

УДК 581.82:581:47:582.734.3

ФИТОГОРМОНЫ И УЛЬТРАСТРУКТУРА ПЛОДОВ ЯБЛОНИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВЫСОТЫ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ В ГОРАХ

Т.Х. КУМАХОВА, И.В. СКОРОБОГАТОВА

(Кафедра ботаники и Центр молекулярной биотехнологии
РГАУ — МСХА имени К.А. Тимирязева)

Проведено исследование ультраструктуры и содержания основных фитогормонов в клетках плодов средне- и позднеспелых сортов яблони, произрастающих в горной экологической зоне центральной части предгорий Северного Кавказа. Показано, что ультраструктура протопласта клеток плодов почти однотипная, но сорта яблони различаются качественными и количественными признаками в зависимости от сроков созревания и высоты произрастания растений. Так, в клетках плодов, выращенных на высоте 1200 м, происходят снижение вакуолизации, образование концентрических мембранных структур, формирование полярности в эндоплазматическом ретикулуме, увеличение числа митохондрий и межмитохондриальные контакты, а также уменьшение числа тилакоидов в хлоропластах, их слияние и деление. Наряду с ультраструктурными перестройками отмечаются изменения в содержании основных фитогормонов. Обсуждается адаптивное значение ультраструктурных изменений и механизмы, посредством которых фитогормоны оказывают протекторное действие в приспособительных реакциях плодов яблони к условиям произрастания.

Ключевые слова: абсцизовая кислота, адаптация, стресс, хлоропласты, ультраструктура, фитогормоны, эндоплазматический ретикулум, яблоня.

Все увеличивающийся в последние годы прессинг неблагоприятных факторов внешней среды на растительные организмы приводит к структурным и функциональным перестройкам клеток, связанным с запуском «стрессовых программ», для выработки в дальнейшем приспособительных механизмов к изменившимся условиям произрастания. В связи с этим становится актуальным проведение прогностических комплексных исследований с целью выявления универсальных цитологических и физиологических маркеров, определяющих адаптивные возможности растений к непрерывно изменяющимся условиям внешней среды. На наш взгляд, материалы таких исследований не только дополняют имеющиеся фундаментальные знания, но и представляют практический интерес, поскольку могут стать основой для создания наиболее приспособленных к суровым климатическим условиям форм культурных растений, а также прогнозирования успешности их интродукции в зонах рискованного земледелия.

Большинство исследователей полагают, что ответные реакции растений на стрессовые факторы очень сложны, и в них вовлечены множество метаболических и структурных процессов. По их мнению, переключение генетических программ, определяющих последовательность этапов роста и развития растений, а также их от-

веты на стрессовые воздействия осуществляют фитогормоны. С современной точки зрения, фитогормоны рассматривают в качестве первичных мессенджеров, использующихся клеткой для сигнальных целей. Особую роль в ответных адаптивных реакциях растений отводят абсцизовой кислоте (АБК) — гормону стресса. При этом АБК рассматривают в качестве внутреннего сигнала, возникающего в клетках на воздействие разного рода неблагоприятных факторов и индуцирующего каскад защитных реакций на стресс. Предполагают, что формирование ответов на стрессы в значительной степени связано с изменением синтеза АБК *de nova* [13]. Установлено, что длительное влияние разных стресс-факторов (пониженная или повышенная температура, УФ и др.) резко повышает уровень эндогенной АБК в тканях растений, а экзогенная АБК — неспецифическую устойчивость растений к различным стрессорам [4, 9, 10, 15, 18, 19]. По имеющимся в литературе новым данным, АБК участвует в регуляции программы развития растений.

Несмотря на большое количество работ по выявлению основных групп фитогормонов при стрессе, большинство проведенных исследований посвящено лишь изучению одного или двух гормонов в каком-либо органе растения на определенном этапе онтогенеза [13, 16 и др.]. Только в ряде публикаций показано существование нескольких генов, ответственных за синтез разных форм одного и того же гормона [18, 28, 33]. Мало изучен гормональный баланс репродуктивных органов растений в экологическом плане. Между тем отсутствие сведений по общей гормональной картине не дает полного представления о структурных и функциональных адаптациях растений в целом. Перспективной моделью для изучения в этом плане, на наш взгляд, являются плоды яблони, которая благодаря высокой экологической пластичности способна произрастать в суровых климатических условиях, оказывающих постоянное стрессовое воздействие на их рост и развитие.

Цель данной работы — выявление возможной корреляции между изменениями ультраструктуры клеток и гормональным балансом, отражающим функциональную адаптацию плодов яблони к непрерывно изменяющимся в горах условиям, а также поиск универсальных физиологических и цитологических маркеров их приспособительных возможностей к стрессорным факторам.

Материал и методика исследования

Объектами исследования были плоды средне- и позднеспелых сортов яблони (*Malus domestica* Borkh.), возделываемых в лесогорной (550–600 м над уровнем моря) и горно-степной (1200 м) подзонах горной экологической зоны центральной части предгорий Северного Кавказа.

Лесогорная подзона отличается от горно-степной не только высотой расположения над уровнем моря, но и почвенно-климатическими характеристиками [20]. В лесогорной подзоне рельеф под яблоневыми насаждениями представлен пологими склонами и межсклонными равнинами. Подзона в основном теплая, является благоприятной для горного садоводства. Однако для нее характерны кратковременные суховеи.

В горно-степной подзоне рельеф гористый. Подзона умеренно холодная, характеризуется высокой степенью инсоляции, пониженной температурой воздуха, сопровождающейся резкими суточными перепадами и маломощными почвами. Яблоневые насаждения расположены в межсклонных долинах и пологих южных склонах, пересекающихся горными реками, создающими наряду с макро-специфические микроклиматические условия. Для возделывания в этой подзоне приемлемы только отдельные сорта яблони.

Материал (плоды) собирали на стадии съемной зрелости из средней части кроны трех модельных деревьев каждого сорта (среднеспелый — Ренет ландсбергский и позднеспелый — Ренет Симиренко). Для получения сравнимых результатов образцы для исследований брали в области экватора плода на одинаковом расстоянии от долей чашечки и плодоножки.

Трансмиссионная электронная микроскопия (ТЭМ). Подготовку материала для электронно-микроскопических исследований проводили по модифицированной нами методике [5]. Материал фиксировали глутаровым альдегидом и четырехокисью осмия на 0,1 М фосфатном буфере (pH=7,2) и заливали в эпон. Ультратонкие срезы изготавливали на ультрамикротоме ЛКВ-III, контрастировали 2%-м водным раствором уранилацетата (37°) и цитратом свинца по Рейнольдсу [29].

Изучали и анализировали образцы на трансмиссионном электронном микроскопе Hitachi-600 в лаборатории электронной микроскопии НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского, МГУ имени М.В. Ломоносова. Редактирование микрофотографий производили в *CorelDRAW X5*.

Определение содержания фитогормонов. Содержание фитогормонов (индолилуксусная кислота — ИУК, цитокинины — ЦК, гибберелловая кислота — ГК, абсцизовая кислота — АБК) определяли в центре молекулярной биотехнологии РГАУ – МСХА имени К.А. Тимирязева по методике, разработанной в лаборатории регуляторов роста [17].

Фитогормоны определяли в одной навеске отдельно в клетках «кожицы» (эпидерма и гиподерма) и сочной части (паренхима) перикарпия плодов средне- и позднеспелых сортов яблони, произрастающих на разных высотах в горах.

Определение индолилуксусной кислоты (ИУК): ВЭЖХ (система приборов фирмы Biotronic), детектор флуоресцентный RF-350 (Shimadzu), Em-350 nm, Ex-280 nm, колонка Lichrosorb RP-18, 6 мкм, 4×250. Подвижная фаза — 40%-й водный раствор метанола, скорость потока — 0,8 мл/мин, время удерживания — 6 мин. Идентификацию ИУК проводили сравнением времен удерживания синтетической ИУК (Sigma) с природной. Минимальная регистрируемая концентрация ИУК составила 5,0 нг в аликвоте пробы (50 мкл).

Определение цитокининов (ЦК): ВЭЖХ (система приборов фирмы Biotronic), детектор ультрафиолетовый (модель ВТ 3030), длина волны 268 nm, колонка Lichrosorb RP-18, 6 мкм, 4×250. Подвижная фаза: ацетонитрил-вода-уксусная кислота (V/V — 55:44:1), скорость потока — 0,8 мл/мин, время удерживания — 15 мин. Идентификацию зеатина проводили сравнением времен удерживания синтетического зеатина (Calbiochem) с природным. Минимальная регистрируемая концентрация зеатина — 20,0 нг в аликвоте пробы (50 мкл).

Определение биологической активности гиббереллинов (ГК) проводили по росту гипокотилей салата сорта Берлинский. Количественно гиббереллины определяли по калибровочной кривой, для построения которой использовали гибберелловую кислоту (Россия).

Определение абсцизовой кислоты (АБК): ВЭЖХ (система приборов фирмы Biotronic), детектор ультрафиолетовый (модель ВТ 3030), длина волны 254 nm, колонка Lichrosorb RP-18, 6 мкм, 4×250. Подвижная фаза — 40%-й водный раствор метанола, скорость потока — 0,5 мл/мин, время удерживания АБК — 10 мин. Идентификацию АБК проводили сравнением времен удерживания синтетической АБК (Calbiochem) с природной. Минимальная регистрируемая концентрация АБК составляет 7,5 нг в аликвоте пробы (50 мкл).

Ошибка методов определения содержания фитогормонов не превышала 20%.

Результаты исследования и их обсуждение

Исследования плодов средне- и позднеспелых сортов яблони, выращенных на разных высотах (550–600 и 1200 м над уровнем моря) в горах, проводились в двух направлениях. Первая часть работы была посвящена изучению особенностей ультраструктуры протопласта клеток плодов. Нас интересовал вопрос, встречаются ли в клетках плодов какие-либо структурные изменения приспособительного характера и как они проявляются в крайних условиях гор. Вторая часть исследований посвящена определению содержания фитогормонов и выяснению их роли в адаптивных процессах плодов яблони к стрессовым воздействиям в горах. Физиологическим критерием для выявления адаптивных возможностей плодов являлся анализ рост-стимулирующих фитогормонов (ИУК, ЦК, ГК). Нас также интересовала роль фитогормонов — ингибиторов роста (АБК) в ответных адаптивных реакциях плодов к условиям выращивания.

1. Ультраструктура клеток плодов средне- и позднеспелых сортов яблони, произрастающих на разных высотах в горах

Как показывают электронно-микроскопические исследования, ультраструктура протопласта клеток плодов изученных сортов яблони, независимо от высоты произрастания (600 и 1200 м над ур. м), почти однотипная. На срезах в перикарпии четко выражены наружная зона (эпидерма и гиподерма), составленная из более мелких толстостенных клеток и крупноклеточная паренхима, которая занимает большую часть плода.

Эпидерма. Клетки эпидермы имеют довольно сложное строение, они насыщены цитоплазматическим содержимым (рис. 1 А–Л).

Ядра почти округлые или слегка удлинённые, перинуклеарное пространство оболочки не расширено (рис. 1 А). Хроматин распределен неравномерно по всей площади ядра, выявляются крупные рибонуклеопротеидные структуры. Ядрышко обычно одно.

Пластиды овальные или удлинённые, в основном представлены хромопластами со слабо развитой тилакоидной системой. В их строении находятся одно или несколько крупных крахмальных зерен и множество мелких пластоглобул (рис. 1 Б). Крахмальных зерен значительно больше в пластидах клеток среднеспелых плодов. Основной объем некоторых пластид занимают аморфные электронно-плотные белковые включения (рис. 1 В). В ТЭМ белковые включения — гомогенные, имеют высокую электронную плотность. Кроме того, наблюдаются изменения формы пластид в связи с появлением обширных инвагинаций, значительно увеличивающих их поверхность. В инвагинациях часто находятся эндоплазматический ретикулум (ЭР), митохондрии, рибосомы и липидные капли (рис. 1 Б, Д).

Митохондрии ортодоксальные (нормальные), овальные или удлинённые, с хорошо развитой системой крист, их матрикс умеренно плотный (рис. 1 Д). Межмембранные пространства оболочки и кристы нерасширены. У некоторых митохондрий матрикс довольно плотный, многочисленные кристы извитые (рис. 1 Г).

Эндоплазматический ретикулум (ЭР) гранулярного и агранулярного типов (рис. 1 Ж, З). В клетках плодов позднеспелого сорта ЭР наиболее обильный, у среднеспелого — преобладает агранулярный эндоплазматический ретикулум (АЭР). На мембранах цистерн гранулярного эндоплазматического ретикулума (ГЭР) со стороны цитозоля прикреплены многочисленные рибосомы (рис. 1 Ж).

Аппарат Гольджи развит хорошо, от краев диктиосомных цистерн отшнуровываются многочисленные пузырьки. Некоторые из них довольно активные, участвуют в секреции веществ в вакуоли (рис. 1 К).

Вакуоли различаются по своим размерам (рис. 1 Д, Ж, К, Л). Обычно отмечают 3–4 крупных и множество мелких электронно-прозрачных вакуолей, расположенных по всей цитоплазме. Вакуоли некоторых клеток содержат электронно-плотный материал разной конфигурации.

Иногда в цитоплазме находятся округлой формы крупные липидные капли, имеющие специфическую обкладку из цистерн гранулярного эндоплазматического ретикулума (рис. 1 З).

Гиподерма. В субэпидермальных клетках (гиподерма) пластидный аппарат развит значительно сильнее (рис. 2 А–И). Популяции пластид представлены обычно хлоропластами, мембранная система которых хорошо развита (рис. 2 Б). Они обычно расположены вдоль клеточных стенок (рис. 2 А). В некоторых хлоропластах тилакоиды упакованы плотно, в их строении находятся крупные крахмальные зерна (рис. 2 З).

Эндоплазматический ретикулум в большинстве случаев агранулярного типа, цистерны которого слегка расширены, со светлым содержимым, расположены по всей цитоплазме. Основной объем субэпидермальных клеток занимает крупная центральная вакуоль, часто содержащая электронно-плотный материал в виде хлопьев или округлых электронно-плотных образований (рис. 2 А, В). Иногда они сосредоточены на тонопласте вакуоли.

В остальном ультраструктура протопластов клеток субэпидермальной ткани (гиподермы) практически не отличается от эпидермальных клеток.

Паренхима. Наружные клетки, примыкающие к гиподерме, наиболее богаты цитоплазматическим содержимым. Ядро обычно занимает периферическое положение, вблизи него располагаются несколько органелл. Пластиды представлены типичными амилопластами, в которых весь объем занимают одно или несколько крупных крахмальных зерен (рис. 3 А–В). Мембранных структур в них практически не обнаружено. Во внутренних слоях паренхимной части перикарпия насыщенность клеток органеллами постепенно уменьшается. Многие из них содержат только тонкий пристенный слой цитоплазмы, центральные крупные электронно-прозрачные вакуоли и несколько органелл (рис. 3 В, Г).

При сходстве строения протопластов клеток плодов сорта яблони различаются морфометрическими показателями некоторых органелл, что свидетельствует об их специфике. Увеличение сроков созревания плодов коррелирует с увеличением размеров (площади) пластид в эпидермальных клетках. Наиболее мелкие пластиды характерны для среднеспелого сорта ($4,81 \pm 0,05$ мкм), а более крупные ($8,15 \pm 0,12$ мкм) — для позднеспелого. Размеры вакуоли специфичны для каждого сорта: у среднеспелого — $10,21 \pm 0,06$ мкм, а позднеспелого — $13,94 \pm 0,05$ мкм. Кроме того, эпидермальные клетки более насыщены цитоплазматическим содержимым, чем субэпидермальные и паренхимные.

Согласно полученным материалам, условия горно-степной подзоны (1200 м), характеризующиеся повышенной интенсивностью света и ультрафиолетового излучения, низкой температурой, высокой влажностью воздуха, маломощными почвами и другими микроклиматическими особенностями, оказывают значительное влияние на ультраструктуру клеток плодов, особенно позднего срока созревания.

Протопласты клеток наружной зоны (эпидерма и гиподерма) плодов позднеспелого сорта менее вакуолизированы, отличаются большей насыщенностью орга-

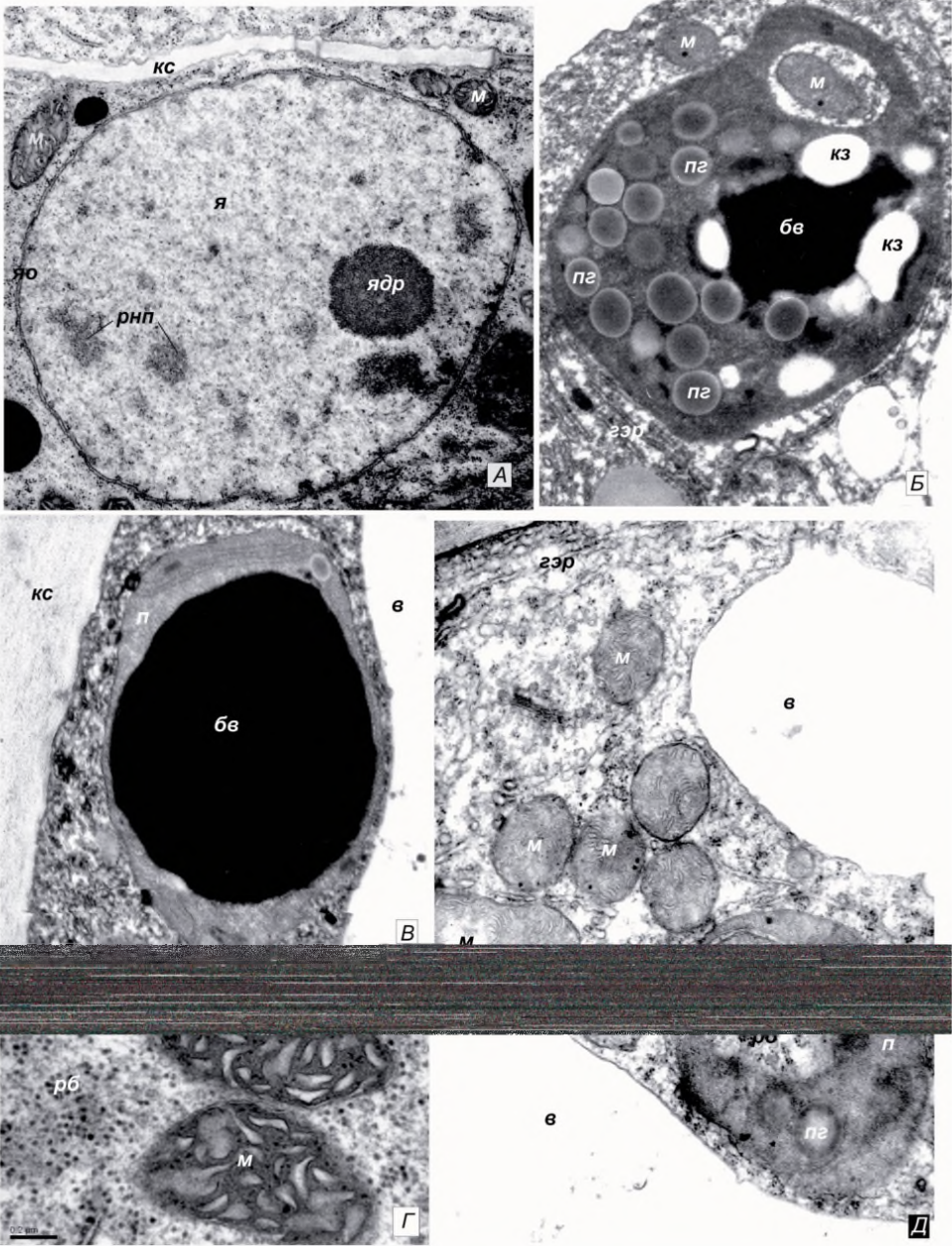


Рис. 1. Фрагменты эпидермальных клеток перикарпия плодов (А, Г, К, З) средне- и (Б, В, Д, Ж, И, Л) позднеспелых сортов *Malus domestica* Borkh., выращенных на разных высотах над ур. м.: А — ядро (600 м); Б, В — пластида (1200 м); Г — митохондрии (600 м); Д — митохондрии (1200 м). **Обозначения:** бв — белковые включения, в — вакуоль, зэр — гранулярный эндоплазматический ретикулум, кз — крахмальное зерно, кс — клеточная стенка, м — митохондрия, п — пластида, пг — пластоглобула, рнп — рибонуклеопротеидные структуры, рб — рибосомы, я — ядро, ядр — ядрышко, яо — ядерная оболочка. Увеличения: А, Б — 15000×; В, Г — 25000×; Д — 22000×

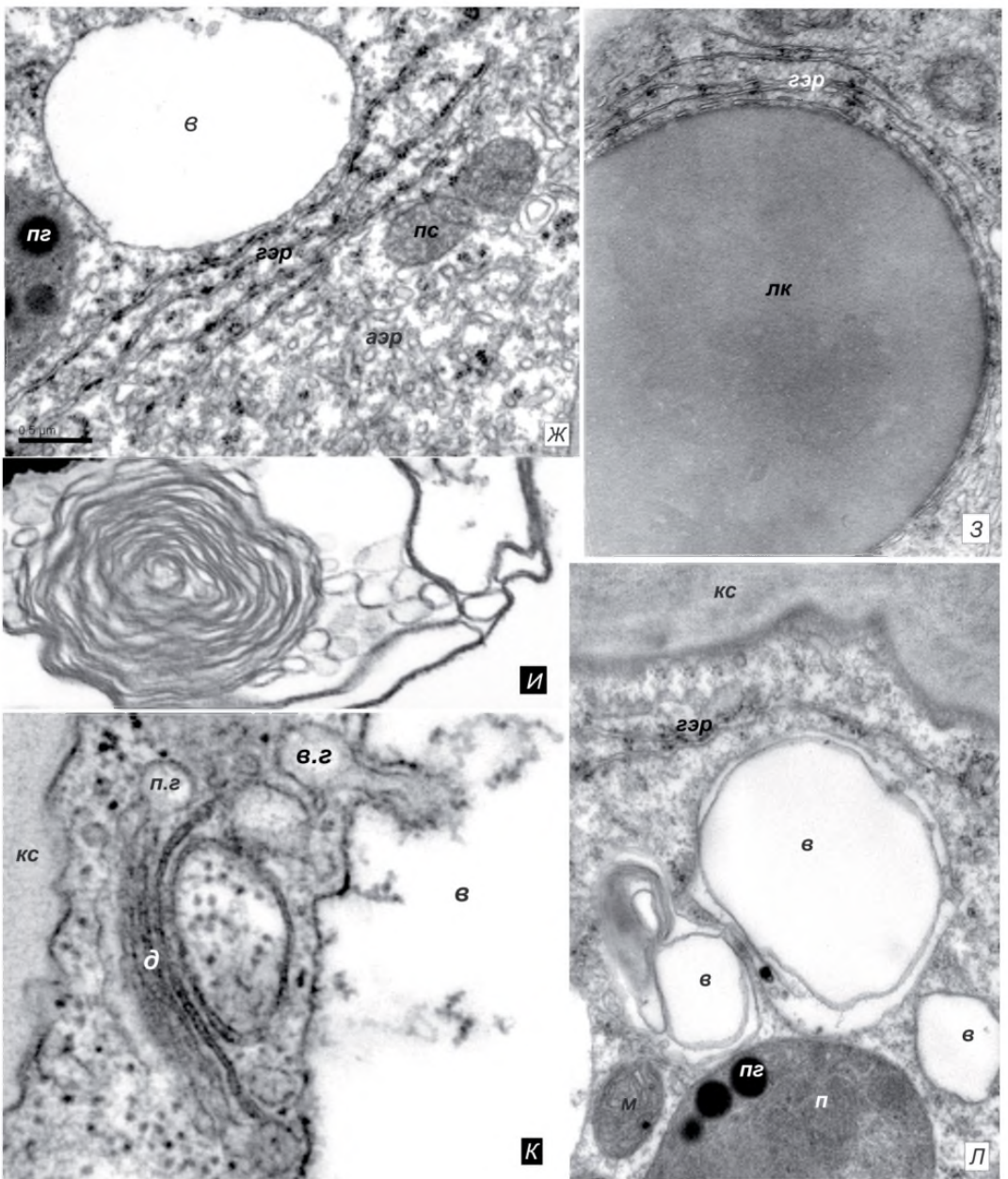


Рис. 1 (продолжение) Ж — эндоплазматический ретикулум (1200 м); З — липидная капля, окруженная цистернами гранулярного эндоплазматического ретикулума (600 м); И — концентрические мембранные структуры в вакуоли (1200 м); К — аппарат Гольджи (600 м); Л — вакуоли и другие органеллы (1200 м). *Обозначения:* аэр — агранулярный эндоплазматический ретикулум, д — диктиосома, лк — липидная капля, п — пероксисома. Остальные обозначения те же, что в А–Д. Увеличения: З — 30000×; И, К — 25000×; Л — 12000×

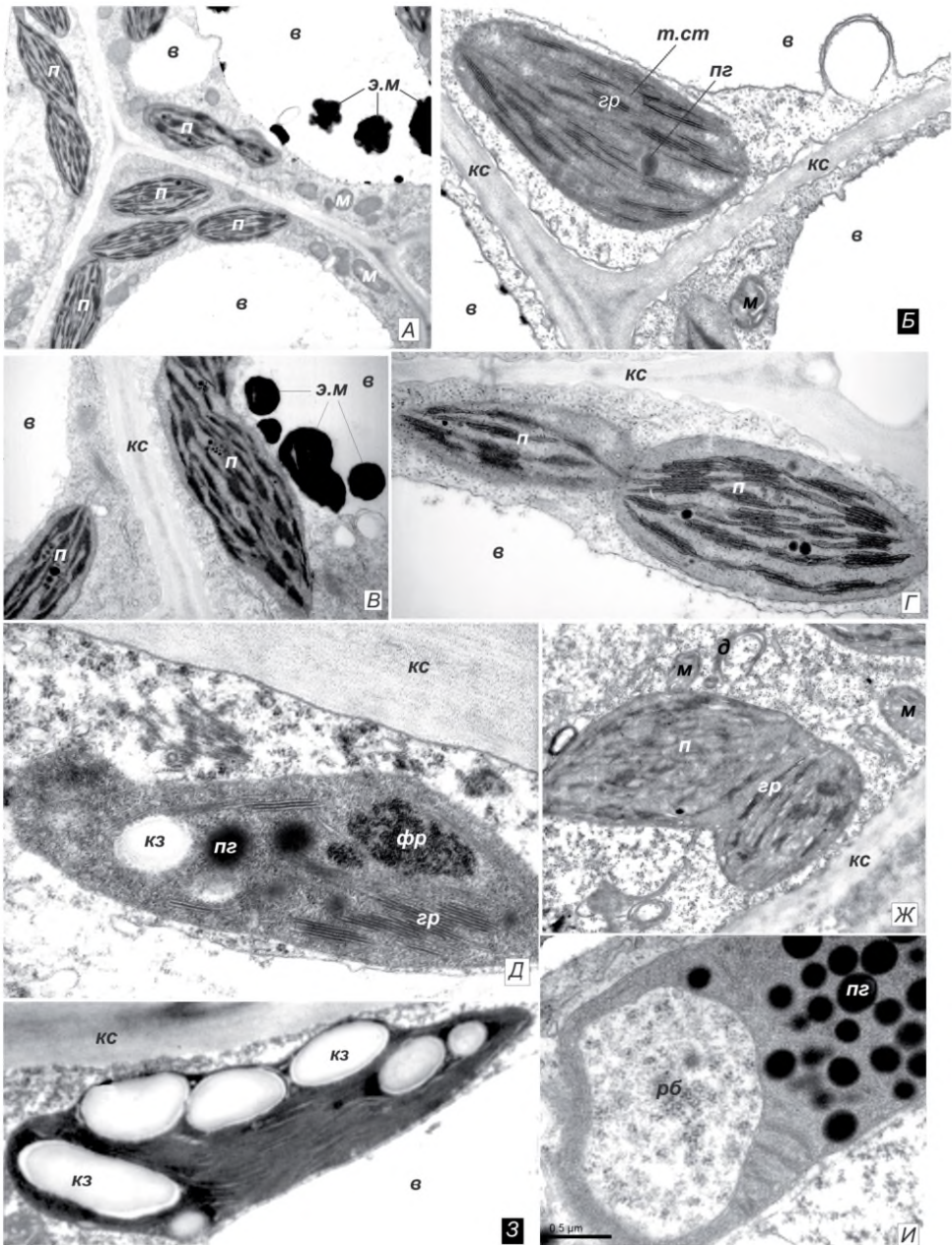


Рис. 2. Фрагменты клеток гиподермы плода позднеспелого сорта *Malus domestica* Borkh., выращенного на высоте 1200 м над ур. м.: А — скопление хлоропластов; Б — гранулярная структура хлоропласта, рыхлые области стромы содержат птДНК (4 нуклеоида); В, Ж — сливающиеся хлоропласты; Г — контактирующие хлоропласты; Д — хлоропласт, содержащий ферритин; З — пластида с крупными крахмальными зёрнами; И — пластида с инвагинацией. *Обозначения:* в — вакуоли, гр — граны, д — диктиосома, кз — крахмальное зерно, кс — клеточная стенка, п — пластида, пг — пластоглобула, рб — рибосомы, т.ст — тилакоиды стромы, фр — ферритин, э.м. — электронно-плотный материал. Увеличения: А — 8000×; Б-З — 30000×

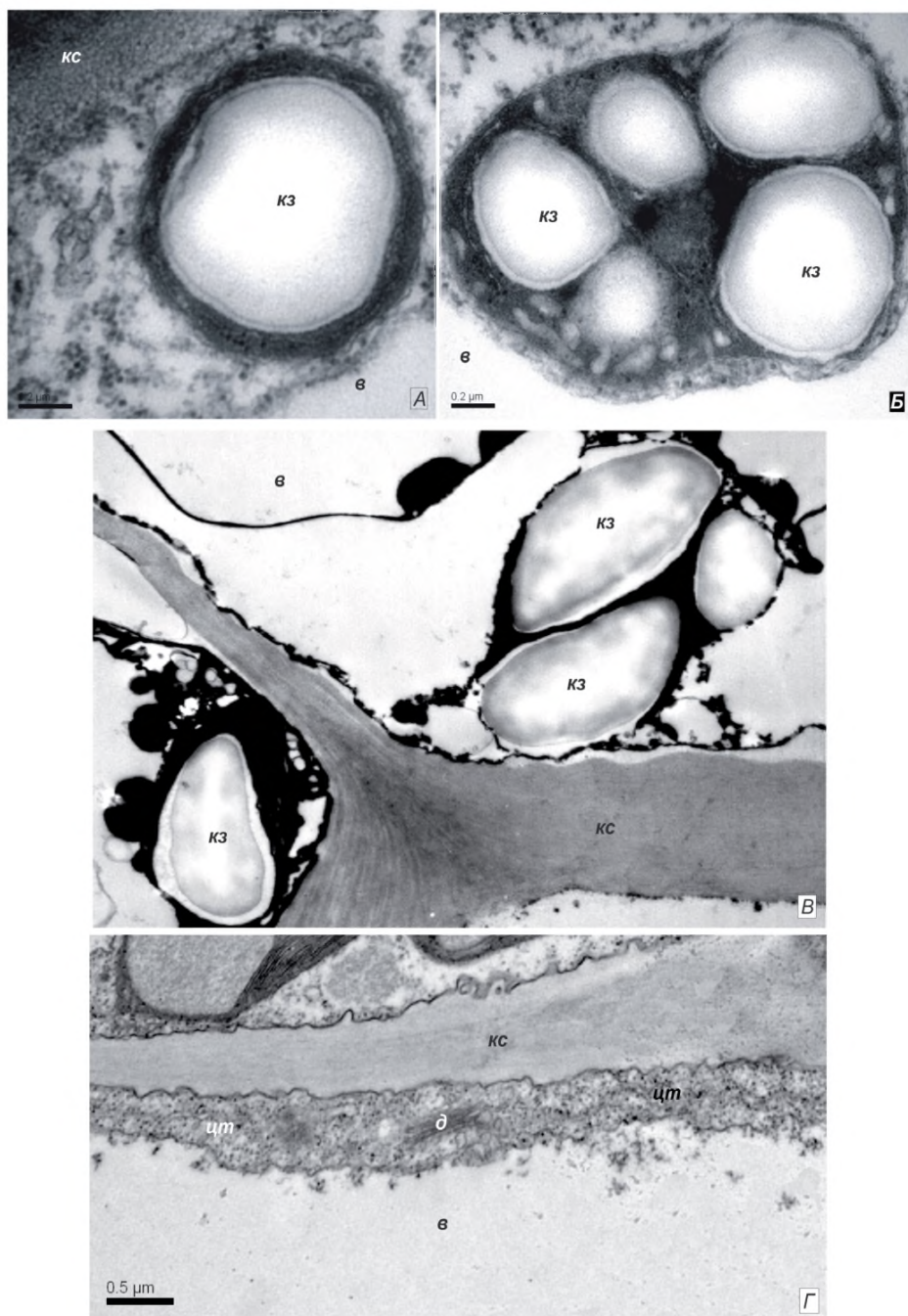


Рис. 3. Фрагменты паренхимных клеток перикарпия плодов позднеспелого сорта *Malus domestica* Borkh., выращенного на высоте 1200 м над уровнем моря: А, Б, В — амилопласты (15000×); Г — цитоплазма и крупная центральная вакуоль. *Обозначения:* в — вакуоли, д — диктиосома, кз — крахмальное зерно, кс — клеточная стенка, цт — цитоплазма

неллами. При этом наиболее вариabельными клеточными компартментами являются пластиды (см. рис. 1 Б, В; 2 А–И; 3 А–В).

Главная особенность пластид — пристеночное положение, интенсивное их слияние и деление, контакты между собой и с другими органеллами, а также активное накопление крахмальных зерен, пластоглобул и белковых включений. При этом клетки плодов позднеспелого сорта содержат значительно больше белоксодержащих пластид. Согласно литературным данным, единого мнения о природе аморфных белковых включений в пластидах у исследователей нет. По одной из гипотез они состоят из липопротеина [31], по другой — в них аккумулируются нуклеиновые кислоты и белок [27]. Установлено, что из всех ферментов только пепсин растворяет белковые включения [21]. Наряду с этими особенностями в хлоропластах клеток гиподермы кардинально перестраивается мембранная система, грани состоят из меньшего числа тилакоидов.

Обращает на себя внимание накопление в некоторых хлоропластах гранул ферритина. При рассмотрении в ТЭМ неокрашенных срезов цитратом свинца по Рейнольдсу гранулы ферритина выглядят более электронно-плотными (рис. 2 Д). По данным литературы, ферритин относится к числу железосодержащих белков пластид, а железо, в свою очередь, входит в состав простетической группы ферментов и выполняет важную роль в функционировании электронно-транспортных цепей фотосинтеза и дыхания, а у целого ряда антиоксидантных ферментов (Fe-супероксиддисмутазы, пероксидазы и каталазы) играет роль кофактора [3, 7, 23–25, 30]. Установлено, что большая часть активного железа (до 80%), которая участвует в биохимических реакциях, локализована в хлоропластах [30]. Ферритин часто аккумулируется в пластидах стареющих тканей и фотосинтетически неактивных хлоропластах [22, 23, 30]. Для растений, подвергающихся воздействию стрессовых факторов, ферритин играет важную роль в регуляции окислительно-восстановительных реакций с участием железа, так как разложение H_2O_2 с образованием самой токсичной формы кислорода-гидроксил-радикала катализируются ионами Fe^{2+} [14]. Предполагают, что удаление внутриклеточного Fe^{2+} путем его связывания ферритином играет защитную роль, так как тормозит разложение H_2O_2 и тем самым генерацию гидроксил радикала. Вероятно, активное накопление ферритина в хлоропластах клеток плодов, выращенных на высоте 1200 м над ур. м является одним из способов выведения избытка Fe^{2+} из метаболизма клетки.

Кроме того, митохондрии эпидермальных клеток плодов часто образуют скопления, контакты между собой и с другими органеллами. Подобные картины в поведении митохондрий, связанные с необходимостью поддержания высокой интенсивности дыхания в горах, нами описаны ранее [6]. Как нам представляется, эти особенности в поведении митохондрий инициированы прежде всего пониженной температурой и резкими суточными перепадами в горах и связаны с дополнительными энергетическими затратами на поддержание обменных процессов в более суровых условиях произрастания растений.

В некоторых случаях в клетках высокогорных плодов наблюдается нарушение проницаемости и целостности внутренних мембран клеточных компартментов. Так, в цитоплазме образуются миелиновые тельца, а внутри вакуоли своеобразные концентрические мембранные структуры (рис. 1 И, К). По нашему мнению, появление таких новообразований в клетках плодов неспецифичны и, по данным литературы, они похожи на таковые, что при недостатке кислорода и других стрессовых воздействиях.

Еще важно отметить, что в эпидермальных клетках плодов позднеспелого сорта, произрастающего на высоте 1200 м, наблюдается полярность в развитии ЭР. Ближе к ее наружной тангенциальной стенке расположены скопления длинных цистерн ГЭР, на мембранах которых сосредоточены многочисленные рибосомы, а к внутренней тангенциальной стенке — компактно собранные трубочки АЭР. При этом высоко развитый ГЭР коррелирует с наличием в вакуолях клеток электронно-плотных образований, что указывает на его возможное участие в их синтезе, а высоко развитый АЭР — с наличием крупных липидных капель в цитоплазме.

2. Содержание фитогормонов в клетках плодов средне- и позднеспелых сортов яблони, произрастающих на разных высотах в горах

Согласно полученным материалам, в клетках плодов всех изученных сортов яблони независимо от высоты их произрастания уровень ИУК незначительный (рис. 4, 5). Наибольшее количество ИУК содержится в клетках «кожицы» плодов среднеспелого сорта, а наименьшее — в клетках «кожицы» позднеспелых плодов, выращенных на высоте 600 м. При этом по содержанию ИУК в клетках паренхимы плоды средне- и позднеспелых сортов практически не различаются (см. рис. 4, 5). В клетках плодов средне- и позднеспелых сортов, произрастающих на высоте 1200 м над ур. м, за исключением паренхимной части перикарпия плода среднеспелого сорта, содержание ИУК ниже уровня чувствительности хроматографа (см. рис. 4, 5).

Что касается ЦК, то у изученных плодов наблюдаются различия, но не сильно выраженные. Содержание ЦК в клетках «кожицы» (эпидерма и гиподерма) почти в 2 раза больше, чем в паренхимной части (см. рис. 4, 5). Однако уровень ЦК значительно выше в плодах всех сортов, выросших в лесогорной зоне (600 м), особенно в клетках «кожицы» (см. рис. 4, 5).

Уровень ГК по сравнению с другими фитогормонами значительно выше в клетках всех плодов (см. рис. 4, 5). При этом отмечаются большие различия в его содер-

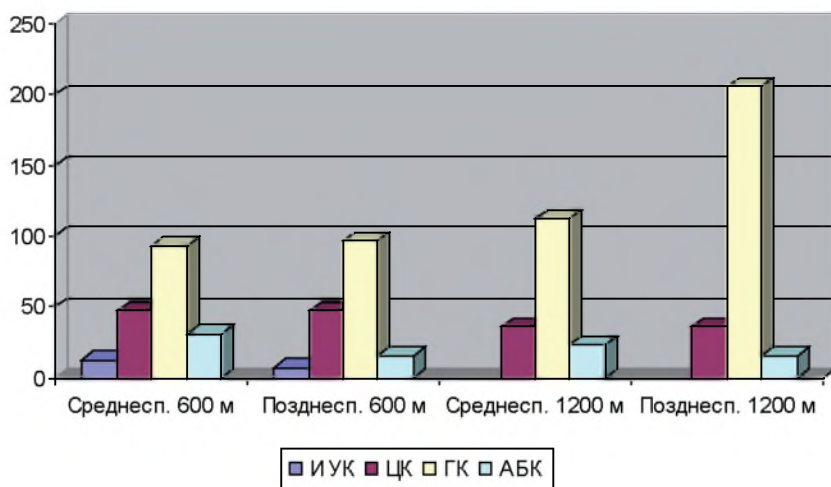


Рис. 4. Содержание фитогормонов в клетках «кожицы» плодов средне- и позднеспелых сортов яблони, выращенных на разных высотах над ур. м

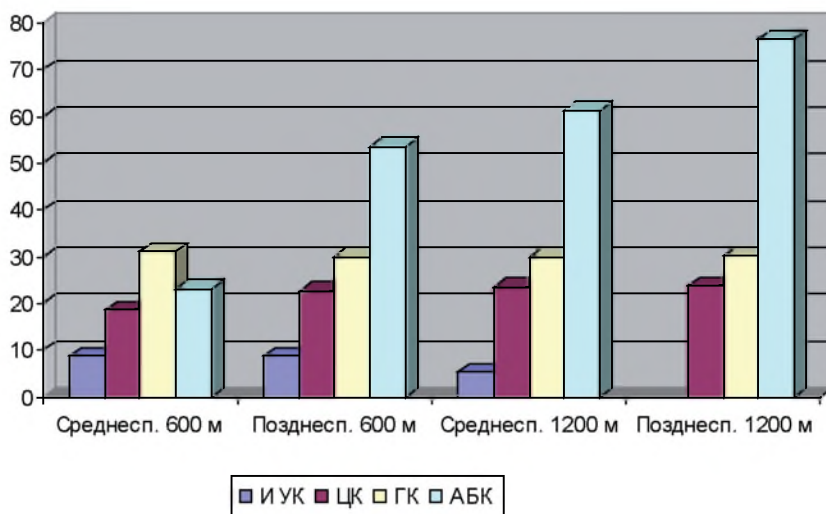


Рис. 5. Содержание фитогормонов в клетках паренхимы плодов средне- и позднеспелых сортов яблони, выращенных на разных высотах над ур. м

жании в клетках «кожицы» и паренхимы. Наибольшее содержание ГК наблюдается в клетках «кожицы» плода позднеспелого сорта, произрастающего на высоте 1200 м, а наименьшее — в паренхимной части перикарпия этого же сорта, произрастающего на высоте 600 м.

Уровень АБК по сравнению с ГК изменяется противоположным образом, за исключением клеток паренхимы среднеспелых плодов, выращенных на высоте 600 м (см. рис. 4, 5). Наибольшее ее количество обнаружено в клетках паренхимы плодов и средне- и позднеспелых сортов, выращенных на высоте 1200 м, а наименьшее — в клетках «кожицы» плодов, выращенных на этой же высоте.

Из изученных фитогормонов три последних (ЦК, ГК, АБК) в процессе биосинтеза имеют общего предшественника — мевалоновую кислоту. Образование АБК и ГК из мевалоновой кислоты идет до фарнезилпирофосфата, после чего пути их синтеза расходятся. Наличие общих предшественников дает возможность предполагать, что в зависимости от влияния факторов внешней среды уровень фитогормонов может меняться, что и подтверждается нашими материалами (см. рис. 4, 5).

Как известно, в фотосинтезирующих тканях ГК и АБК образуются в хлоропластах. Если учесть этот фактор, то можно предположить, что в хлоропластах клеток «кожицы» продолжается интенсивный синтез фитогормонов-стимуляторов, тогда как синтез АБК замедлен, о чем свидетельствует довольно низкий уровень этого фитогормона. По данным литературы, при стрессовых ситуациях (пониженная температура, УФ, водный стресс и др.) снижается содержание фитогормонов-активаторов и резко повышается активность ингибиторов — АБК и этилена. При этом накопление ингибиторов приводит к снижению активного состояния клеток и тканей, т.е. снижению синтеза белка, нуклеиновых кислот и торможению роста [15].

Эти данные сопоставимы с полученными нами ранее материалами, согласно которым рост плодов позднеспелых сортов, произрастающих на высоте 1200 м над уровнем моря, значительно угнетен, их перикарпий сформирован более мелкими и компактно расположенными толстостенными клетками [7, 8]. Можно предположить,

что АБК при воздействии стрессовых факторов, ингибируя транспорт ИУК, тем самым тормозит рост клеток плодов в горах. Вероятно, мелкоклеточность и мелкоплодность высокогорных растений можно рассматривать как анатомическую и биохимическую адаптивную реакцию, прежде всего на ускоренный вегетационный период, инициированный ранним снижением сезонных температур.

По нашим материалам, в процессах адаптации плодов яблони к действию суровых условий горно-степной зоны (1200 м над уровнем моря) наиболее активное участие принимает АБК, которая, выполняя роль триггера, запускает программу формирования повышенной стресс-резистентности. Роль ГК в ответных адаптивных процессах плодов, безусловно, важна и ее высокий уровень содержания в клетках всех изученных плодов можно считать неспецифической реакцией. Однако к настоящему времени пути передачи гиббереллинового сигнала в растениях мало изучены и для более полного обсуждения роли ГК в приспособительных реакциях плодов необходимы дополнительные исследования.

Таким образом, изучение механизмов неспецифических приспособительных реакций клеток плодов показало, что ответ на воздействие неблагоприятных факторов внешней среды связан прежде всего с изменением содержания фитогормонов, т.е. понижением уровня одних и повышением уровня других. Сравнительный анализ полученных нами материалов выявил сортоспецифические коррелятивные зависимости между изменениями ультраструктуры и уровня фитогормонов, что позволило определить некоторые диагностические критерии, отражающие состояние клеточных компартментов плодов, с помощью которых можно оценивать их адаптивные возможности к условиям выращивания. Одним из таких цитологических критериев, по нашему мнению, является специфика развития ЭР эпидермальных клеток плодов, выращенных на высоте 1200 м. Прежде всего формирование двух типов ЭР (АЭР и ГЭР) в пределах одной клетки свидетельствует о высоком уровне метаболизма. По данным литературы, сильно развитый АЭР — характерная черта терпеноидогенных клеток. При этом максимальное развитие АЭР коррелирует с наиболее интенсивным биосинтезом терпеноидов и липофильных продуктов [1, 2, 11, 12, 24, 26]. К этим веществам относят гиббереллины — гормон роста и абсцизовую кислоту — ингибитор роста. Вероятно, при понижении температуры АЭР участвует в синтезе гиббереллинов, а при ее повышении — абсцизовой кислоты (АБК). Согласно гипотезе Thomashow [32], такой ход событий вполне возможен, поскольку процессы метаболизма клетки могут регулироваться изменением экспрессии генов в ответ на изменение температуры. Показателем интенсивного синтеза терпенов в клетках плодов (1200 м над уровнем моря) также можно считать наличие во внутренних пространствах тилакоидов некоторых пластид электронно-плотного вещества, свидетельствующего об их вероятном участии в синтетических процессах. Вполне возможно, что пластиды плодов яблонь, представляют собой не только депо углеводов, но они могут принимать участие и в биосинтезе фитогормонов.

Анализ полученных материалов и литературных данных позволяет предположить, что в основе неспецифических реакций плодов яблонь к суровым условиям выращивания в горах лежит, прежде всего, физиологическая пластичность, а затем структурные изменения клеточных компартментов. По нашему мнению, выявленные структурно-функциональные перестройки клеток плодов необходимы для переключения на «стрессовые программы». Однако если учесть полифункциональность фитогормонов, позволяющую индуцировать не одну какую-нибудь реакцию, а целую физиологическую программу, то для более полной оценки их роли в адаптивных реакциях плодов яблонь к условиям выращивания требуются дополнительные исследо-

вания и обсуждения. Между тем полученные нами оригинальные материалы весьма полезны для раскрытия механизмов адаптаций растений к воздействию различных по своей природе стрессоров.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 08-04-01749).

Библиографический список

1. Алехина Н.Д., Балнокин Ю.В. и др. Физиология растений. М.: «Академия». 2005.
2. Васильев А.Е. Функциональная морфология секреторных клеток растений. Л., 1977.
3. Васильев А.Е., Гамалей Ю.В. Белковые кристаллы в клетках растений // Цитология, 1975. Т. 17. № 4. С. 371–389.
4. Касаковская И.В., Майдебура Е.В. Фитогормональная регуляция процессов адаптации у растений: роль абсцизовой кислоты в устойчивости к стрессам // Физиология и биохимия культ. растений, 1989. Т. 21. № 4. С. 315–321.
5. Кумахова Т.Х., Меликян А.П. Ультраструктура кутикулы плодов разных сортов *Malus domestica* (Rosaceae) // Бот. журн., 1989. Т. 74. № 3. С. 228–332.
6. Кумахова Т.Х. Особенности ультраструктуры клеток плодов *Malus domestica* (Rosaceae) // Бот. журн., 1992. Т. 77. № 2. С. 25–32.
7. Кумахова Т.Х. Некоторые особенности анатомии плодов *Malus domestica* (Rosaceae) в зависимости от высоты культивирования в горах. // Бот. журн., 2003. Т. 88. № 6. С. 75–84.
8. Кумахова Т.Х. Некоторые особенности гистогенеза плодов *Malus domestica* Borkh. (Rosaceae) в зависимости от высоты культивирования в горах // Известия ТСХА, 2011. Вып. 2. С. 75–92.
9. Курапов П.Б., Скоробогатова И.В., Сиушева А.Г. и др. Гормональный баланс различных по засухоустойчивости сортов ячменя // Вестник РАСХН, 1996. № 1. С. 17–19.
10. Леопольд А. Рост и развитие растений. М.: Мир, 1968.
11. Мирославов и др. Ультраструктурные основы адаптации растений к условиям крайнего севера // Экология в России на рубеже XXI века (надземные экосистемы). М.: Научный мир, 1999 С. 236–251.
12. Мирославов Е.А. и др. Сезонные изменения структуры клеток основной ткани донца луковицы *Scilla sibirica* (Liliaceae) // Бот. журн., 2005. Т. 90. № 9. С. 1430–1435.
13. Новикова Г.В., Степанченко Н.С. и др. В начале пути: восприятие АБК и передача ее сигнала у растений // Физиол. раст., 2009. Т. 56. № 6. С. 806–823.
14. Парамонова Н.В., Шевякова Н.И., Кузнецов В.В. Ультраструктурные особенности ферритина в листьях при стрессе // Физиол. раст., 2007. Т. 54. № 2. С. 275–289.
15. Полевой В.В. Фитогормоны. Л., 1982.
16. Пузина Т.И., Кириллова И.Г. Ключевые соотношения фитогормонов и их роль в регуляции физиологических процессов растения картофеля / Материалы III конференции Российского общества физиологов растений «Имуноанализ регуляторов роста в решении проблем физиологии растений, растениеводства и биотехнологии». Уфа, 2000.
17. Скоробогатова И.В. и др. Изменение содержания фитогормонов в проростках ячменя в онтогенезе при внесении регуляторов стимулирующих рост // Агробиохимия, 1999. № 8. С. 49–53.
18. Таланова В.В., Титов А.Ф., Боева Н.П. Изменение уровня эндогенной абсцизовой кислоты в листьях растений под влиянием тепловой и холодной закалики // Физиол. раст., 1991. Т. 38. № 5. С. 991–997.
19. Титов А.Ф. и др. Устойчивость растений в начальный период действия неблагоприятных температур. М.: Наука, 2006.
20. Шидаков Р. С. Соргигмент яблони и его совершенствование путем селекции в предгорьях Северного Кавказа. Нальчик, 1991.

21. Ames I.H., Pivorun J.P. A cytochemical investigation of a chloroplast inclusion // Amer. J. Bot., 1974. Vol. 61. № 7. P. 794–797.
22. Barton R. The production and behaviour of phytoferritin particles during senescence of Phaseolus leaves // Planta, 1970. Vol. 94. P. 73–74.
23. Behnke H.D. Phytoferritin in Sieve-Tube Plastids // Naturwissenschaften, 1971. Bd. 58. S. 151–152.
24. Vassilyev A.E. Quantitative ultrastructural data of secretory duct epithelial cells in Rhus toxicodendron // Ann. Rev. Plant Sci., 2000. Vol. 61. № 4. P. 615–630.
25. Cateson A.M. Evolution des plastes de Pomme au cours de la maturation du fruit. Modifications ultrasturcturales accumulation de ferritine // J. Macroscopic, 1970. № 4. P. 949–974.
26. Caratayrade A., Bourgeois G. Balz J.-P. et al. The secretary of *Gingo biloba*: structure, differentiation and analysis of the secretary product // Tress-Structure and Functions, 1990. Vol. 4. № 4. P. 171–178.
27. Marinos N.G. Multifunctional plastids in the meristematic region of potato tuber buds // J. Ultrast. Res., 1967. Vol. 17. № 1. P. 91–113.
28. Imai R., Moses M.S., Bray E.A. // J. Exp. Bot., 1995. 45 (290). P. 1077–1084.
29. Reynolds E.S. The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy // J. Cell Biol., 1967. P. 208–212.
30. Seckbach J. Ferriting Out the Secrets of plant Ferritin-a Reviw // J. Plant Nutr., 1982. V. 5. P. 369–394.
31. Strivastava L.M. On the fine structure of the cambium of *Fraxinus americana* // J. Cell Biol., 1966. Vol. 31. № 1. P. 79–93.
32. Thomashow M.F. Plant cold acclimation, freezing tolerance genes and regulatory mechanisms // Ann. Rev. Plant Phys., 1999. Vol. 50. P. 571–599.
33. Walker-Simmons M.K., Abrams G.D., Holappa L.D., Abrams S.R. // Plant Physiology, 1997. 114 (3 Suppl.).

Рецензент — д.б.н. И.Г. Тараканов

SUMMARY

Research into both ultrastructure and basic phyto-hormones content in cells of middle- and late-maturing apple varieties, growing in mountainous, ecological zone of Ciscaucasia, has been conducted. It has been discovered that the ultrastructure of a protoplast in fruit cells is almost homotypic, but apple varieties differ in both qualitative and quantitative characteristics depending on terms of maturing and altitude of their growth. Thus, in fruit cells, grown at an altitude of 1200 metres, vacuolization reduction occurs, formation of concentric membrane structures and polarity forming in endoplasmic reticulum, increase in a number of mitochondrions and intermitochondrial contacts also take place, reduction in a number of thylakoids in chloroplast, their merging and division also occurring. Alongside with ultrastructural reorganizatios, changes in essential phyto-hormones content are detected. Adaptive importance of both ultrastructural changes and mechanisms, by which phyto-hormones have protective effect on adaptation reactions of apple fruit to growth conditions, are considered in this scientific article.

Key words: abscisic acid, adaptation, stress, chloroplasts, ultrastructure, phyto-hormones, endoplasmic reticulum, apple tree.

Кумахова Тамара Хабаловна — к.б.н. Тел./ факс (495) 976-04-20.

Эл. почта: kumachova@aport.ru

Скоробогатова Ирина Витальевна — к.б.н. Тел./ факс (495) 976-04-20.

Э. почта: irina_timacad@mail.ru