

УДК 581.1

РОСТОВЫЕ РЕАКЦИИ КЛЕТОК КОНУСА НАРАСТАНИЯ ТЕПЛОЛЮБИВЫХ РАСТЕНИЙ ПРИ ДЕЙСТВИИ И ПОСЛЕДЕЙСТВИИ ПОНИЖЕННЫХ ТЕМПЕРАТУР

А.С. ЛУКАТКИН, Э.Ш. ШАРКАЕВА, С.В. АПАРИН

*Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева
430005 Саранск, ул. Большевистская, 68*

Исследованы ростовые реакции (митотический индекс, размер клеток в зоне растяжения) клеток конуса нарастания побегов кукурузы (*Zea mays* L.) и проса (*Panicum miliaceum* L.) при действии охлаждения различной интенсивности (для растений кукурузы 0 и 2 °С, для проса 2 и 4 °С) и длительности (от 1 до 24 ч), а также в последствии охлаждения (до 10 сут после окончания охлаждения). Пониженные положительные температуры вызывали торможение ростовых процессов в конусе нарастания теплолюбивых растений. Снижение митотического индекса и размера клеток нелинейно зависело от температуры и длительности холодовой экспозиции. В последствии пониженных температур клеточный рост проявлял тенденцию к нормализации. Обсуждены закономерности и возможные механизмы нарушения ростовых процессов при действии охлаждения и его последствии.

Ключевые слова: *Zea mays* L., *Panicum miliaceum* L., теплолюбивые растения, охлаждение, митотический индекс, размер клеток зоны растяжения.

Рост как интегральный процесс является одним из главных в реализации наследственной программы организма, обеспечивая его морфо- и онтогенез. Пониженные положительные температуры (выше 0 °С, но ниже 10 °С) приводят к повреждению теплолюбивых растений — выходцев из тропических областей Земли, в которых не наблюдаются такие понижения температуры, и растения в ходе эволюции не могли выработать адаптивные приспособления к ним [7]. Одним из характерных проявлений действия пониженных температур на теплолюбивые растения является замедление роста [10], особенно это касается деления и растяжения клеток [13]. Показано, что скорости деления клеток и растяжения листа кукурузы реагировали на понижение температуры линейно [16].

Температурные пределы проявления меристематической активности в апексах корня у различных растений составляют от –1 до 35–40 °С; вблизи нижней и верхней границ этого интервала скорости деления и растяжения клеток уже не совпадают, и удлинение корня замедлено из-за преждевременной дифференциации клеток [18]. Вследствие этого скорость роста первичного корня кукурузы при 5 °С была примерно в 100 раз меньше, чем при 20 °С. Уменьшалась также протяженность апикальной меристемы, она проявляла лишь слабую активность пролиферации [14]. После переноса растений в тепло частота митозов возрастала и меристема увеличивалась до исходных размеров не только вследствие повышения митотической активности [15], но и за счет стимуляции де-

ления клеток покоящегося центра [28]. Наблюдаемые изменения меристемы были прямо связаны с длительностью охлаждения. Резкое уменьшение числа делящихся клеток при охлаждении приводило к снижению митотического индекса в апикальных точках роста проса, кукурузы, огурца [3, 4, 10]; это отмечено также для базальной части молодых листьев кукурузы [17].

В корнях кукурузы, сои, фасоли при пониженной температуре отмечено значительное замедление скорости роста клеток в зоне растяжения [10, 21]. При этом реакция клеток на пониженные температуры зависела от стадии роста клеток и сортовых особенностей растения. Клетки корня, в которых рост растяжением был остановлен длительным охлаждением, не возобновляли его; последующий рост обеспечивался растяжением клеток, вновь созданных меристемой [24].

Пониженные температуры вызывали ускоренную дифференциацию клеток. Так, в охлажденных кончиках корня кукурузы наблюдали прогрессирующую дифференциацию некоторых линий клеток, пока от покоящегося центра не оставалась лишь незначительная часть [28].

Клетки, находящиеся на разных стадиях роста, обладали различной чувствительностью к охлаждению: самыми холодоустойчивыми оказались дифференцированные клетки, несколько менее — меристематические клетки, самая низкая устойчивость обнаружена у клеток, находящихся на стадии растяжения [1]. У устойчивых сортов при охлаждении сохраняется стационарность роста: равное замедление деления клеток и перехода к растяжению. У них высокая гетерогенность клеток апикальной меристемы по длительности клеточного цикла и выше темпы восстановления роста после окончания действия пониженной температуры [11].

Торможение роста на всех этапах онтогенеза клетки приводило к значительным изменениям роста на уровне растения и его органов [26]. Однако закономерности изменений клеточного роста в динамике охлаждения, как и восстановления роста в ходе репарации холодового повреждения, остаются слабо изученными. В связи с этим целью нашей работы было исследование динамики изменений ростовых процессов в апексе побегов кукурузы и проса при действии и последствии охлаждения различной интенсивности.

Методика

Материалом служили растения кукурузы (*Zea mays* L.) гибрида Днепропетровский 247 и проса (*Panicum miliaceum* L.) сорта Быстрое. Кукуруза менее чувствительна к пониженным температурам по сравнению с просом [5]. Работу проводили в условиях вегетационного опыта. Семена, обработанные 0,05 %-м раствором перманганата калия, выдерживали 24 ч для набухания в водопроводной воде при температуре 25 °С, после чего высаживали в сосуды с почвой. Растения выращивали при температуре 22–24 °С, освещенности люминесцентными лампами 5000 лк при 12–14 ч световом дне, влажности почвы 60–80 % полной влагоемкости до фазы 2–3 настоящих листьев (кукуруза, возраст 11 сут) или до фазы трех настоящих листьев (просо, возраст 15 сут).

Растения охлаждали в холодильной камере при температурах 0 и 2 °С (кукуруза), 2 и 4 °С (просо) со следующими экспозициями: 1, 4, 16, 24 ч (в некоторых опытах — 12 ч). Контролем служили растения, находившиеся это же время в темноте при комнатной температуре (22–24 °С). До охлаждения растений, сразу по окончании охлаждения и спустя 1, 3,

7, 10 сут после их выдерживания в оптимальных температурных условиях в растениях определяли ростовые параметры клеток конуса нарастания. Для этого фиксировали верхнюю часть стебля (длиной 15 мм) с конусом нарастания в 70 %-м этаноле. Постоянные препараты готовили по Паушевой [8] с некоторыми модификациями: проведение материала начинали с 70 %-го спирта. Препараты окрашивали гематоксилином, который готовили по ускоренному способу [9]. На полученных препаратах в меристеме конуса нарастания определяли митотический индекс — отношение числа клеток, находящихся в стадии деления, к общему числу клеток меристематической зоны на препарате. Митотический индекс выражали в промилле (‰).

Ниже делящихся клеток располагаются клетки так называемой переходной зоны, которые отличаются значительной вакуолизацией и удлинением, что указывает на вступление их во вторую стадию роста — растяжение. Размер клеток (длину) измеряли с помощью окуляр-микрометра МОВ-1.

В работе использовали реактивы отечественного производства: перманганат калия, гематоксин, железоаммонийные квасцы, бензол, парафин, бальзам, этанол медицинский 70 %- и 96 %-й.

Все опыты повторяли не менее 3 раз. При каждом измерении ростовых параметров просматривали препараты, приготовленные с 3—6 растений. При определении митотического индекса просматривали по 500—600 клеток, а для определения размера клеток в конусе нарастания измеряли по 200—300 клеток каждого варианта. Значения на рисунках и в таблицах представляют среднеарифметические из всех определений с их стандартными ошибками.

Результаты и обсуждение

Митотическая активность клеток меристематической зоны в конусе нарастания стебля. На постоянных препаратах, приготовленных сразу после окончания охлаждения теплолюбивых растений, определяли митотическую активность клеток и рассчитывали митотический индекс. Обнаружено, что у 11-суточных растений кукурузы выдерживание при температуре 2 °С замедляло процесс деления клеток во всех вариантах опыта (табл. 1).

После 1-часового охлаждения наблюдали достоверное снижение митотической активности клеток меристемы, этот показатель составлял 70,3 % относительно контроля. При удлинении холодовой экспозиции происходило прогрессирующее подавление деления клеток, так что после 4-часового охлаждения митотический индекс составлял 49,8 % по сравнению с неохлажденным контролем, а с удлинением охлаждения до 24 ч этот показатель был в 3,2 раза ниже, чем у растений контрольного варианта.

При более жестком режиме охлаждения (0 °С) подавление деления клеток выражалось сильнее, чем при температуре 2 °С. Так, охлаждение в течение 1 ч снижало митотический индекс до 53,8 % по сравнению с неохлажденным контролем; дальнейшее охлаждение (4 ч) тормозило деление клеток до 48,4 % относительно контроля. При 12-часовой холодовой экспозиции митотическая активность снижалась более чем в 3 раза относительно контроля (см. табл. 1). Следует отметить, что этот режим охлаждения (0 °С) приводил к гибели молодых растений кукурузы при экспозиции свыше 12 ч (проростки кукурузы при экспозиции 16 и 24 ч

РОСТОВЫЕ РЕАКЦИИ КЛЕТОК КОНУСА НАРАСТАНИЯ

ТАБЛИЦА 1. Митотический индекс меристематических клеток в конусе нарастания кукурузы после охлаждения при температурах 2 и 0 °С, %

Длительность охлаждения, ч	Сразу после охлаждения	Сутки после охлаждения			
		1	3	7	10
Контроль	136,5 ± 2,6	142,8 ± 3,0	135,2 ± 3,8	139,2 ± 4,0	136,2 ± 3,8
Температура 2 °С					
1	95,9 ± 3,6	111,1 ± 4,0	125,6 ± 4,2*	129,3 ± 3,8*	135,0 ± 2,8*
4	68,0 ± 4,6	80,2 ± 3,6	102,0 ± 4,6	109,6 ± 2,8	114,2 ± 3,4
16	49,8 ± 4,2	65,5 ± 4,2	73,8 ± 2,8	82,4 ± 3,1	89,0 ± 3,0
24	43,2 ± 2,0	48,9 ± 3,6	55,6 ± 4,1	62,4 ± 3,7	70,5 ± 2,7
Температура 0 °С					
1	73,4 ± 2,7	92,6 ± 3,6	95,8 ± 7,4	112,8 ± 4,0	129,5 ± 4,2*
4	66,0 ± 3,2	70,9 ± 4,5	78,6 ± 3,3	83,9 ± 4,9	103,4 ± 5,1
12	43,9 ± 2,0	45,2 ± 3,3	60,9 ± 1,1	60,9 ± 2,8	61,5 ± 3,8
16—24	Растения погибли				

*Здесь и в табл. 2—4: различия с контролем недостоверны при $P = 0,05$.

теряли тургор и быстро отмирали), чего не наблюдали при температуре 2 °С. Несмотря на различия в степени повреждения растений неблагоприятными температурными воздействиями, общая тенденция изменений митотического индекса при обеих температурах была сходной.

Охлаждение растений проса также снижало митотический индекс, однако это проявлялось не сразу и сильно зависело от температуры и длительности холодной экспозиции. После кратковременного охлаждения (1—4 ч) деление клеток меристемы не подавлялось; с удлинением экспозиции охлаждения (16—24 ч), особенно в вариантах с более жестким режимом охлаждения, митотическая активность прогрессирующе снижалась (табл. 2).

У растений проса, охлаждавшихся при температуре 4 °С, достоверные различия с контролем обнаружены только после 24 ч охлаждения: в этом варианте частота клеточных делений составила 79 % относительно контрольных растений. Охлаждение при температуре 2 °С снижало митотический индекс более заметно, однако достоверные его изменения также наблюдали после длительных экспозиций (16 и 24 ч). После 24-часового охлаждения митотический индекс составлял 68 % относительно контроля.

Определение митотической активности клеток конуса нарастания стебля после возвращения растений в оптимальные условия. Ростовые параметры определяли не только сразу по окончании охлаждения, но и в его последствии. У контрольных (не охлаждавшихся) растений митотическая активность меристематических клеток конуса нарастания в течение всего срока наблюдений (до 10 сут) оставалась практически неизменной (см. табл. 1). У охлажденных при температуре 2 °С растений кукурузы наблюдали тенденцию к усилению роста делением до уровня неохлаждавшихся растений, однако скорость его восстановления была неодинаковой. После кратковременного охлаждения (1 ч) нормализацию скорости деления наблюдали на 3-и сутки по окончании действия пониженной температуры, при более длительном охлаждении (4—24 ч) митотический

ТАБЛИЦА 2. Митотический индекс меристематических клеток в конусе нарастания проса после охлаждения при температурах 4 и 2 °С, %

Длительность охлаждения, ч	Сразу после охлаждения	Сутки после охлаждения			
		1	3	7	10
Контроль	41,6 ± 2,2	41,9 ± 3,5	42,4 ± 2,6	46,3 ± 2,6	47,2 ± 2,4
Температура 4 °С					
1	42,2 ± 2,1*	42,0 ± 3,1*	42,3 ± 2,8*	46,2 ± 2,9*	49,2 ± 2,4*
4	41,2 ± 2,3*	41,5 ± 3,5*	41,7 ± 2,2*	45,1 ± 3,2*	45,9 ± 3,2*
16	43,8 ± 3,2*	39,8 ± 3,2*	39,9 ± 2,4*	42,3 ± 2,7*	42,8 ± 3,3*
24	33,8 ± 3,4	34,0 ± 2,2	34,3 ± 3,0	36,5 ± 3,6	36,8 ± 2,8
Температура 2 °С					
1	40,3 ± 2,1*	40,4 ± 3,2*	40,9 ± 3,5*	42,3 ± 4,1*	44,6 ± 3,2*
4	39,6 ± 3,1*	37,1 ± 4,0*	37,3 ± 2,4*	42,5 ± 2,2*	44,1 ± 2,8*
16	32,0 ± 4,2	32,1 ± 2,6	32,3 ± 2,9	33,3 ± 2,5	33,8 ± 2,9
24	28,4 ± 2,9	28,3 ± 2,3	28,3 ± 3,0	29,3 ± 3,1	29,8 ± 3,1

индекс полностью не восстанавливался, хотя отмечено некоторое увеличение числа клеточных делений, указывающее на тенденцию к восстановлению.

Определения митотического индекса в конусе нарастания побегов кукурузы в последствии охлаждения при температуре 0 °С показали, что в этом режиме репарация деления клеток еще сильнее зависела от продолжительности действия пониженных температур. Охлажденные в течение 1 ч растения достигали уровня митотической активности растений контрольного варианта на 10-е сутки после возвращения в оптимальные условия. Для длительных холодных экспозиций (4 и 12 ч) полного восстановления этого параметра не отмечено даже спустя 10 сут после охлаждения. Митотический индекс у охлажденных растений был более чем в 2 раза ниже по сравнению с растениями контрольного варианта, однако прослеживалась тенденция к восстановлению роста делением.

Митотический индекс клеток конуса нарастания проса в последствии охлаждения также зависел от температуры и длительности холодной экспозиции (см. табл. 2). После кратковременного охлаждения (1—4 ч) при температурах 4 и 2 °С деление клеток меристемы не ингибировалось, и в последствии митотический индекс не отличался от уровня контрольных растений. С удлинением охлаждения (24 ч при 4 °С и 16—24 ч при 2 °С), особенно в вариантах с более жестким режимом, митотическая активность оставалась достоверно ниже неохлажденного контроля до конца периода наблюдений. Здесь следует отметить лишь слабую тенденцию к восстановлению частоты митозов.

Размеры клеток зоны растяжения конуса нарастания стебля. Размеры клеток в стадии растяжения, находящихся на одинаковом удалении от зоны деления, уменьшались в результате охлаждения растений кукурузы при температуре 2 °С (табл. 3).

Даже кратковременное охлаждение (в течение 1 ч) достоверно подавляло рост растяжением, размер клеток составил 73 % размера контрольных. При более длительных холодных экспозициях размеры кле-

РОСТОВЫЕ РЕАКЦИИ КЛЕТОК КОНУСА НАРАСТАНИЯ

ТАБЛИЦА 3. Размеры клеток зоны растяжения конуса нарастания кукурузы после охлаждения при температурах 2 и 0 °С (длина, мкм)

Длительность охлаждения, ч	Сразу после охлаждения	Сутки после охлаждения			
		1	3	7	10
Контроль	14,8 ± 0,5	14,2 ± 0,5	14,4 ± 0,7	14,5 ± 0,5	14,6 ± 0,6
Температура 2 °С					
1	10,8 ± 0,6	10,9 ± 0,5	11,5 ± 0,6*	12,1 ± 0,4*	12,4 ± 0,4*
4	9,4 ± 0,5	10,7 ± 0,4	10,9 ± 0,5	11,1 ± 0,4	11,2 ± 0,6
16	8,5 ± 0,5	9,4 ± 0,6	9,8 ± 0,5	10,1 ± 0,5	10,5 ± 0,6
24	7,9 ± 0,4	8,2 ± 0,4	8,8 ± 0,4	9,1 ± 0,5	9,5 ± 0,3
Температура 0 °С					
1	10,2 ± 0,3	10,8 ± 0,4	10,9 ± 0,4	11,6 ± 0,6*	12,0 ± 0,5*
4	8,8 ± 0,3	9,2 ± 0,4	9,9 ± 0,5	10,5 ± 0,6	10,9 ± 0,4
12	7,4 ± 0,4	7,9 ± 0,5	8,6 ± 0,4	9,1 ± 0,4	9,7 ± 0,5
16–24	Растения погибли				

ток неуклонно уменьшались, но скорость процесса была несколько замедленной по сравнению с короткими экспозициями. Минимальное растяжение клеток наблюдали после 24-часового охлаждения, размеры клеток были в 1,9 раза меньше контрольных.

Охлаждение растений кукурузы при температуре 0 °С приводило к более выраженному уменьшению размеров клеток зоны растяжения, при удлинении холодовой экспозиции подавление роста клеток прогрессировало. Охлаждение в течение 1 ч вызывало уменьшение размеров клеток до 69 %, а после 4 ч охлаждения они были в 1,8 раза меньше, чем у неохлажденных растений. При самой длительной холодовой экспозиции (12 ч) они уменьшались в 2 раза.

Пониженные температуры влияли на рост клеток конуса нарастания проса, находящихся в стадии растяжения (табл. 4). Как при 4 °С, так и при 2 °С отмечена слабая тенденция к уменьшению длины клеток сразу после охлаждения. Однако достоверные различия с растениями контрольного варианта наблюдались лишь после самой длительной холодовой экспозиции (24 ч) в режиме охлаждения 2 °С.

Рост растяжением клеток конуса нарастания в последствии охлаждения. В последствии охлаждения растений кукурузы рост клеток растяжением несколько усиливался, однако восстановление размера клеток до контрольного уровня в вариантах опыта происходило по-разному (см. табл. 3). Так, нормализация размеров клеток после кратковременного охлаждения (1 ч) отмечена на 3-и сутки (при температуре 2 °С) и на 7-е сутки (при температуре 0 °С). В последствии более длительного охлаждения (4–24 ч) восстановление размеров растягивающихся клеток до уровня контрольных не отмечено даже на 10-е сутки после возвращения в оптимальные условия, хотя тенденция к восстановлению размеров наблюдалась всегда. Через 10 сут после 16-часового охлаждения при 2 °С размер клеток составил 72 % относительно контрольного варианта, а после 24-часового охлаждения клетки были в 1,5 раза меньше контрольных. Такое же подавление роста растяжением отмечено и после 12-часового охлаждения растений кукурузы при температуре 0 °С.

ТАБЛИЦА 4. Размеры клеток зоны растяжения конуса нарастания проса после охлаждения при температурах 4 и 2 °С (длина, мкм)

Длительность охлаждения, ч	Сразу после охлаждения	Сутки после охлаждения			
		1	3	7	10
Контроль	14,5 ± 0,5	14,8 ± 0,5	15,2 ± 0,7	15,4 ± 0,4	16,4 ± 0,7
Температура 4 °С					
1	14,1 ± 0,7*	14,3 ± 0,6*	14,8 ± 0,8*	14,8 ± 0,6*	16,2 ± 0,7*
4	14,2 ± 0,6*	14,3 ± 0,7*	14,7 ± 0,3*	14,7 ± 0,6*	16,6 ± 0,7*
16	14,0 ± 0,5*	14,0 ± 0,5*	14,0 ± 0,6*	14,1 ± 0,4	14,2 ± 0,3
24	13,9 ± 0,4*	13,9 ± 0,6*	13,9 ± 0,3*	13,9 ± 0,7	14,0 ± 0,6
Температура 2 °С					
1	13,7 ± 0,6*	13,8 ± 0,6*	14,4 ± 0,6*	14,5 ± 0,6*	16,0 ± 0,5*
4	13,9 ± 0,5*	13,9 ± 0,6*	14,3 ± 0,6*	14,4 ± 0,6*	14,7 ± 0,6*
16	13,8 ± 0,3*	13,9 ± 0,6	13,8 ± 0,6	13,9 ± 0,2	13,8 ± 0,3
24	13,5 ± 0,2	13,7 ± 0,4	13,7 ± 0,3	13,7 ± 0,5	13,6 ± 0,4

В последствии охлаждения растений проса наблюдали постепенное увеличение размеров клеток зоны растяжения у контрольных и кратковременно охлажденных (1—4 ч) растений и его отсутствие у длительно охлажденных (16—24 ч) растений (см. табл. 4). В результате спустя 7 сут после охлаждения при температуре 4 °С выявлено достоверное уменьшение размеров клеток зоны растяжения у растений, охлаждавшихся в течение 16 и 24 ч (соответственно 92 и 91 % к контролю). Подобная тенденция отмечена и для более низкой температуры (2 °С): восстановление размеров клеток до уровня контрольных не происходило после 16- и 24-часового действия пониженной температуры и на 10-е сутки после охлаждения размеры клеток в зоне растяжения составляли соответственно 90 и 88 % по отношению к растениям контрольного варианта.

Рост — интегральный процесс, в котором реализуется наследственная программа организма; он базируется на необратимом увеличении всего организма вследствие увеличения количества и размеров клеток, объема цитоплазмы и клеточных стенок. На рост растений воздействуют физические (абиотические) и биотические факторы окружающей среды, среди которых ведущее место занимает температура. Зависимость роста от температуры описывается типичной одновершинной кривой с зоной оптимума и снижением при повышении или понижении температуры [23]. Теплолюбивые растения обладают повышенной чувствительностью в области пониженных положительных температур, где исчезает линейность в их реакциях на температуру [7]. Одним из характерных проявлений действия пониженных температур на теплолюбивые растения является замедление роста [10], особенно это касается деления и растяжения клеток [13].

Приведенные в работе данные указывают на снижение ростовых реакций в апексах побегов растений кукурузы и проса в результате кратковременного охлаждения. Подобные эффекты выявлены и на других теплолюбивых объектах — корнях и листьях кукурузы [10, 11, 14], растениях огурца [3], подсолнечника [20]. Торможение роста на всех этапах

онтогенеза клетки приводит к значительным изменениям роста на уровне растения и его органов [26]. Однако кроме известного факта торможения роста исследователи редко обращали внимание на динамику изменений ростовых параметров при разных режимах охлаждения, а также на скорость репарации в последствии охлаждения различной интенсивности.

Количественные аспекты холодового повреждения представляют значительный интерес, поскольку в литературе они практически отсутствуют, в то же время дают возможность рассчитать степень нарушения в зависимости от длительности или силы охлаждения.

Мы выявили, что в динамике охлаждения проростков теплолюбивых растений скорость деления меристематических клеток и размеры клеток зоны растяжения апекса побега прогрессирующе тормозились (см. табл. 1—4). Для выражения зависимостей изменений ростовых параметров клеток конуса нарастания теплолюбивых растений от длительности охлаждения можно использовать математическую модель, представляющую собой сумму двух экспоненциальных функций — быстро и медленно спадающей ($k_1 < k_2$, $y_0 = A_1 + A_2$, t — продолжительность охлаждения):

$$y = A_1 \exp(-k_1 t) + A_2 \exp(-k_2 t). \quad (1)$$

В упрощенной модели «медленная» компонента аппроксимируется прямой. Поэтому уравнение можно записать как сумму двух функций — экспоненциальной и линейной:

$$y = A \exp(-kt) + (a - bt). \quad (2)$$

Первая часть полученного уравнения описывает быстрое уменьшение показателя от контрольного значения, вторая (линейная) — отдаленные эффекты охлаждения. Предложенная модель (2) хорошо аппроксимирует все данные, полученные в этой работе.

Мы не приводим коэффициенты уравнения, поскольку они сильно варьируют в зависимости от вида растения, а также возраста, сорта, длительности, интенсивности охлаждения и т.п. Однако нахождение коэффициентов уравнения для конкретных случаев (особенно в последствии охлаждения) позволит выявить закономерности реакции культур на действие пониженных температур, а также определить вклад быстрой и медленной компонент в проявление ростовой реакции на охлаждение клеток конуса нарастания у разных видов и сортов.

Определение ростовой активности клеток после возвращения растений в оптимальные условия позволяет выявить степень обратимости повреждения растений. Установлено, что в последствии кратковременного (1 ч) охлаждения проростков кукурузы происходит репарация роста делением, тогда как после более длительного охлаждения (4—24 ч) отмечена лишь тенденция к восстановлению скорости деления клеток. При этом в последствии более жесткого охлаждения (при температуре 0 °С) наблюдали замедленное по сравнению с температурой 2 °С восстановление деления клеток меристемы побега (см. табл. 1).

У охлажденных растений проса наблюдали несколько иную картину. В последствии тех температурных режимов, когда не выявлено достоверного торможения деления, скорость деления клеток апекса побега сохранялась на уровне, не отличающемся от неохлажденного контроля. Однако в последствии 24-часового охлаждения при темпе-

ратуре 4 °С, 16- и 24-часового охлаждения при температуре 2 °С репарация повреждений не происходила даже спустя 10 сут после выдерживания растений проса в нормальных условиях (см. табл. 2).

Таким образом, пониженные температуры изменяли интенсивность деления клеток конуса нарастания, причем холодовая чувствительность процесса у разных видов отличалась. Под действием охлаждения митотическая активность клеток быстро и резко подавлялась у растений кукурузы, тогда как у растений проса уменьшение числа делящихся клеток сразу после охлаждения было менее выраженным. Однако в последствии пониженных температур у кукурузы наблюдалась тенденция к усилению деления до уровня контрольных растений, у проса при жестких режимах охлаждения нормализации клеточного деления в последствии пониженных температур не происходило. Возможно, это отражает более низкую холодоустойчивость растений проса по сравнению с кукурузой, что проявляется в длительном последствии неблагоприятных температур.

Наряду с митотической активностью пониженные температуры негативно влияли на рост клеток растяжением. Наблюдения за размерами клеток в зоне растяжения побега кукурузы подтвердили достоверное уменьшение их длины, прогрессирующее с удлинением холодовой экспозиции (см. табл. 3). При этом более низкая температура (0 °С) значительно подавляла растяжение клеток. В результате самой продолжительной холодовой экспозиции (12 ч) при 0 °С их длина уменьшилась в 2 раза, что практически соответствует размерам клеток в зоне растяжения после 24 ч охлаждения при температуре 2 °С.

Сравнением двух режимов охлаждения установлено, что динамика изменений роста клеток растяжением для разных температур (2 и 0 °С) была сходной: резкое уменьшение размера клеток в 1-й час охлаждения сменялось замедлением этого процесса при удлинении холодовой экспозиции. Более значительное торможение роста растяжением и замедленное возвращение длины клеток к контрольному уровню в последствии охлаждения отмечено при температуре 0 °С.

У растений проса в результате действия пониженных температур наблюдали достоверное уменьшение размеров клеток зоны растяжения лишь при самом жестком режиме охлаждения (2 °С, 24 ч). В остальных вариантах опыта проявлялась лишь тенденция к их уменьшению (см. табл. 4). Охлаждение при 2 °С сильнее подавляло рост растяжением у растений проса по сравнению с температурой 4 °С, однако динамика изменений была сходной.

В последствии охлаждения наблюдали тенденцию к нормализации размеров клеток охлажденных растений, однако скорость процесса репарации была невысокой, и в проростках кукурузы полное восстановление размеров клеток в зоне растяжения наблюдали лишь после 1-часового охлаждения (при обеих температурах). В последствии остальных вариантов холодовой обработки размеры растягивающихся клеток оставались существенно меньше контроля даже спустя 10 сут после возврата растений в нормальные условия. Однако тенденцию к восстановлению роста растяжением у кукурузы наблюдали для обоих температурных режимов охлаждения.

При охлаждении растений проса картина была противоположной: даже для вариантов, в которых не было торможения роста растяжением сразу после охлаждения, в последствии проявлялось уменьшение размеров относительно контрольного варианта. Это наблюдали в последствии

ствии длительного (16–24 ч) выдерживания при температурах 4 и 2 °С. Вероятно, здесь проявляется более высокая чувствительность молодых растений проса к пониженным температурам (по сравнению с кукурузой).

Сравнив динамику изменений митотической активности меристематических клеток и размеров клеток зоны растяжения, можно отметить, что подавление роста делением было более значительным, чем роста растяжением (см. табл. 1–4). Так, при действии температуры 2 °С митотический индекс клеток растений кукурузы уменьшался на 24–68 %, а размеры клеток — на 18–47 %. Охлаждение растений кукурузы при температуре 0 °С вызывало подавление роста делением на 31–67 %, а роста растяжением — на 18–52 %. Такая же закономерность отмечена и для растений проса. Охлаждение при температуре 4 °С вызывало снижение митотической активности меристематических клеток на 2–21 %, а размера клеток — на 3–4 %. При более низкой температуре охлаждения (2 °С) у растений проса рост делением снижался на 4–33 %, рост растяжением — на 6–7 %. Отсюда видно, что митотическая активность более чувствительна к действию пониженных температур. В работе [2] наблюдали сходную количественную реакцию на температуру для локального деления клеток и локальной скорости растяжения ткани листьев кукурузы.

Сравнение ростовых параметров клеток конусов нарастания кукурузы и проса в последствии пониженных температур показало, что у них отмечается такая же закономерность, как и сразу после охлаждения. Так, спустя 10 сут после охлаждения растений кукурузы при 2 °С митотический индекс был снижен на 1–48 %, а размеры клеток — на 15–36 % в зависимости от длительности охлаждения; после охлаждения при 0 °С рост делением уменьшался на 5–55 %, рост растяжением — на 18–34 %. Подобная зависимость в последствии охлаждения отмечена и для растений проса: частота митозов была ниже на 22 %, размеры клеток — на 1–15 % (температура 4 °С); при температуре 2 °С митотический индекс снижался на 6–38 %, рост растяжением — на 13 %.

В ряде работ показано, что в последствии пониженных температур рост теплолюбивых растений оставался серьезно нарушенным. Так, после выдерживания проростков кукурузы при 5 °С в течение различного времени (до 16 сут) и переноса в 20 °С рост как корней, так и первых листьев замедлялся пропорционально длительности охлаждения [13]. В другой работе этих авторов отмечено, что при действии пониженных температур нарушается баланс между образованием клеток и их дифференциацией (дифференциация идет быстрее, чем деление); в последствии охлаждения меристема восстанавливается в результате не только повышения меристематической активности, но и посредством стимуляции деления клеток в покоящемся центре [14].

Рассматривая возможные механизмы торможения роста клеток при действии пониженных температур, следует проанализировать несколько аспектов. Известно, что снижение температуры увеличивает время подготовки клеток к делению и длительность митоза. Показано, что длительность митоза возрастает вследствие задержки этого процесса в профазе [10]. По другим данным, при длительном действии минимальной температуры рост растений замедляется в результате пропорционального увеличения продолжительности всех фаз митотического цикла и скорости роста клеток растяжением [2]. При этом удлинение фазы G_1 рас-

ценивается как защита генома [18]. В случае быстрого изменения температурного режима нарушается кинетика митотического цикла, изменяются параметры и морфология хромосом (конформационные изменения большой спирали метафазных хромосом, частичная деспирализация хроматина). При возвращении в оптимальные условия исходная его структура восстанавливается. Известно также, что основным механизмом регуляции продолжительности клеточного цикла является переход клеток в состояние покоя, определенное как факультативная составляющая G_1 - и G_2 -периодов [6].

Основным регулятором вступления клеток в митоз является система адениловых нуклеотидов. Недостаток АТФ в клетках может приостановить или даже полностью подавить наступление митоза. Первоначально это сказывается на предмитотическом периоде, в котором рост клеток прекращается из-за нехватки энергии для синтеза белков митотического веретена [25]. Известно, что охлаждение вызывает заметное снижение энергоснабжения клеток в результате разобщения дыхания и окислительного фосфорилирования [7].

На втором этапе ювенильные клетки вакуолизируются, поглощают воду и растягиваются посредством увеличения первичной стенки. Два независимых физических процесса — поглощение воды и растяжение клеточной стенки — приводят к необратимому увеличению размера клетки [23]. При действии пониженных температур рост растяжением затывается, объем меристемы уменьшается, а период роста растяжением удлиняется [10]. Отмечено, что понижение температуры резко тормозит рост клеток делением, но более мягко тормозит рост клеток растяжением. Поэтому размер меристематической зоны уменьшается, а так как переход к дифференциации клеток задерживается, то размер зоны растяжения клеток увеличивается [12].

В основе увеличения объема клетки лежат три механизма: возрастание тургорного давления, усиление синтеза компонентов клеточной стенки и увеличение ее растяжимости. Накамура и соавт. [22] предположили, что температура окружающей среды модулирует скорость роста главным образом путем воздействия на механические свойства клеточной стенки. Однако, по-видимому, рост контролируется не только растяжением инертных полимеров, а скорее действием ряда биохимических процессов с выраженной чувствительностью к температуре [25]. Показано, что при пониженных температурах растяжимость клеточных стенок колеоптилей риса и эпикотилей фасоли уменьшается [22, 23]. Авторы, используя уравнение Локхарта, разработали методический подход к расчету составляющих растяжения клеток и растяжимости клеточной стенки в зависимости от температуры. Они показали, что в области пониженных температур резко снижается «компонент роста», но возрастает «компонент растяжения» общего коэффициента растяжимости. В результате существенно повышаются эластическая компонента и модуль растяжимости клеточных стенок [23].

При действии пониженной температуры повышается оводненность клеток и изменяется ориентация микрофибрилл целлюлозы, вероятно, в результате разрушения микротрубочек. Накопление воды клеткой обусловлено повышением содержания осмотически активных веществ и недостаточной сформированностью клеточных стенок. Клетки, начинающие рост при действии пониженной температуры, имеют оболочку, отличающуюся меньшим содержанием пектиновых веществ и большим

содержанием гемицеллюлоз и целлюлозы. Изменения в содержании пектиновых веществ при снижении температуры свидетельствуют о возможной роли этого компонента оболочек в определении не только физических свойств матрикса, но и скорости растяжения клеток [12].

Важную роль в регуляции роста растений играют фитогормоны, особенно ИУК и АБК. Прежде всего они влияют на процессы клеточного деления. Ауксин увеличивает пластичность клеточной стенки, при этом стимуляция сопровождается разрыхлением клеточной стенки и активацией синтеза ее веществ. Одним из первичных эффектов АБК на рост клеток является изменение проницаемости. При действии пониженных температур содержание ауксина снижается, а абсцизовой кислоты — возрастает. Однако такие изменения гормонального баланса неодинаковы в зависимости от степени устойчивости растения к охлаждению [10, 12].

Дифференциация клеток связана с вторичными изменениями, с процессами лигнификации клеточной стенки. Охлаждение теплолюбивых растений вызывает накопление лигнина в клеточных стенках. Полагают, что лигнификация начинается до того, как клетки достигают своих окончательных размеров, и это играет регуляторную роль в процессе растяжения клеток. Большее содержание лигнина в оболочках клеток, вероятно, влияет на время, необходимое для достижения клетками окончательных размеров, что в итоге отражается на росте органа в целом [12].

Скорость и характер роста при снижении температуры определяются реакциями метаболизма клеток, в первую очередь — интенсивностью синтеза белка. Показано, что пониженная температура, вызывающая резкое торможение роста корней проростков кукурузы, замедляла процессы синтеза белка в клетках, приводя к перестройке белкового комплекса в сторону увеличения содержания низкомолекулярных белков [7].

Несмотря на то что основные молекулярные механизмы, контролирующие процессы клеточного роста, известны [19, 27], данных, касающихся участия абиотических стрессоров в регуляции роста, мало. Показано, что кратковременное ночное охлаждение растений кукурузы воздействовало на длительность клеточного цикла и образование клеток, но не влияло на размеры зрелых клеток эпидермиса листьев. При этом выделены 43 гена, ответственных за клеточный цикл, большинство их обладало согласующимися закономерностями специфической экспрессии при пролиферации; удлинение клеточного цикла в базальной меристеме листа вследствие ночного охлаждения связано с дифференциальной экспрессией ингибиторов клеточного цикла и сопутствующим ингибированием положительных регуляторов клеточного деления [27].

Механизмы, влияющие на ростовые реакции теплолюбивых растений в ходе охлаждения, связаны и с нарушениями других цитофизиологических процессов. Известно, что пониженные положительные температуры вызывают различные изменения в клетках теплолюбивых растений: усиление выхода электролитов, изменение внутриклеточного рН, возрастание пероксидного окисления липидов и др. [7]. Все это в совокупности влияет на торможение роста клеток при действии пониженных положительных температур.

Исследование выполнено при поддержке Федерального агентства по образованию (АВЦП «Развитие научного потенциала высшей школы», проект 2.1.1/624).

1. Бурбанова Р.С., Родченко О.П. Холодоустойчивость клеток корня кукурузы на разных фазах роста // Физиология и биохимия культ. растений. — 1987. — **19**, № 2. — С. 142—145.
2. Гриф В.Г. Митотический цикл и функциональная морфология хромосом растений при низких температурах: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — Ленинград, 1981. — 42 с.
3. Зауралов О.А. Влияние охлаждения проростков огурца на последующий рост и интенсивность фотосинтеза // Физиология и биохимия культ. растений. — 1993. — **25**, № 4. — С. 380—387.
4. Зауралов О.А., Жидкин В.И. Последствие охлаждения на рост и фотосинтез растений проса // Физиология растений. — 1982. — **29**, вып. 1. — С. 98—103.
5. Иванов М.С. Отношение яровых культур к пониженным температурам // Тр. по прикл. ботанике, генетике, селекции. — 1935. — **3**, № 6. — С. 163—198.
6. Кравец А.П. Количественный анализ кинетики и регуляции пролиферативных процессов в меристеме корней: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — Киев, 1981. — 23 с.
7. Лукаткин А.С. Холодовое повреждение теплолюбивых растений и окислительный стресс. — Саранск: Изд-во Мордов. ун-та, 2002. — 208 с.
8. Паушева З.П. Практикум по цитологии растений. — М.: Колос, 1970. — 255 с.
9. Прозина М.Н. Ботаническая микротехника. — М.: Высш. шк., 1960. — 206 с.
10. Родченко О.П. Адаптация к низким температурам и рост корня: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. — Москва, 1987. — 26 с.
11. Родченко О.П. Роль апикальной меристемы корня в адаптации растений к низким температурам // Тез. докл. 2-го съезда Всесоюз. об-ва физиологов растений (Минск, 24—29 сент., 1990). — М., 1992. — Ч. 2. — С. 179.
12. Родченко О.П., Маричева Э.А., Акимова Г.П. Адаптация растущих клеток корня к пониженным температурам. — Новосибирск: Наука, 1988. — 149 с.
13. Barlow P.W., Adam J.S. Anatomical disturbances in primary roots of *Zea mays* following periods of cool temperature // Environ. Exp. Bot. — 1989. — **29**, N 3. — P. 323—336.
14. Barlow P.W., Adam J.S. The response of the primary root meristem of *Zea mays* L. to various periods of cold // J. Exp. Bot. — 1989. — **40**, N 210. — P. 81—88.
15. Barlow P.W., Rathelder E.L. Cell division and regeneration in primary root meristem of *Zea mays* recovering from cold treatment // Environ. Exp. Bot. — 1985. — **25**, N 4. — P. 303—314.
16. Ben-Haj-Salah H., Tardieu F. Temperature affects expansion rate of maize leaves without change in spatial distribution of cell length. Analysis of the coordination between cell division and cell expansion // Plant Physiol. — 1995. — **109**, N 3. — P. 861—870.
17. Crevercoeur M., Ledent J.F. Effect of low temperature (10 °C) on growth, mitotic index and cell ultrastructure of maize leaves // Breeding of Silage Maize. — Wageningen, 1986. — P. 51—55.
18. Francis D., Barlow P.W. Temperature and the cell cycle // Plants and Temperature // Symp. Soc. Exp. Biol. (Essex, 8—10 Sept., 1987). — Cambridge, 1987. — P. 181—201.
19. Fry S.C. Primary cell wall metabolism: tracking the careers of wall polymers in living plant cells // New Phytol. — 2004. — **161**. — P. 641—675.
20. Granier C., Tardieu F. Is thermal time adequate for expressing the effects of temperature on sunflower leaf developments? // Plant Cell Environ. — 1998. — **21**. — P. 695—703.
21. Ikeda T., Nonami H., Fukuyama T., Hashimoto Y. Hydraulic contribution in cell elongation of tissue-cultured plants. Growth-retardation induced by osmotic and temperature stresses and addition of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and benzylaminopurine // Ibid. — 1999. — **22**, N 4. — P. 899—912.
22. Nakamura Y., Wakabayashi K., Kamisaka S., Takayuki H. Effect of temperature on the cell wall and osmotic properties in dark-grown rice and adzuki bean seedlings // J. Plant Res. — 2002. — **115**. — P. 455—461.
23. Pietruszka M., Lewicka S. Effect of temperature on plant elongation and cell wall extensibility // Gen. Physiol. Biophys. — 2007. — **26**. — P. 40—47.
24. Pritchard J., Barlow P.W., Adam J.S., Tomos A.D. Biophysics of the inhibition of the growth of maize roots by lowered temperature // Plant Physiol. — 1990. — **93**, N 1. — P. 222—230.
25. Proseus T.E., Ortega J.K.E., Boyer J.S. Separating growth from elastic deformation during cell enlargement // Ibid. — 1999. — **119**, N 2. — P. 775—784.
26. Rab A., Saltveit M.E. Differential chilling sensitivity in cucumber (*Cucumis sativus*) seedling // Physiol. plant. — 1996. — **96**, N 3. — P. 375—382.
27. Ryten B., Fiorani F., Kartal F. et al. Cold nights impair leaf growth and cell cycle progression in maize through transcriptional changes of cell cycle genes // Plant Physiol. — 2007. — **143**, N 1. — P. 1429—1438.
28. Zavala E.M., Lin C.-L. Anatomical and polypeptide alterations in corn root tips in response to cold stress // Amer. J. Bot. — 1989. — **76**, N 1, Suppl. — P. 71—72.

Получено 09.04.2009

РОСТОВІ РЕАКЦІЇ КЛІТИН КОНУСА НАРОСТАННЯ ТЕПЛОЛЮБНИХ РОСЛИН ЗА ДІЇ І ПІСЛЯДІЇ ЗНИЖЕНИХ ТЕМПЕРАТУР

О.С. Лукаткін, Е.Ш. Шаркаєва, С.В. Апарін
Мордовський державний університет, Саранськ

Досліджено ростові реакції (мітотичний індекс, розмір клітин у зоні розтягу) клітин конуса наростання пагонів кукурудзи (*Zea mays* L.) і проса (*Panicum miliaceum* L.) за дії охолодження різних інтенсивності (для рослин кукурудзи 0 і 2 °С, для проса — 2 і 4 °С) і тривалості (від 1 до 24 год), а також у післядії охолодження (до 10 діб після закінчення охолодження). Знижені позитивні температури викликали гальмування ростових процесів у конусі наростання теплолюбних рослин. Зниження мітотичного індекса й розміру клітин нелінійно залежало від температури і тривалості холодової експозиції. В післядії знижених температур клітинний ріст виявляв тенденцію до нормалізації. Обговорено закономірності і можливі механізми порушення ростових процесів за дії охолодження та його післядії.

GROWTH PROCESSES IN APICAL CONE CELLS OF CHILLING-SENSITIVE PLANTS AT EFFECT AND AFTEREFFECT OF CHILLING

A.S. Lukatkin, E.Sh. Sharkaeva, S.V. Aparin

Mordovian State University
68 Bolshevistskaya St., Saranck, 430005, Russia

Growth processes (mitotic index and cell size in a zone of cell expansion) were investigated in shoot apical cone cells of maize (*Zea mays* L.) and millet (*Panicum miliaceum* L.) plants affected by chilling of different intensity (for maize plants 0 °C and 2 °C, for millet 2 °C and 4 °C) and duration (from 1 up to 24 h), as well as in chilling aftereffect (from 1 to 10 day after chilling ending). Chilling result in growth processes inhibition in shoot apical cone of chilling-sensitive plants. The decrease of a mitotic index value and cell sizes non-linearly depended on temperature and duration of chilling exposition. In an aftereffect of chilling the cell growth tended to normalization. The possible mechanisms of cell growth disturbance at effect and aftereffect of chilling are discussed.

Key words: *Zea mays* L., *Panicum miliaceum* L., chilling-sensitive plants, chilling, mitotic index, cell size in elongation zone.