

**ФОРМИРОВАНИЕ АТИПИЧНЫХ ТУБУЛИНОВЫХ СТРУКТУР
В ХОДЕ РЕАКЦИИ КЛЕТОК РАСТЕНИЙ СЕМЕЙСТВА
SOLANACEAE НА СТРЕССОВЫЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ**

Е.Н. БАРАНОВА¹, И.А. ЧАБАН¹, Л.Р. БОГОУТДИНОВА^{1,2}, Л.В. КУРЕНИНА¹,
Н.В. КОНОНЕНКО¹, М.Р. ХАЛИЛУЕВ^{1,2}, Е.А. СМИРНОВА^{1,3}

(¹Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии; ²РГАУ-МСХА им. К. А. Тимирязева; ³МГУ им. М. В. Ломоносова)

Абиотические и биотические стрессовые факторы вызывают у растений реакцию, при которой в клетках увеличивается выработка активных форм кислорода (АФК) и запускается серия каскадных реакций для их нейтрализации. Мишенями АФК в клетках могут быть различные биохимические и физиологические реакции, а также клеточные органеллы, в том числе цитоскелет. Многие абиотические стрессовые факторы, вызывая повышение в растительных клетках уровня АФК, индуцируют реорганизацию микротрубочек, что приводит к нарушению прохождения митоза. Предполагается, что реорганизация системы интерфазных и митотических микротрубочек является составной частью ответа клеток на внешние стимулы. С помощью трансмиссионной электронной микроскопии было проанализировано состояние системы микротрубочек (тубулинового цитоскелета) в клетках представителей семейства Solanaceae (Solanum lycopersicum L., Solanum tuberosum L., Nicotiana tabacum L.) при действии таких абиотических стрессовых факторов, как засоление и низкие положительные температуры. Показано, что в клетках мезофилла листа картофеля при действии низких положительных температур, а также в клетках корней томата и табака в условиях засоления NaCl и Na₂SO₄ выявлены различные трубчатые структуры, по строению отличающиеся от микротрубочек: фибриллярно-тубулярные пучки с разной плотностью упаковки составляющих их компонентов, макротрубочки, упорядоченно упакованные паракристаллические агрегаты и тяжжи, которые на поперечных срезах имели гексагональную упаковку. Эти элементы цитоскелета по структуре не отличаются от индуцированных разными химическими воздействиями атипичных тубулиновых полимеров, которые обладают повышенной стабильностью. Предполагается, что формирование атипичных тубулиновых структур в клетках растений является типичной и неспецифической реакцией на действие стрессовых факторов различной природы.

Работа выполнена по теме государственного задания ФАНО России № 0574-2014-0019 и при частичной финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 16-34-01331 мол_а.

Ключевые слова: *Solanum lycopersicum L.*, *Solanum tuberosum L.*, *Nicotiana tabacum L.*, тубулин, цитоскелет, микротрубочки, стрессовые воздействия, ультраструктура.

Одним из актуальных вопросов физиологии растений является эффективная защита от повреждающего действия окислительного стресса, обусловленного образованием избыточного количества активных форм кислорода (АФК). АФК – неотъемлемые составляющие нормального метаболизма клеток, являются важными сигнальными молекулами, участвующими в регуляции многих физиологических процессов, связанных с ростом и развитием растений. Абиотические и биотические стрессовые факторы вызывают у растений реакцию, в ходе которой в клетках увеличивается количество АФК и запускается серия каскадных реакций для их нейтрализации [1]. Мишенями АФК в клетках могут быть различные биохимические и физиологические реакции, а также клеточные органеллы [4], в том числе и микротрубочки [15]. Так, например, ряд абиотических стрессовых факторов, вызывая повышение уровня АФК в растительных клетках, индуцируют реорганизацию микротрубочек, что оказывает влияние на внутриклеточный транспорт, рост и дифференцировку клеток, морфогенез тканей [13, 14]. Предполагается, что реорганизация тубулинового цитоскелета является составной частью ответа на внешние стимулы и координируется путем взаимодействия фосфолипазы D, фосфатидной кислоты, р38 подобной митоген-активируемой протеинкиназы (р38-like MAPK) и АФК [15]. Экспериментальное повышение или понижение в клетках растений уровня АФК с помощью менадиона и N-ацетилцистеина, изначально приводило к разборке микротрубочек. Впоследствии в клетках с низким уровнем АФК формировались атипичные тубулиновые структуры – макротрубочки, тогда как в клетках с высоким уровнем АФК – паракристаллические тяжи [14]. На основании проведенных исследований было сделано предположение, что при нарушении гомеостаза АФК в клетках, тубулиновый цитоскелет переходит в другое структурное состояние путем сборки атипичных тубулиновых агрегатов [15].

Однако до настоящего времени нет данных о том, что при абиотических стрессовых воздействиях в клетках растений происходит формирование атипичных тубулиновых агрегатов, отличающихся по структуре от микротрубочек. В связи с тем, что атипичные тубулиновые агрегаты можно выявить только на ультраструктурном уровне, в настоящей работе проанализирован цитоскелет с помощью метода трансмиссионной электронной микроскопии в клетках представителей семейства Solanaceae (*Nicotiana tabacum L.*, *Solanum tuberosum L.*, *Solanum lycopersicum L.*) при действии абиотических стрессовых факторов – засоления (NaCl и Na_2SO_4) и низких положительных температур.

Материалы и методы

Растительным материалом для исследований служили асептические растения-регенеранты томата (*Solanum lycopersicum L.*) сорта Белый налив, картофеля (*Solanum tuberosum L.*) сорта Скороплодный и табака (*Nicotiana tabacum L.*) сорта Samsun. Регенеранты культивировали на питательной среде, содержащей ½ дозы макросолей, микросолей и витаминов по прописи Мурасиге-Скуга (MS) [18], с добавлением 2% сахарозы и 0,7% агара в контролируемых условиях климакамеры при температуре 22 °С, освещенности 5,5 клк и 16/8 ч (день/ночь) фотопериоде.

Для имитации холодового стресса регенеранты картофеля выдерживали в течение шести суток при температуре +8°C при тех же условиях освещения.

Для имитации солевого стресса регенеранты томата и табака переносили в пробирки с агаризованной питательной средой того же состава с добавлением хлорида или сульфата натрия в концентрациях 96,2 мМ и 76,5 мМ соответственно, что приводило к увеличению осмотического давления питательной среды на 400 кПа. Культивирование осуществляли в течение восьми суток.

Фрагменты кончиков корней томата и табака, а также срединной части листьев картофеля фиксировали в 2,5%-ном растворе глутарового альдегида (Merck, Германия) на 0,1 М фосфатном буфере Соренсена (pH 7,2) с добавлением 1,5% сахарозы. После отмывки от фиксирующей смеси образцы дофиксировали 1%-ным раствором четырехоксида осмия (OsO_4) (Sigma, США), обезвоживали в этаноле повышающейся концентрации (30, 50, 70, 96 и 100%), окиси пропилена (Fluka, Германия) и заключали в смесь эпон-аралдитных эпоксидных смол. Полутопкие и ультратонкие срезы изготавливали с помощью ультрамикротомы LKB-V (LKB, Швеция). Ультратонкие срезы контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца по Рейнольдсу [22] и анализировали с использованием трансмиссионного электронного микроскопа TEM H-500 (Hitachi, Япония). Размеры микротрубочек и атипичных тубулиновых структур определяли с помощью программного обеспечения Cell-A (Olympus, Япония).

Результаты исследования

Проанализированы ультраструктура цитоскелета клеток мезофилла листа регенерантов картофеля, культивируемых в нормальных условиях и при пониженной температуре, а также клетки корней томатов и табака в норме и при действии солей ($NaCl$ и Na_2SO_4).

Методом трансмиссионной электронной микроскопии было установлено, что в нормальных условиях культивирования в интерфазных клетках всех исследованных нами растений выявляются многочисленные микротрубочки, которые параллельными рядами располагаются вблизи клеточной стенки. Внешний диаметр микротрубочек составляет около 20 нм. Так, например, в кортикальном слое цитоплазмы корней томата можно отчетливо наблюдать микротрубочки в продольном (рис. 1а, б) и поперечном (рис. 1в, г) сечениях. Такие же системы микротрубочек присутствовали в цитоплазме контрольных растений картофеля и табака.

При действии абиотических стрессовых факторов в клетках были обнаружены атипичные элементы цитоскелета, не выявляемые в нормальных условиях культивирования.

Анализ клеток мезофилла листа регенерантов картофеля показал, что в условиях холодового воздействия микротрубочки не выявлялись, что согласуется с данными литературы [2]. Однако в цитоплазме были обнаружены структуры, состоящие из скоплений тубулярно-фибриллярных компонентов. На рис. 2а показан поперечный срез неоднородного по плотности тубулярно-фибриллярного агрегата, в центральной части которого фибриллы располагаются более рыхло, чем по периферии. На продольных срезах атипичные элементы цитоскелета представлены агрегатами, состоящими из рыхло уложенных тубулярных компонентов с упорядоченной упаковкой (рис. 2б), вытянутых фибриллярных тяжей (рис. 2в), тубулярных структур с упорядоченной упаковкой, но неоднородной электронной плотностью (рис. 2г).

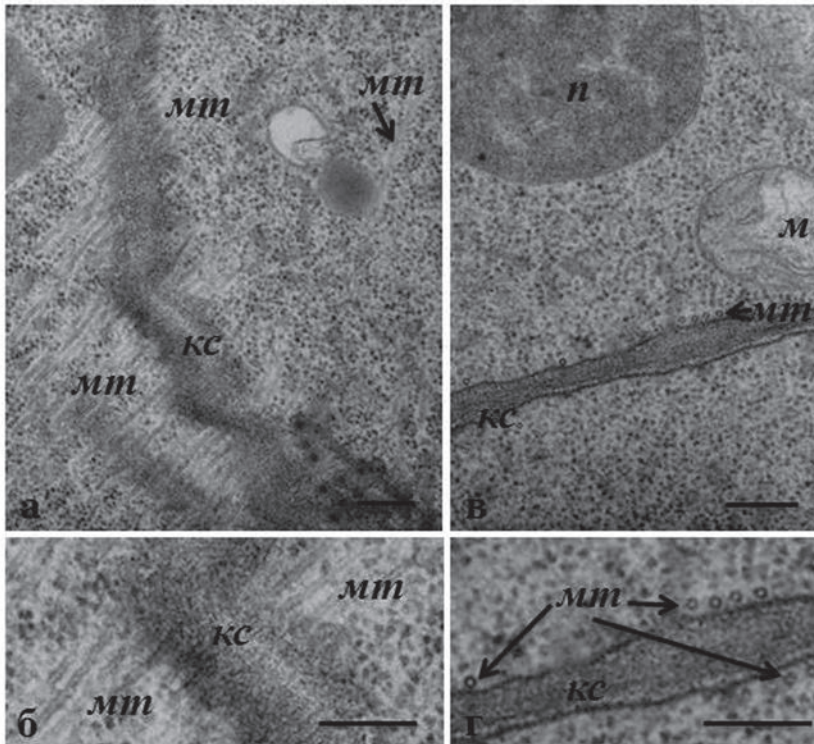


Рис. 1. Микротрубочки в клетках корня томата в нормальных условиях культивирования.

Продольные (а-б) и поперечные (в-г) срезы микротрубочек (указаны стрелками), расположенные около клеточной стенки.

Обозначения: мт – микротрубочки; кс – клеточная стенка, п – пластида; м – митохондрия. Масштабная линейка – 0,25 мкм

В клетках корней регенерантов томата в присутствии NaCl и Na_2SO_4 были обнаружены как атипичные элементы цитоскелета (рис. 3а-г), так и канонические микротрубочки (рис. 3б). На рис. 3в атипичные элементы цитоскелета представлены в одной клетке в продольном и поперечном сечениях. На продольном срезе пучка, расположенном справа, отчетливо видно, что он состоит из скопления упорядоченно упакованных трубчатых структур. В отличие от микротрубочек эти трубчатые структуры или вовсе не имеют центрального люмена, или же его диаметр значительно меньшего размера. На поперечных срезах трубчатые структуры в составе пучка имеют упорядоченную ячеистую упаковку, характерную для паракристаллов тубулина [3, 8, 10, 26]. На рис. 3а, г представлены продольные пучки различной толщины и с разной плотностью упаковки составляющих их структур. В присутствии Na_2SO_4 , кроме типичных микротрубочек были выявлены и трубчатые структуры большего диаметра (примерно 55 нм), которые, возможно, представляют собой макротрубочки – еще один вид атипичных структур, формирующихся из тубулина (рис. 3б). Внешний диаметр макротрубочек совпадает с тем, который был описан ранее для макротрубочек, сформированных в присутствии колхицина [12].

В условиях засоления в цитоплазме клеток корня табака были обнаружены различные по плотности тяжи или пучки, состоящие из трубчатых структур, представленных как в продольном (рис. 4а, б, г), так и в поперечном (рис. 4в) сечениях. В присутствии NaCl были выявлены длинные тяжи, сформированные из волнистых трубчатых элементов, благодаря которым они имеют слоистую структуру (рис. 4а). На рис. 4б, г соответственно продемонстрирован тяж с плотной упаковкой прямых трубчатых элементов и короткий пучок с рыхло упакованными трубчатыми элементами. На поперечном срезе отчетливо видно, что трубчатые структуры в составе тяжей имеют гексагональную упаковку, характерную для паракристаллов тубулина, описанных ранее [3, 5, 8, 10, 17, 23, 26].

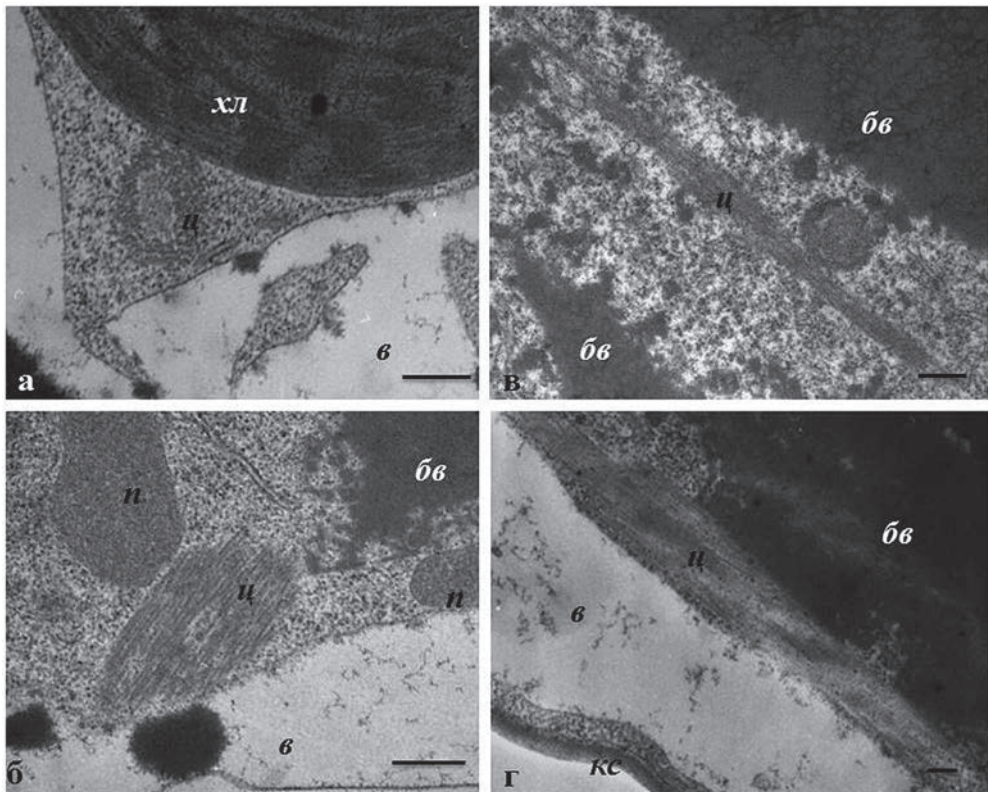


Рис. 2. Атипичный цитоскелет в клетках мезофилла листа регенерантов картофеля (*Solanum tuberosum* L.) после шести суток культивирования в условиях низкой положительной температуры.

Поперечный (а) и продольные (б-г) срезы тяжей, сформированных из фибриллярно-тубулярных структур.

Обозначения: бв – белковые включения; в – вакуоль; кс – клеточная стенка; п – пероксисома; хл – хлоропласт; ц – атипичные структуры цитоскелета. Масштабная линейка – 0,25 мкм

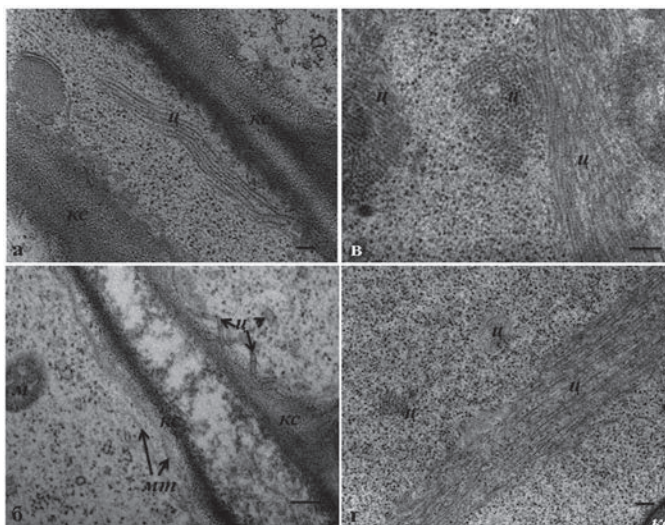


Рис. 3. Атипичный цитоскелет в клетках корня томата (*Solanum lycopersicum* L.) в условиях 96,2 мМ NaCl (а) и 76,5 мМ Na₂SO₄ (б-г). Продольные (а, в) и поперечный (г) срезы фибриллярно-тубулярных тяжей; б – микро- и макротрубочки; расположенные в соседних клетках (указаны стрелками). Обозначения: кс – клеточная стенка; м – митохондрия; мт – микротрубочки; ц – атипичные структуры цитоскелета. Масштабная линейка – 0,25 мкм

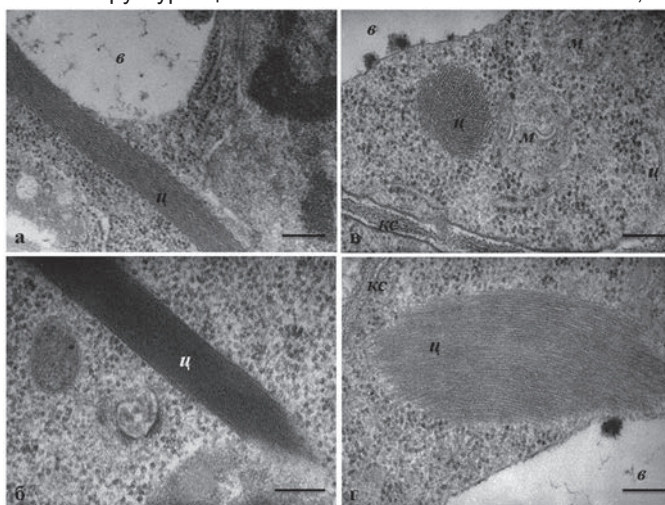


Рис. 4. Атипичный цитоскелет в клетках корней табака (*Nicotiana tabacum* L.) в условиях 96,2 мМ NaCl (а) и 76,5 мМ Na₂SO₄ (б-г) а, б, г – продольные срезы тяжей с разной плотностью упаковки тубулярных компонентов; в – поперечный срез тяжа с характерной кристаллоидной упаковкой формирующих его компонентов. Обозначения: в – вакуоль; кс – клеточная стенка; м – митохондрия; ц – атипичные структуры цитоскелета. Масштабная линейка – 0,25 мкм

Обсуждение

Проведенные исследования показали, что в клетках изученных растений абиотические стрессовые факторы, такие как пониженная температура и засоление, вызывают появление атипичных элементов цитоскелета. Ультраструктурная организация выявленных элементов цитоскелета указывает на их сходство с тубулиновыми тяжами и паракристаллами, которые формируются в клетках растений при нарушениях гомеостаза АФК [13-15].

Гомеостаз АФК играет важную роль в регуляции физиологических процессов у растений. Дисбаланс АФК, возникающий при неблагоприятных условиях окружающей среды, приводит к запуску серии каскадных реакций, которые могут приводить как к нейтрализации АФК, так и вызывать необратимые повреждения и клеточную гибель. Высказано предположение, что при реакции растений на стрессовое воздействие, сопровождающееся нарушением гомеостаза АФК, важную роль играет процесс ремоделирования тубулинового цитоскелета. Данный процесс включает в себя рекрутирование митоген-активируемой протеинкиназы с помощью MAPK сигнального каскада и регуляторных механизмов, действующих на транскрипционном и посттранскрипционном уровнях [1, 4].

Образование атипичных тубулиновых структур (макротрубочек и паракристаллических тубулиновых тяжей) наблюдали ранее в клетках корня пшеницы и арабидопсиса при дисбалансе АФК, индуцированном менадином и N-ацетилцистеином [14]. Наблюдаемые в клетках представителей семейства Solanaceae атипичные структуры цитоскелета, возникающие в условиях стресса, также представляют собой тубулиновые паракристаллы.

Формирование атипичных тубулиновых полимеров в растительных клетках также происходит при действии колхицина. Так, обработка колхицином в течение короткого времени вызывает разборку кортикальных и митотических микротрубочек, тогда как длительная экспозиция ведет к образованию тубулиновых структур, имеющих гетерогенную ультраструктурную организацию [6, 7]. Эти структуры в своем составе содержат тубулин, но они не организованы как микротрубочки [3, 8, 10, 26]. Некоторые тубулиновые структуры, индуцированные в растениях колхицином [3, 6], идентичны тубулиновым паракристаллам, которые образуются в клетках животных после инкубации с алкалоидами растений рода *Vinca* – винбластином и винкристином [5, 16, 17, 19, 23-25]. Обработка колхицином корней *Allium cepa* L. приводила к формированию длинных тубулиновых тяжей в кортикальном слое цитоплазмы только К-митотических клеток [26]. Однако в меристеме корня *Vigna sinensis* L. такие же структуры были выявлены только в интерфазных клетках [3].

Колхицин, как и многие другие антимикротрубочковые агенты, вызывает конформационные изменения димеров тубулина и препятствует их сборке в микротрубочки [9], но у растений он также индуцирует сборку атипичных полимеров, которые состоят из такого измененного тубулина [6-10]. Роль индуцированных колхицином атипичных тубулиновых структур в клетках растений не ясна. Предполагается, что когда клетки восстанавливаются после действия колхицина, они используют депонированные в виде паракристаллов запасы тубулина для сборки нормальных микротрубочек [10]. Поскольку тубулиновые паракристаллы и макротрубочки в клетках пшеницы были выявлены при гиперосмотическом стрессе, авторами высказано предположение, что сборка атипичных тубулиновых структур может являться неспецифической реакцией и/или базовым ответом на различные

повреждающие факторы [11]. Однако механизмы формирования атипичных тубулиновых структур при действии стрессовых факторов неизвестны.

Заключение

Ранее было показано, что в условиях засоления у *Arabidopsis thaliana* L. в интерфазных клетках происходит деполимеризация кортикальных микротрубочек, за которой следует сборка новых микротрубочек и их организация в стабильные системы, что, способствует повышению солеустойчивости растений [27, 28]. Однако представленные данные, полученные с помощью иммуноцитохимического окрашивания клеток на тубулин, не дают ответа на вопрос, какие именно структуры формируются после деполимеризации микротрубочек. Тубулиновые паракристаллы, которые не являются микротрубочками, выявляются не только с помощью антител к тубулину, но и к белку MAP65 [21] и гамма-тубулину [20]. После индуцированной засолением и пониженными положительными температурами деполимеризации микротрубочек (полной или частичной) формируются не новые микротрубочки, а атипичные тубулиновые полимеры. Значение этих структур в реакции растительных клеток на стрессовые воздействия требуют дальнейшего детального изучения.

Библиографический список

1. Креславский В.Д., Лось Д.А., Аллахвердиев С.И., Кузнецов Вл.В. Сигнальная роль активных форм кислорода при стрессе у растений // Физиология растений. 2012. Т. 59. № 2. С. 163-178.
2. Лазарева Е.М., Поляков В.Ю., Смирнова Е.А. Влияние низкой температуры на системы микротрубочек в клетках корневой меристемы ярового и озимого сортов пшеницы *Triticum aestivum* L. // Цитология. 2008. Т. 50. № 7. С. 597-612.
3. Apostolakos P., Galatis B., Katsaros C., Schnepf E. Tubulin conformation in microtubule-free cells of *Vigna sinensis*: an immunofluorescent and electron microscope study // Protoplasma. 1990. V. 154. № 2-3. P. 132-143.
4. Baxter A., Mittler R., Suzuki N. ROS as key players in plant stress signaling // J. Exp. Bot. 2014. V. 65. № 5. P. 1229-1240.
5. Bensch K.G., Malawista S.E. Microtubular crystals in mammalian cells // J. Cell Biol. 1969. V. 40. № 1. P. 95-107.
6. Bennett M.D., Smith J.B. Colchicine-induced paracrystals in the tapetum of wheat anthers // J. Cell Sci. 1979. V. 38. № 1. P. 23-32.
7. Deysson G. Microtubules and antimetabolic substances. In: Borgers M., de Brabander M. (eds) Microtubules and microtubule inhibitors. 1975. Amsterdam, North Holland Publ. Comp/American Elsevier. P. 427-451.
8. Galatis B., Apostolakos P. Patterns of microtubule reappearance in root cells of *Vigna sinensis* recovering from a colchicine treatment // Protoplasma. 1991. V. 160. № 2. P. 131-143.
9. Jordan M.A., Wilson L. Microtubules as a target for anticancer drug // Nature Rev. 2004. V. 4. P. 253-265.
10. Karagiannidou T., Eleftheriou E.P., Tsekos I., Galatis B., Apostolakos P. Colchicine-induced paracrystals in root cells of wheat (*Triticum aestivum* L.) // Ann. Bot. 1995. V. 76. № 1. P. 23-30.

11. *Komis G., Apostolakos P., Galatis B.* Hyperosmotic stress induces formation of tubulin macrotubules in root-tip cells of *Triticum turgidum*: their probable involvement in protoplast volume control // *Plant Cell Physiol.* 2002. V. 8. № 8. P. 911-922.
12. *Lazareva E.M., Polyakov V.Y., Chentsov Y.S., Smirnova E.A.* Time and cell cycle dependent formation of heterogeneous tubulin arrays induced by colchicine in *Triticum aestivum* root meristem // *Cell Biol. Int.* 2003. V. 27. № 8. P.633-646.
13. *Livanos P., Apostolakos P., Galatis B.* Plant cell division: ROS homeostasis is required // *Plant Signal. Behav.* 2012. V. 7. № 7. P. 771-778.
14. *Livanos P., Galatis B., Quader H., Apostolakos P.* Disturbance of reactive oxygen species homeostasis induces atypical tubulin polymer formation and affects mitosis in root-tip cells of *Triticum turgidum* and *Arabidopsis thaliana* // *Cytoskeleton (Hoboken)*. 2012. V. 69. № 7. P. 1-21.
15. *Livanos P., Galatis B., Apostolakos P.* The interplay between ROS and tubulin cytoskeleton in plants // *Plant Signal. Behav.* 2014. V. 9. № 1. P. e28069.
16. *Manfredi J.J., Horwitz S.B.* Vinblastine paracrystals from cultured cells are calcium-stable // *Exp. Cell Res.* 1984. V. 150. № 1. P. 205-212.
17. *Masurovsky E.B., Horwitz S.B.* Ultrastructural effects of colchicine, vinblastine, and taxol in drug-sensitive and multidrug-resistant J 774.2 cells // *Protoplasma.* 1989. V. 148. № 2. P. 138-149.
18. *Murashige T., Skoog F.* A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture // *Physiol. Plant.* 1962. V. 15. P. 473-497.
19. *Na G.C., Timasheff S.N.* In vitro vinblastine-induced tubulin paracrystals // *J. Biol. Chem.* 1982. V. 257. № 17. P.10387-10391.
20. *Panteris E., Apostolakos P., Graf R., Galatis B.* Gamma-tubulin colocalize with microtubule arrays and tubulin paracrystals in dividing vegetative cells of higher plants // *Protoplasma.* 2000. V. 210. № 3. P. 179-187.
21. *Panteris E., Komis G., Adamakis I.D., Samaj J., Bosabalidis A.M.* MAP65 in tubulin / colchicine paracrystals of *Vigna sinensis* root cells: possible role in the assembly and stabilization of atypical tubulin polymers // *Cytoskeleton (Hoboken)*. 2010. V. 67. № 3. P. 152-160.
22. *Reynolds E.S.* The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy // *J. Cell Biol.* 1963. V. 17. № 1. P. 208-212.
23. *Starling D.* Two ultrastructurally distinct tubulin paracrystals induced in sea-urchin eggs by vinblastine sulphate // *J. Cell Sci.* 1976. V. 20. № 1. P. 79-89.
24. *Takanari H., Yosida T., Morita J., Izutsu K., Ito T.* Instability of pleomorphic tubulin paracrystals artificially induced by Vinca alkaloids in tissue-cultured cells // *Biol. Cell.* 1990. V. 70. № 1-2. P. 83-90.
25. *Takanari H., Morita J., Yamanaka H., Yada K., Takahashi A., Izutsu K.* Effects of acidic pH on the formation of vinblastine-induced paracrystals in Chinese hamster ovary cells // *Biol. Cell.* 1994. V. 82. № 1. P. 51-57.
26. *Utrilla L., Sans J., de la Torre C.* Colchicine-resistant assembly of tubulin in plant mitosis // *Protoplasma.* 1989. V. 152. № 2. P. 101-108.
27. *Wang C., Li J., Yuan M.* Salt tolerance requires cortical microtubule reorganization in *Arabidopsis* // *Plant Cell Physiol.* 2007. V. 48. № 11. P. 1534-1547.
28. *Wang C., Zhang L.J., Huang R.D.* Cytoskeleton and plant salt stress tolerance // *Plant Signal. Behav.* 2011. V. 6. № 1. P. 29-31.

FORMATION OF ATYPICAL TUBULIN STRUCTURES IN CELLS OF PLANTS FROM SOLANA-CEAE FAMILY IN RESPONSE TO ABIOTIC STRESS CONDITIONS

E.N. BARANOVA¹, I.A. CHABAN¹, L.R. BOGOUTDINOVA^{1,2}, L.V. KURENINA¹,
N.V. KO-NONENKO¹, M.R. KHALILUEV^{1,2}, E.A. SMIRNOVA^{1,3}

(¹All-Russian Research Institute of Agricultural Biotechnology;
²Timiryazev Russian State Agrarian University;
³Lomonosov Moscow State University)

Exposure of plants to abiotic and biotic stress conditions increases reactive oxygen species (ROS) production, triggering cellular responses and reactions directed for ROS neutralization. ROS fluctuations affect different biochemical and physiological processes, as well as cellular organelles, including cytoskeleton. Many abiotic stress factors facilitating elevation of ROS production in plant cells promote reorganization of microtubules, followed by mitotic disorder. It has been suggested that reorganization of interphase and mitotic microtubules is a part of cellular response to various environmental stimuli. Using transmission electron microscopy, we analyzed the ultrastructure of tubulin cytoskeleton in cells of plants from Solana-ceae family (Solanum lycopersicum L., Solanum tuberosum L., Nicotiana tabacum L.) affected by two abiotic stress conditions – exposure to low temperature and salinity. We showed that atypical tubular structures dissimilar from microtubules were present in potato mesophyll cells affected by low temperature and in tomato and tobacco root cells affected by NaCl and Na₂SO₄ treatment. These structures were classified as bundles of non-uniform density and containing fiber- and tubular-like components, macrotubules, paracrystalline aggregates and strands with regular hexagonal packing of elements on cross sections. These cytoskeletal structures are identical as highly stable atypical tubulin polymers formed in various experimental conditions. It seems that assembly of atypical tubulin structures in plant cells may be a standard and non-specific reaction to different stress conditions.

Key words: *Solanum lycopersicum L., Solanum tuberosum L., Nicotiana tabacum L., tubulin, cytoskeleton, microtubules, stress conditions, ultrastructure.*

References

1. Kreslavsky V.D., Los' D.A., Allakhverdiev S.I., Kuznetsov V.I. Signal'naya rol' aktivnykh form kisloroda pri stresse u rasteniy [Signal role of active oxygen forms in plants under stress] // *Physiology of Plants*. 2012. Vol. 59. Issue 2. Pp. 163-178.
2. Lazareva Ye.M., Polyakov V.Yu., Smirnova Ye.A. Vliyaniye nizkoy temperatury na sistemy mikro-trubochek v kletkakh kornevoy meristemy yarovogo i ozimogo sortov pshenitsy *Triticum aestivum* L. [The influence of low temperatures on microtubule systems in root meristem cells of spring and winter wheat varieties *Triticum aestivum* L.] // *Cytology*. 2008. Vol. 50. Issue 7. Pp. 597-612.
3. Apostolakis P., Galatis B., Katsaros C., Schnepf E. Tubulin conformation in microtubule-free cells of *Vigna sinensis*: an immunofluorescent and electron microscope study // *Protoplasma*. 1990. Vol. 154. Is-sue 2-3. Pp. 132-143.

4. *Baxter A., Mittler R., Suzuki N.* ROS as key players in plant stress signaling // *J. Exp. Bot.* 2014. Vol. 65. Issue 5. Pp. 1229-1240.
5. *Bensch K.G., Malawista S.E.* Microtubular crystals in mammalian cells // *J. Cell Biol.* 1969. Vol. 40. Issue 1. Pp. 95-107.
6. *Bennett M.D., Smith J.B.* Colchicine-induced paracrystals in the tapetum of wheat anthers // *J. Cell Sci.* 1979. Vol. 38. Issue 1. Pp. 23-32.
7. *Deysson G.* Microtubules and antimetabolic substances. In: *Borgers M., de Brabander M.* (eds) *Micro-tubules and microtubule inhibitors.* 1975. Amsterdam, North Holland Publ. Comp/American Elsevier. Pp. 427-451.
8. *Galatis B., Apostolakos P.* Patterns of microtubule reappearance in root cells of *Vigna sinensis* re-covering from a colchicine treatment // *Protoplasma.* 1991. Vol. 160. Issue 2. Pp. 131-143.
9. *Jordan M.A., Wilson L.* Microtubules as a target for anticancer drug // *Nature Rev.* 2004. Vol. 4. Pp. 253-265.
10. *Karagiannidou T., Eleftheriou E.P., Tsekos I., Galatis B., Apostolakos P.* Colchicine-induced paracrystals in root cells of wheat (*Triticum aestivum* L.) // *Ann. Bot.* 1995. Vol. 76. Issue 1. Pp. 23-30.
11. *Komis G., Apostolakos P., Galatis B.* Hyperosmotic stress induces formation of tubulin macro-tubules in root-tip cells of *Triticum turgidum*: their probable involvement in protoplast volume control // *Plant Cell Physiol.* 2002. Vol. 8. Issue 8. Pp. 911-922.
12. *Lazareva E.M., Polyakov V.Y., Chentsov Y.S., Smirnova E.A.* Time and cell cycle dependent formation of heterogeneous tubulin arrays induced by colchicine in *Triticum aestivum* root meristem // *Cell Biol. Int.* 2003. Vol. 27. Issue 8. Pp.633-646.
13. *Livanos P., Apostolakos P., Galatis B.* Plant cell division: ROS homeostasis is required // *Plant Signal. Behav.* 2012. Vol. 7. Issue 7. Pp. 771-778.
14. *Livanos P., Galatis B., Quader H., Apostolakos P.* Disturbance of reactive oxygen species homeostasis induces atypical tubulin polymer formation and affects mitosis in root-tip cells of *Triticum turgidum* and *Arabidopsis thaliana* // *Cytoskeleton (Hoboken).* 2012. Vol. 69. Issue 7. Pp. 1-21.
15. *Livanos P., Galatis B., Apostolakos P.* The interplay between ROS and tubulin cytoskeleton in plants // *Plant Signal. Behav.* 2014. Vol. 9. Issue 1. P. e28069.
16. *Manfredi J.J., Horwitz S.B.* Vinblastine paracrystals from cultured cells are calcium-stable // *Exp. Cell Res.* 1984. Vol. 150. Issue 1. Pp. 205-212.
17. *Masurovsky E.B., Horwitz S.B.* Ultrastructural effects of colchicine, vinblastine, and taxol in drug-sensitive and multidrug-resistant J 774.2 cells // *Protoplasma.* 1989. Vol. 148. Issue 2. Pp. 138-149.
18. *Murashige T., Skoog F.* A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture // *Physiol. Plant.* 1962. V. 15. Pp. 473-497.
19. *Na G.C., Timasheff S.N.* In vitro vinblastine-induced tubulin paracrystals // *J. Biol. Chem.* 1982. Vol. 257. Issue 17. Pp.10387-10391.
20. *Panteris E., Apostolakos P., Graf R., Galatis B.* Gamma-tubulin colocalize with microtubule arrays and tubulin paracrystals in dividing vegetative cells of higher plants // *Protoplasma.* 2000. Vol. 210. Issue 3. Pp. 179-187.
21. *Panteris E., Komis G., Adamakis I.D., Samaj J., Bosabalidis A.M.* MAP65 in tubulin/colchicine paracrystals of *Vigna sinensis* root cells: possible role in the assembly and stabilization of atypical tubulin polymers // *Cytoskeleton (Hoboken).* 2010. Vol. 67. Issue 3. Pp. 152-160.

22. *Reynolds E.S.* The use of lead citrate at high pH as an electron-apague stain in electron microscopy // *J. Cell Biol.* 1963. Vol. 17. Issue 1. Pp. 208-212.

23. *Starling D.* Two ultrastructurally distinct tubulin paracrystals induced in sea-urchin eggs by vin-blastine sulphate // *J. Cell Sci.* 1976. Vol. 20. Issue 1. Pp. 79-89.

24. *Takanari H., Yosida T., Morita J., Izutsu K., Ito T.* Instability of pleomorphic tubulin paracrystals artificially induced by Vinca alkaloids in tissue-cultured cells // *Biol. Cell.* 1990. Vol. 70. Issue 1-2. Pp. 83-90.

25. *Takanari H., Morita J., Yamanaka H., Yada K., Takahashi A., Izutsu K.* Effects of acidic pH on the formation of vinblastine-induced paracrystals in Chinese hamster ovary cells // *Biol. Cell.* 1994. Vol. 82. Issue 1. Pp. 51-57.

26. *Utrilla L., Sans J., de la Torre C.* Colchicine-resistant assembly of tubulin in plant mitosis // *Proto-plasma.* 1989. Vol. 152. Issue 2. Pp. 101-108.

27. *Wang C., Li J., Yuan M.* Salt tolerance requires cortical microtubule reorganization in *Arabidopsis* // *Plant Cell Physiol.* 2007. Vol. 48. Issue 11. Pp. 1534-1547.

28. *Wang C., Zhang L.J., Huang R.D.* Cytoskeleton and plant salt stress tolerance // *Plant Signal. Behav.* 2011. Vol. 6. Issue 1. Pp. 29-31.

Баранова Екатерина Николаевна – канд. биол. наук, вед. науч. сотр. лаборатории клеточной инженерии растений ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии (127550, г. Москва, ул. Тимирязевская, 42; тел.: (499) 977-16-36; e-mail: greenpro2007@rambler.ru).

Чабан Инна Анатольевна – канд. биол. наук, вед. науч. сотр. лаборатории клеточной инженерии растений ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии (127550, г. Москва, ул. Тимирязевская, 42; тел. (499) 977-16-36; e-mail: inna_chaban@rambler.ru).

Богоутдинова Лилия Рашидовна – инж.-лаб. лаборатории клеточной инженерии растений ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии (127550, г. Москва, ул. Тимирязевская, 42; тел. (499) 977-16-36; e-mail: bogoutdinova_lr@rambler.ru); асп. кафедры генетики, биотехнологии, селекции и семеноводства РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева (127550, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49; тел. (499) 976-40-72; e-mail: bogoutdinova_lr@rambler.ru).

Куренина Людмила Владимировна – канд. биол. наук, вед. науч. сотр. лаборатории клеточной инженерии растений ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии (127550, г. Москва, ул. Тимирязевская, 42; тел. (499) 977-31-41; e-mail: ludmila.kur2208@gmail.com).

Кононенко Неонила Васильевна – канд. биол. наук, вед. науч. сотр. лаборатории клеточной инженерии растений ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии (127550, г. Москва, ул. Тимирязевская, 42; тел. (499) 977-16-36; e-mail: nilava@mail.ru).

Халилуев Марат Рушанович – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаборатории генной инженерии растений ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии (127550, г. Москва, ул. Тимирязевская, 42; тел. (499) 976-90-05; e-mail: marat131084@rambler.ru); доц. кафедры генетики, биотехнологии, селекции и семеноводства РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева (127550, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49; тел. (499) 976-40-72; e-mail: marat131084@rambler.ru).

Смирнова Елена Александровна – д-р. биол. наук, зав. лабораторией клеточной инженерии растений ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт

сельскохозяйственной биотехнологии (127550, г. Москва, ул. Тимирязевская, 42; тел. (499) 977-16-36; e-mail: kinggobi@yandex.ru); проф. кафедры клеточной биологии и гистологии МГУ им. М.В. Ломоносова (119991, г. Москва, Ленинские горы, 1; тел. (495) 939-17-94; e-mail: kinggobi@yandex.ru).

Ekaterina N. Baranova – PhD in Biological Sciences, key researcher of the cell biology laboratory, All-Russian Research Institute of Agricultural Biotechnology (127550, Moscow, Timiryazevskaya str., 42; tel. (499) 977-16-36; e-mail: greenpro2007@rambler.ru).

Inna A. Chaban – PhD in Biological Sciences, key researcher of the cell biology laboratory, All-Russia Research Institute of Agricultural Biotechnology (127550, Moscow, Timiryazevskaya str., 42; tel. (499) 977-16-36; e-mail: inna_chaban@rambler.ru).

Liliya R. Bogoutdinova – Laboratory technician of the cell biology laboratory, All-Russian Research Institute of Agricultural Biotechnology (127550, Moscow, Timiryazevskaya str., 42; tel. (499) 977-16-36; e-mail: bogoutdinova_lr@rambler.ru); PhD student of the Department of Genetics, Biotechnology, Plant Breeding and Seed Production, Russian Timiryazev State Agrarian University (127550, Moscow, Timiryazevskaya str., 49; tel. 976-40-72; e-mail: bogoutdinova_lr@rambler.ru).

Lyudmila V. Kurenina – PhD in Biological Sciences, key researcher of the cell engineering laboratory, All-Russian Research Institute of Agricultural Biotechnology (127550, Moscow, Timiryazevskaya str., 42; tel. (499) 977-31-41; e-mail: ludmila.kur2208@gmail.com).

Neonila V. Kononenko – PhD in Biological Sciences, key researcher of the cell biology laboratory, All-Russian Research Institute of Agricultural Biotechnology (127550, Moscow, Timiryazevskaya str., 42; tel. (499) 977-16-36; e-mail: nilava@mail.ru).

Marat R. Khaliluev – PhD in Biological Sciences, senior researcher of the plant genetic engineering laboratory, All-Russian Research Institute of Agricultural Biotechnology (127550, Moscow, Timiryazevskaya str., 42; tel. (499) 976-90-05; e-mail: marat131084@rambler.ru); assistant professor of the Department of Genetics, Biotechnology, Plant Breeding and Seed Production, Russian Timiryazev State Agrarian University (127550, Moscow, Timiryazevskaya str., 49; tel. (499) 976-40-72; e-mail: marat131084@rambler.ru).

Elena A. Smirnova – PhD in Biological Sciences, Head of the cell biology laboratory, All-Russian Research Institute of Agricultural Biotechnology (127550, Moscow, Timiryazevskaya str., 42; tel. (499) 977-16-36; e-mail: kinggobi@yandex.ru); Professor of the Department of Cell and Tissue Biology, Lomonosov Moscow State University (119991, Moscow, Leninskiye Gory str., 1; tel. (495) 939-17-94; e-mail: kinggo-bi@yandex.ru).