

Я.М. КАЛІНІНА

Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України  
вул. Терещенківська, 2, МСП-1, Київ, 01001

## СТРУКТУРНІ ЗМІНИ ГОЛОВНОГО КОРЕНЯ ПРОРОСТКІВ *BRASSICA RAPA* L. ЗА УМОВ КЛІНОСТАТУВАННЯ

*Ключові слова:* кліностатування, ростові зони кореня, проліферативна активність

Гравітаційна сила на Землі є одним з постійно діючих екологічних факторів навколишнього середовища, що визначає просторову орієнтацію рослин. Враховуючи необхідність рослинного компонента як автотрофної ланки при створенні позаземних контрольованих екологічних систем життєзабезпечення [15], істотного значення набуває питання про те, як саме відсутність гравітації в космічному польоті впливає на ріст та розвиток рослинних організмів.

Наввні літературні дані щодо мітотичної активності меристематичних клітин та росту клітин розтягом досить неоднозначні: поряд з повідомленнями про значне зменшення довжини кореневої меристеми [1, 7, 14], розмірів її клітин [6] та довжини зони розтягу в умовах космічного польоту [5], є дані про відсутність змін у довжині меристеми [5, 6] і розмірах меристематичних клітин [1] та збільшення розмірів клітин в зоні розтягу [5, 11] за умов зміненої сили тяжіння.

Останнім часом в апексі кореня виділяють дистальну зону розтягу (пост-мітотичного ізодіаметрального росту, або перехідну), клітини якої є чутливішими до ендогенної інформації та впливу екзогенних факторів порівняно з іншими ростовими зонами кореня [9, 10, 17]. Літературні відомості щодо впливу умов зміненої сили тяжіння на розміри цієї зони відсутні. Оскільки процеси поділу та розтягу клітин лежать в основі росту та розвитку рослин [2], метою нашої роботи було дослідження ростових зон головного кореня проростків *Brassica rapa* L. в умовах кліностатування.

### Матеріал та методика досліджень

Об'єктом дослідження були корені проростків *Brassica rapa*, вирощені на горизонтальному кліностаці (2 об./хв). Доцільність використання кліностаців для моделювання біологічних ефектів мікрогравітації доведена багатьма дослідниками [5, 16, 20]. У дослідному (в умовах кліностатування) та контрольному варіантах насінини *B. rapa* пророщували при освітленні 12 тис. лк і температурі 24–25 °С в трубочках з фільтрувального паперу, вставлених у цукрові стаканчики з живильним середовищем Хогланда. На 6-ту добу апекси головних коренів довжиною приблизно 5 мм фіксували сумішшю 1%-го глютаральдегіду та 5%-го параформальдегіду (1:1) та дофіксували 1%-ним тетраоксидом осмію на какодилатному буфері (рН 7,2). Зневоднення в серії спиртв зростаючої кон-

центрації та ацетону і переведення фіксованого матеріалу в суміш епоксидних смол епон-аралдит здійснювали за загальноприйнятими методиками [8]. Поздовжні зрізи (завтовшки 1,5–1,8 мкм) виготовляли на ультрамікромомі XL (RMC). Препарати коренів фарбували толуїдиновим синім або застосовували Шик-реакцію з підфарбовуванням толуїдиновим синім [8]. Дослідження проводили у світлооптичному мікроскопі NF. Для вимірювань анатомічних елементів було використано окуляр-мікромір MOB-1-15 × (ЛОМО).

Вимірювали лінійні розміри протодерми та двох шарів перилеми в зоні меристеми, а також епідерми, субепідермального та другого шарів кори в дистальній та основній зонах розтягу. Довжину меристематичної зони визначали від центру спокою до початку розтягання клітин [1]. Зону розтягу розділяли на дистальну та основну зони. Дистальну зону розтягу розглядали як зону постмітотичного ізодіаметрального росту, яка знаходиться між меристемою та основною зоною розтягу [9, 17, 18]. Початком основної зони розтягу вважали ділянку, де довжина клітин збільшувалася удвічі порівняно з клітинами початку дистальної зони розтягу, а закінченням вважали рівень утворення кореневих волосків, характерних для зони диференціації.

Також вимірювали лінійні розміри клітин по поздовжній та поперечній осях кореня, які в таблицях позначені як «висота» та «діаметр». Вимірювали клітини поздовжніх рядів меристеми, перехідної зони та зони розтягу. У протодермі та перилемі меристематичної зони підраховували середню кількість клітин у поздовжніх рядах, починаючи від центру спокою до початку розтягу клітин в цих рядах.

Статистичну обробку здійснювали за загальноприйнятими методами [4]. Достовірність різниці оцінювали за критерієм Стьюдента.

### Результати досліджень та їх обговорення

Аналіз препаратів коренів 6-добових проростків свідчить про те, що процеси гістогенезу відбувалися аналогічно в коренях проростків контрольного та дослідного варіантів. Меристематичні ініціали перилеми в головному корені формують три шари клітин кори, які чітко виділяються на поздовжніх зрізах коренів як окремі ряди клітин. В контролі з усіх поздовжніх рядів клітин перилеми та протодерми меристематичної зони, в якій відбуваються процеси мітозу, клітини виходили неодноразово, що проявлялося в нерівномірному переході клітин різних поздовжніх рядів до наступної ростової зони (рис. 1). В умовах кліностагування поділ клітин зупинявся більш різко, тому межа між меристемою та перехідною зоною в паралельних клітинних рядах була виразнішою.

При дослідженні меристематичної зони, дистальної та основної зон розтягу кореня виявилось, що в меристемі та дистальній зоні розтягу внаслідок кліностагування довжина різних клітинних рядів зменшувалася неоднаково, в той час як в основній зоні розтягу такої різниці не спостерігали (табл. 1). Найбільшою була різниця між коренями проростків контрольного і дослідного варіантів в меристематичній зоні: перилема за умов кліностагування зменшувалася значно більше порівняно з протодермою. В дистальній зоні розтягу,

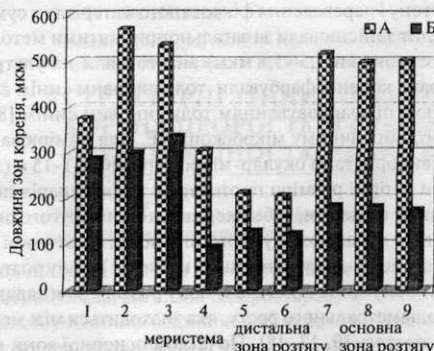


Рис. 1. Довжина тканинних шарів у різних ростових зонах головного кореня проростків *Brassica rapa* L. Умовні позначення: А — контроль, Б — кліностакування (тут і на рис. 2–4); 1 — протодерма, 2 — зовнішній шар перилеми, 3 — внутрішній шар перилеми, 4 — епідерма, 5 — субепідермальний шар, 6 — кора, 7 — епідерма, 8 — субепідермальний шар, 9 — кора (тут і на рис. 3)

Fig. 1. Length of tissue layers of different growth zones of main root of *Brassica rapa* L. seedlings. Symbols indicate: A — control, B — clinorotation (here and on the Fig. 2–4); 1 — protoderm, 2 — outer layer of periblem, 3 — inner layer of periblem, 4 — epidermis, 5 — subepidermal layer, 6 — cortex, 7 — epidermis, 8 — subepidermal layer, 9 — cortex (here and on the Fig. 3)

навіпаки, за умов кліностакування епідермальний шар зменшувався відчутніше порівняно з корою цієї зони.

У середньому за умов кліностакування довжина ростових зон кореня була достовірно меншою порівняно з контролем на 38 % в меристемі, на 50 % — в дистальній зоні розтягу і на 64 % — в основній зоні розтягу (рис. 2). Зауважимо, що середня довжина ростових зон кореня змінювалася нерівномірно в проростках контрольного і кліностакового варіантів, що призводило до порушення співвідношення між середніми розмірами різних ростових зон кореня.

Таблиця 1. Довжина тканинних шарів різних ростових зон головного кореня 6-добових проростків *Brassica rapa* L.

Зона кореня	Шар клітин	Довжина ростових зон кореня, мкм	
		контроль	кліностаг
Меристема	протодерма	375,9 ± 34,9	288,1 ± 17,4
	зовнішній шар перилеми	570,8 ± 47,8	299,5 ± 22,4
	внутрішній шар перилеми	535,9 ± 41,3	336,7 ± 24,4
Дистальна зона розтягу	епідерма	305,6 ± 52,7	95,5 ± 10,4
	субепідермальний шар	212,3 ± 24,4	129,8 ± 13,9
	кора	206,5 ± 23,1	124,0 ± 18,3
Основна зона розтягу	епідерма	518,1 ± 7,2	184,4 ± 21,9
	субепідермальний шар	498,3 ± 50,2	182,1 ± 16,3
	кора	503,4 ± 33,1	175,1 ± 17,6

МЕРИСТЕМАТИЧНОГО  
ВІДО ЗАДАЧА. ЗАДАЧА  
ТІТОНІОН ДІАНО  
УМОВ МІКРОБІОЛІ  
КОСТІ ІНІЦІА

Рис. 2. Довжина ростових зон головного кореня 6-добових проростків *Brassica rapa*

Fig. 2. Length of growth zone of main root of 6-day *Brassica rapa* seedlings



Під впливом кліностакування довжина дистальної зони розтягу, як і інших ростових зон кореня, зменшилася, але не в такій мірі, як основна зона розтягу. Зменшення дистальної зони розтягу, яка, за сучасними уявленнями, відіграє ключову роль у гравітропічній реакції [12, 13, 18], можливо, пов'язане з меншою кількістю клітин, що знаходяться в цій зоні, оскільки суттєвих відмінностей у висоті цих клітин не спостерігалось.

Порівняння середніх розмірів клітин у меристемі коренів та дистальній зоні розтягу не виявило достовірної різниці між коренями проростків контрольного і дослідного варіантів (табл. 2). Тільки в корі основної зони розтягу відзначено достовірне зменшення висоти клітин за умов кліностакування порівняно з контролем — на 16 % в субепідермальному шарі і на 20 % в другому шарі кори (рис. 3). Підрахунок кількості клітин у поздовжніх рядах меристе-

Таблиця 2. Лінійні розміри клітин головного кореня проростків *Brassica rapa*

Зона кореня	Шар клітин	Розміри клітин, мкм			
		контроль		кліностат	
		висота	діаметр	висота	діаметр
Меристема	протодерма	9,8 ± 0,4	22,5 ± 0,4	12,0* ± 1,1	19,6* ± 0,8
	зовнішній шар перифлеми	8,5 ± 0,2	17,9 ± 0,4	9,6 ± 0,7	15,1* ± 0,9
	внутрішній шар перифлеми	9,7 ± 0,3	12,7 ± 0,3	11,3* ± 0,9	10,0* ± 0,5
Дистальна зона розтягу	епідерма	24,3 ± 0,6	22,2 ± 0,6	26,0 ± 2,2	20,2 ± 1,3
	субепідермальний шар	21,7 ± 0,5	22,9 ± 0,8	19,8 ± 3,3	21,7 ± 1,5
	кора	19,6 ± 0,7	18,1 ± 0,6	21,7 ± 2,1	15,2* ± 1,0
Основна зона розтягу	епідерма	66,2 ± 2,6	19,8 ± 0,5	50,0 ± 9,4	17,3 ± 1,6
	субепідермальний шар	51,9 ± 1,7	20,3 ± 0,6	41,4* ± 3,6	21,4 ± 2,2
	кора	43,8 ± 2,1	13,6 ± 0,3	36,7* ± 2,5	13,8* ± 1,1

Примітка. «\*» — різниця достовірна при  $p < 0,05$ .

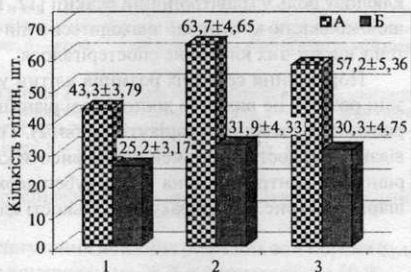


Рис. 3. Висота клітин різних ростових зон головного кореня проростків *Brassica rapa*

Fig. 3. Length of cells of different growth zones of main root of *Brassica rapa* seedlings

Рис. 4. Середня кількість клітин в меристемі головного кореня проростків *Brassica rapa*. Умовні позначення: 1 – протодерма, 2 – зовнішній шар перилеми, 3 – внутрішній шар перилеми

Fig. 4. Average number of meristematic cells of main root of *Brassica rapa* seedlings. Symbols indicate: 1 – protoderm, 2 – outer layer of perilem, 3 – inner layer of perilem



матичної зони показав значне її зменшення в умовах кліностакування. У протодермі кількість клітин була меншою на 41 %, в зовнішньому шарі перилеми — на 50 %, у внутрішньому її шарі — на 47 % (рис. 4).

У літературі є дані про зниження активності кореневої меристеми проростків в умовах орбітального польоту порівняно з наземним контролем [3]. Так, показано значне зменшення довжини меристематичної зони кореня проростків *Lactuca sativa* [7] та *Zea mays* [1] в умовах мікрогравітації. Відмічено, що розтяг клітин кореня проростків *Zea mays* за умов мікрогравітації починається значно ближче до його кінчика порівняно з контролем [1, 12], що, на думку авторів, пов'язане зі зменшенням на один цикл поділу клітин меристеми, оскільки розміри клітин цієї зони за умов мікрогравітації лишаються такими ж, як і в контролі [1]. В той же час в іншому експерименті було встановлено, що клітини кореневої меристеми проростків *Zea mays*, що виростили в умовах космічного польоту, відрізнялися від контрольного варіанту меншими розмірами [6].

Зменшення довжини зони розтягу за умов космічного польоту порівняно з наземним і польотним контролем, створеним за допомогою бортової центрифуги з 1 g, відмічено в коренях проростків *Lactuca sativa*, причому розміри

меристематичної зони кореня в цьому експерименті, на відміну від попередньо згаданих, майже не змінювалися. Скорочення періоду росту коренів розтягом пов'язане, як вважають автори, з прискоренням диференціації клітин за умов мікрогравітації. Щодо розмірів клітин, то не встановлено чіткої залежності впливу умов мікрогравітації та кліностагування на цей показник: якщо у *Pisum sativum* розміри клітин в зоні розтягу достовірно збільшувалися, то у *Lactuca sativa* були в межах похибки [5]. Є дані, що порівняно з контролем довжина клітин в зоні розтягу значно перевищує таку в коренях кліностагованих проростків *Phaseolus vulgaris*. На думку авторів, наявність довших клітин в зоні розтягу коренів кліностагового варіанта пов'язана з активізацією процесів розтягу за умов кліностагування [11].

Отже, як свідчать дані, отримані на коренях 6-добових проростків *Brassica rapa*, саме істотна різниця в кількості меристематичних клітин зумовлює зменшення довжини меристематичної зони, що впливає на формування наступних ростових зон по мірі просування клітин від зони меристеми до дистальної та основної зон розтягу. Отримані результати можуть свідчити про зниження проліферативної активності меристеми за умов кліностагування порівняно з контролем, що узгоджується з положенням про те, що проліферуючі та метаболічно активні клітини є найбільш чутливими до дії мікрогравітації та кліностагування [19].

#### Висновки

Виявлено достовірне зменшення довжини меристематичної зони власне кореня, дистальної та основної зон розтягу за умов кліностагування порівняно з контролем, що узгоджується з більшістю літературних відомостей.

Відсутність достовірної різниці в лінійних розмірах меристематичних клітин при одночасному значному зменшенні кількості клітин в поздовжніх рядах периферії та протодерми за умов кліностагування порівняно з контролем свідчить про зниження проліферативної активності меристеми за умов кліностагування.

1. Бармичева Е. М., Гриф В. Г., Таирбеков М. Г. Рост и структура клеток апекса корня кукурузы под влиянием космического полета // Цитология. — 1989. — 31. — С. 1324—1328.
2. Иванов В. Б. Пролiferация клеток в растениях // Итоги науки и техники. Сер. Цитол. — М.: ВИНТИ, 1987. — № 5. — С. 3—217.
3. Корюм Е. Л., Сытник К. М., Белявская Н. А., Жадко С. И. и др. Современные проблемы космической клеточной фитобиологии. — М.: Наука, 1994. — 293 с. — (Пробл. космич. Биологии. Т. 73).
4. Лакин Г. Ф. Биометрия. — М.: Высш. шк., 1990. — 352 с.
5. Меркис А. И. Сила тяжести в процессах роста растений. — М.: Наука, 1990. — 185 с. — (Пробл. космич. биологии; Т. 68).
6. Таирбеков М. Г., Гриф В. Г., Бармичева Е. М., Волович Е. М. Цитоморфология и ультраструктура корневой меристемы кукурузы в невесомости // Изв. АН СССР. Сер. Биол. — М.: Наука, 1986. — № 5. — С. 680—687.
7. Швагжде Д. В. Изучение роли гравитации в процессах пространственной ориентации, морфогенеза и роста первичных корней салата: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — Вильнюс: Ин-т ботаники АН ЛитССР, 1991. — 160 с.
8. *Arabidopsis: a laboratory manual* / Weigel D., Glazebrook J. — New York: Gold Spring Harbor Laboratory Press, 2002. — P. 93—95.

9. Baluška F., Barlow P.W., Kubica S. Importance of the postmitotic growth (PIG) region for growth and development of roots // Plant and Soil. — 1994. — 167. — P. 31–42.
10. Baluška F., Volkmann D., Barlow P.W. A polarity crossroad in the transition growth zone of maize root apices: cytoskeletal and developmental implications // J. Plant. Growth Regul. — 2001. — 20. — P. 170–181.
11. Aronne G., De Micco V., De Pascale S. The effect of simulated microgravity on seed germination and seedling anatomy of *Phaseolus vulgaris* L. // Journ. of Gravitat. Physiol. — 2002. — 9, № 1. — P. 233–234.
12. Chen R., Guan C., Boonsirichai K., Masson P. Complex physiological and molecular processes underlying root gravitropism // Plant Molecular Biol. — 2002. — 49. — P. 305–317.
13. Chen R., Rosen E., Masson P.H. Gravitropism in higher plants // Plant Physiol. — 1999. — 120. — P. 343–350.
14. Darbelly N. Effets de la stimulation gravitropique et de la microgravitu sur la differenciation cellulaires dans les racines primaires // Bull. Soc. Bot. Fr. — 1988. — № 135. — P. 229–250.
15. Ferl R., Wheeler R., Levine H.G., Paul A.L. Plants in space // Current opinion in plant biology. — 2002. — 5, № 2.
16. Hoson T., Kamisaka S., Masuda Yo., Yamashita M., Buchen B. Evaluation of three-dimensional clinostat as a simulator of weightlessness // Planta. — 1997. — 203. — P. 187–197.
17. Ishikawa H., Evans M. Specialized zones of development in roots // Plant Physiol. — 1995. — 109. — P. 725–727.
18. Ishikawa H., Evans M. The role of the distal elongation zone in the response of maize roots to auxin and gravity // Ibid. — 1993. — 102. — P. 1203–1210.
19. Kordyum E.L. Biology of plant cell microgravity and under clinostating // Int. Rev. of Cytology. — 1997. — 171. — P. 1–72.
20. Sievers A., Hejnowicz Z. How well does the clinostat mimic the effect of microgravity on plant cells and organs? // ASGSB Bulletin. — 1993. — 5, № 2. — P. 69–75.

Рекомендує до друку

Надійшла 12.09.2003

Л.І. Мусатенко

Я.М. Калинина

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

#### СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ГЛАВНОГО КОРНЯ ПРОРОСТКОВ *BRASSICA RAPA* L. В УСЛОВИЯХ КЛИНОСТАТИРОВАНИЯ

Исследовано влияние клиностаტიрования на формирование ростовых зон в корнях проростков *Brassica rapa*. Показано сокращение длины меристемы, переходной зоны и зоны растяжения в условиях клиностаტიрования по сравнению с контролем. Отсутствие достоверно значимых различий в размерах меристематических клеток при одновременном уменьшении их количества позволило сделать вывод о снижении пролиферативной активности меристемы в условиях клино-стаტიрования.

Ya. M. Kalinina

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

#### STRUCTURAL CHANGES OF MAIN ROOT OF *BRASSICA RAPA* L. SEEDLINGS UNDER THE CLINOROTATION CONDITIONS

Influence of clinorotation on formation of specialized zones of development in roots of *Brassica rapa* seedlings has been investigated. It was shown that clinorotation causes shortening of meristem, transition growth zone (distal elongation zone) and elongation zone. Lack of significant difference in extents of meristematic cells in addition to simultaneous decreasing cell amount allowed concluding that proliferation activity of meristem under the clinorotation conditions depressed.