли довжину клітин в меристемі, ДЗР та ЦЗР. Дослідження не виявило достовірної різниці між коренями проростків контрольного і дослідного варіантів у довжині клітин меристеми коренів та ДЗР, для яких характерний більш-менш ізодіаметричний ріст (рис. 4). Достовірне зменшення довжини клітин за умов кліностакування встановлено в ЦЗР порівняно з контролем (на 16 % в субепідермальному шарі і на 20 % в другому шарі кори). За умов кліностакування спостерігається пригнічення анізотропного росту клітин, характерного для ЦЗР. Це свідчить про те, що зміна орієнтації КМТ за умов кліностакування позначається на швидкості росту клітин, а саме на її уповільненні.

Передбачається, що через зв'язок целюлозосинтети з білками, асоційованими з МТ, забезпечується регуляція анізотропності росту [19, 20]. Згідно з цією моделлю КМТ просторово спрямовують синтез целюлозних мікрофібрил клітинної стінки в тій же самій орієнтації, що і нижче розташовані МТ. Оскільки мікрофібрили целюлози не можуть розтягуватися, така модель відкладання обумовлює анізотропний ріст, в якому експансія в поперечному напрямку до орієнтації мікрофібрил домінуюча [21]. Останнє доведено дослідниками

на мутантах *Arabidopsis thaliana* (*fra2*, *botero1*, *spirall1*, *spirall2* та *lefty1*, *lefty2*) з порушенням організації КМТ, які виявляли меншу анізотропію росту [22, 23]. Подібні результати були одержані і при використанні інгібіторів полімеризації тубуліну [24, 25]. В той же час дослідження мутантів *mor1-1* та *mor1-1 rsw1-1*, як і застосовування анти-МТ речовин, продемонстрували, що характерне для них порушення організації КМТ не позначається на орієнтації відкладання целюлозних мікрофібрил, проте викликає радіальне розбухання клітин кореня *A. thaliana* [26]. Крім того, показано, що зв'язок між орієнтацією КМТ і мікрофібрил целюлози спостерігається не по всій довжині кореня *A. thaliana* — після того як КМТ розташовуються навскіс наприкінці зони розтягу, мікрофібрили целюлози продовжують зберігати поперечну орієнтацію [26—28]. Попри інтенсивні та довготривалі дослідження ролі КМТ в процесі росту клітин це питання лишається не вирішеним. Ми передбачаємо, що уповільнення швидкості росту клітин в ЦЗР за умов кліностакування виникає внаслідок дезорієнтації МТ в клітинах ДЗР і опосередковано свідчить про існування зв'язку між орієнтацією КМТ та анізотропним ростом клітин.

Як відомо, перебудова МТ відбувається в результаті реакції рослини на вплив факторів зовнішнього середовища. Так, осмотичний стрес [29] та світло [30] змінюють організацію КМТ. Висока концентрація іонів кальцію, алюмінію [31], ураження грибовою інфекцією [30] та низькі температури [32] викликають деполімеризацію КМТ. При гравітропічному згині КМТ міняють орієнтацію на нижній стороні з поперечної на косу відносно довгої осі кореня [33], хоча механізми просторової організації тубулінового цитоскелету та регулювання переорієнтації КМТ під впливом різних факторів навколишнього середовища, гравітацію включно, досі не визначені. Кліностакування викликає порушення поперечного розташування КМТ в клітинах кори кореня і появу великої кількості хаотично розташованих МТ в епідермальних клітинах кореня *Beta vulgaris* [16]. Ми передбачаємо, що тубуліновий цитоскелет задіяний в гравічутливості клітини: з одного боку МТ внаслідок гравізалезності самоорганізуються [1—3] сприймають зміни в граві-

таційному середовищі, а з іншої — через асоційовані з ними білки викликають адаптаційні ростові реакції. МТ можуть грати інтегральну роль в адаптації рослин до змін в навколишньому середовищі завдяки асоціації з такими білковими комплексами, як регуляторні кінази, фосфатази, фактор елонгації I α , фосфоліпаза Д та ін. [34].

Слід зазначити, що зміна організації КМТ саме в ДЗР при кліноставанні може бути пов'язана як зі специфічною чутливістю цієї зони до впливу різних факторів, так і з її участю в реалізації гравітропічної реакції. Враховуючи, що повільне горизонтальне кліностакування усуває лише однонаправленість дії гравітаційного стимулу, не можна виключати можливість того, що воно не повністю перешкоджає процесу гравірецепції, що має місце в статоцитах, а заважає утворенню гравітропічного згину. Можливо, хаотично розташовані МТ з'являються внаслідок процесу постійної зміни орієнтації КМТ з поперечної на поздовжню і, навпаки, на поперечну внаслідок постійної дезорієнтації об'єкта відносно гравітаційного вектора. Для з'ясування цього питання необхідні експерименти за умов реальної мікрогравітації в космічному польоті.

Висновки. Показано, що за умов кліностакування відбувається порушення орієнтації КМТ в клітинах епідермісу та кори ДЗР головного кореня проростків *B. rapa*, що призводить до уповільнення швидкості анізотропного росту в центральній зоні розтягу, внаслідок чого довжина клітин кори в цій зоні достовірно зменшується. Припускається, що КМТ беруть участь в специфічній чутливості клітин ДЗР до впливу гравітації. Уповільнення швидкості росту клітин в ЦЗР за умов кліностакування підтверджує існування зв'язку між орієнтацією КМТ та анізотропним ростом клітин.

Дослідження виконані за грантом INTAS № 03-51-6459.

SUMMARY. Using confocal microscopy the organization of tubulin cytoskeleton including endoplasmic and cortical microtubules (CMTs) has been studied in epidermal and cortical cells of the different growth zones of main root of *Brassica rapa* L. 6-days-old seedlings in control conditions and under clinorotation. It was shown that

changes in CMTs orientation occurred only in the distal elongation zone (DEZ). In the control, CMT arrays oriented transversely to the root long axis. Under clinorotation appearance of the shorter randomly organized CMTs was observed. Simultaneously, a significant decrease in the cell length in the central elongation zone (CEZ) under clinorotation was detected. It is suggested that the decline of anisotropic growth typical for CEZ cells is connected with CMTs disorientation under clinorotation.

РЕЗЮМЕ. Организацию эндоплазматических и кортикальных микротрубочек (КМТ) в клетках коры и эпидермиса разных ростовых зон главного корня 6-дневных проростков *Brassica rapa* L. в контроле и при клиностаტიровании исследовали с помощью конфокальной микроскопии. В условиях клиностаტიрования были обнаружены изменения в пространственной организации КМТ в дистальной зоне растяжения (ДЗР). В клетках корней контрольного варианта КМТ представлены параллельными рядами микротрубочек, расположенных поперечно к длинной оси корня. При клиностаტიровании наблюдается появление более коротких дезориентированных КМТ. Наряду с этим при клиностаტიровании происходит уменьшение длины клеток коры в центральной зоне растяжения (ЦЗР). Предполагается, что снижение анизотропии роста, характерного для клеток ЦЗР, связано с дезориентацией КМТ в ДЗР в условиях клиностаტიрования.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Tabony J., Job D.* Gravitational symmetry breaking in microtubular dissipative structures // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* — 1992. — **89.** — P. 6948–6952.
2. *Papaseit C., Pochon N., Tabony J.* Microtubule self-organization is gravity-dependent // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* — 2000. — **97.** — P. 8364–8368.
3. *Tabony J., Glade N., Papaseit C., Demongeot J.* Gravity dependence of microtubule preparations // *Adv. Space Bio Med.* — 2002. — **8.** — P. 19–58.
4. *Baluska F., Barlow P. W., Hauskrecht M., Kubica S., Parker J. S., Volkman D.* Microtubule arrays in maize root cells. Interplay between the cytoskeleton, nuclear organization and post-mitotic cellular growth patterns // *New Phytol.* — 1995. — **130.** — P. 177–192.
5. *Wasteneys G.O.* Progress in understanding the role of microtubules in plant cells // *Curr. Opin. Plant Biol.* — 2004. — **7.** — P. 651–660.
6. *Wasteneys G.O., Galway M.E.* Remodeling the cytoskeleton for growth and form: an overview with some new views // *Annu. Rev. Plant Biol.* — 2003. — **54.** — P. 691–722.
7. *Dixit R., Cyr R.* The cortical microtubule array: from dynamics to organization // *Plant Cell.* — 2004. — **16.** — P. 2546–2552.
8. *Lloyd C., Chan J.* Microtubules and the shape of plants to come // *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* — 2004. — **5.** — P. 13–22.
9. *Ishikawa H., Evans M.L.* Specialized zone of development of roots // *Plant Physiol.* — 1995. — **109.** — P. 725–727.
10. *Ishikawa H., Evans M.L.* The role of the distal elongation zone in the response of maize roots to auxin and gravity // *Plant Physiol.* — 1993. — **102.** — P. 1203–1210.
11. *Baluska F., Barlow P.W., Kubica S.* Importance of post-mitotic isodiametric growth (PIG) region for growth and development of roots // *Plant Soil.* — 1994. — **167.** — P. 31–41.
12. *Baluska F., Parker J.S., Barlow P.W.* Specific patterns of cortical and endoplasmic microtubules associated with cell growth and tissue differentiation in roots of maize (*Zea mays* L.) // *J. Cell Sci.* — 1992. — **103.** — P. 191–200.
13. *Fisher K., Schopfer P.* Interaction of auxin, light, and mechanical stress in orienting microtubules in relation to tropic curvature in the epidermis of maize coleoptiles // *Protoplasma.* — 1997. — **196.** — P. 108–116.
14. *Shibaoka H.* Microtubules and the regulation of cell morphogenesis by plant hormones // *The Cytoskeletal Basis of Plant Growth and Form* / Ed. C.W. Lloyd. — London: Acad. press, 1991. — P. 159–168.
15. *Wymer C.L., Fisher D.D., Moore R.C., Cyr R.J.* Elucidating the mechanism of cortical microtubule reorientation in plant cells // *Cell Motil. Cytoskeleton.* — 1996. — **35.** — P. 162–173.
16. *Shevchenko G.V.* Patterns of cortical microtubules formed in epidermis of *Beta vulgaris* L. roots under clinorotation // *Adv. Space Res.* — 1999. — **24,** № 6. — P. 739–742.
17. *Weigel D., Glazebrook J.* *Arabidopsis: a laboratory manual.* — New York: Gold Spring Harbor Laboratory Press, 2002. — 354 p.
18. *Лакин Г.Ф.* Биометрия. — М.: Высш. шк., 1990. — 352 с.
19. *Chan J., Mao G., Smertenko A., Hussey P.J., Naldrett M., Bottrill A., Lloyd C.W.* Identification of a MAP65 isoform involved in directional expansion of plant cells // *FEBS Lett.* — 2003. — **534.** — P. 161–163.
20. *Hable W.E., Bisgrove S.R., Kropf D.L.* To shape a plant—the cytoskeleton in plant morphogenesis // *Plant Cell.* — 1998. — **10.** — P. 1772–1774.
21. *Baskin T.I.* On the alignment of cellulose microfibrils by cortical microtubules: A review and a model // *Protoplasma.* — 2001. — **215.** — P. 150–171.
22. *McClinton R.S., Sung Z.R.* Organization of cortical microtubules at the plasma membrane in *Arabidopsis* // *Planta.* — 1997. — **201.** — P. 252–260.
23. *Burk H.D., Ye Z.H.* Alteration of oriented deposition of cellulose microfibrils by mutation of a katanin-like mic-

- rotubule-severing protein // *Plant Cell*. — 2002. — **14**. — P. 2145—2160.
24. Baskin T.I., Beemster G.T., Judy-March J.E., Marga F. Disorganization of cortical microtubules stimulates tangential expansion and reduces the uniformity of cellulose microfibril alignment among cells in the root of *Arabidopsis* // *Plant Physiol.* — 2004. — **135**. — P. 2279—2290.
25. Baskin T.I., Wilson J.E., Cork A., Williamson R.E. Morphology and microtubule organization in *Arabidopsis* roots exposed to oryzalin or taxol // *Plant Cell Physiol.* — 1994. — **35**. — P. 935—942.
26. Sugimoto K., Himmelspach R., Williamson R.E., Wasteneys G.O. Mutation or drug-dependent microtubule disruption causes radial swelling without altering parallel cellulose microfibril deposition in *Arabidopsis* root cells // *Plant Cell*. — 2003. — **15**. — P. 1414—1429.
27. Hashimoto T. Dynamics and regulation of plant interphase microtubules: a comparative view // *Curr. Opin. Plant Biol.* — 2003. — **6**. — P. 568—576.
28. Granger C.L., Cyr R.J. Spatiotemporal relationships between growth and microtubule orientation as revealed in living root cells of *Arabidopsis thaliana* transformed with green-fluorescent-protein gene construct GFP-MBD // *Protoplasma*. — 2001. — **216**. — P. 201—214.
29. Blancaflor E.B., Hasenstein K.H. Growth and microtubule orientation of *Zea mays* roots subjected to osmotic stress // *Int. J. Plant Sci.* — 1995. — **156**, № 6. — P. 774—783.
30. Nick P. Signaling to the microtubular cytoskeleton in plants // *Int. Rev. Cytol.* — 1998. — **184**. — P. 33—80.
31. Sivaguru M., Pike S., Gassmann W., Baskin T.I. Aluminum rapidly depolymerizes cortical microtubules and depolarizes the plasma membrane: evidence that these responses are mediated by a glutamate receptor // *Plant Cell Physiol.* — 2003. — **44**. — P. 667—675.
32. Abdrakhamanova A., Wang Q.Y., Khokhlova L., Nick P. Is microtubule disassembly a trigger for cold acclimation? // *Plant Cell Physiol.* — 2003. — **44**. — P. 676—686.
33. Blancaflor E.B., Hasenstein K.H. Organization of cortical microtubules in graviresponding maize roots // *Planta*. — 1993. — **191**. — P. 231—237.
34. Wasteneys G.O. Microtubules show their sensitive nature // *Plant Cell Physiol.* — 2003. — **44**, № 7. — P. 653—654.

Надійшла 01.02.06