

УДК 581.176:581.112.6

УЛЬТРАСТРУКТУРА КЛЕТОК СТЕЛЯРНОЙ ПАРЕНХИМЫ В СВЯЗИ С НАГНЕТАТЕЛЬНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТЬЮ КОРНЯ

Н. В. ПИЛЬЩИКОВА

(Кафедра физиологии растений)

Результаты исследований ультраструктуры клеток паренхимы центрального цилиндра в зоне корневых волосков 3-дневных проростков кукурузы свидетельствуют о высокой функциональной активности стелярной паренхимы и ее симпластической связи с дифференцирующимися сосудами. Усиление нагнетательной активности корня, вызванное резким повышением температуры, сопровождается сокращением клеток коры и центрального цилиндра с сохранением системы плазмодесм и повышением структурной организации цитоплазмы. Предполагается участие стелярной паренхимы в активной секреции воды и растворенных веществ в сосуды ксилемы.

Роль стелярной паренхимы в регуляции радиального транспорта в корне растений все еще остается дискуссионной. В литературе указывается на отсутствие экссудата за счет корневого давления у стелы, лишенной коры [22], и на более высокую активность в нагнетании воды «рукавичек» — корней без центрального цилиндра [13]. Вместе с тем необходимо отметить, что изоляция может быть артефактом. По аналогии с активным участием паренхимы листа в загрузке флоэмы продуктами фотосинтеза [4, 11] можно полагать, что стелярная паренхима должна иметь прямое отношение к транспортной функции корня. Особое внимание исследователи уделяют пограничному слою стелы — перициклу. Изучение распределения плазмодесм позволило высказать предположение, что он служит кольцевым коллектором, который собирает и направляет поток к сосудам ксилемы [1]. Однако в тонких всасывающих корнях взрослых растений часто происходит редукция перицикла [12]. В сосущих корнях яблони наряду с типичными для перицикла меристематическими клетками встречаются клетки — вместилища запасных веществ [10]. И те, и другие характеризуются слабым развитием эндоплазматического ретикулама, что свидетельствует об их ограниченной транспортной функции. Еще менее четкое представление о роли остальных клеток стелярной паренхимы. Исходя из того, что паренхимные элементы центрального цилиндра часто содержат значительные количества крахмала, жировые капли, их чаще рассматривают как место запаса питательных веществ [15, 23]. Тем не менее имеются сведения о концентрировании ионов в паренхимных клетках, непосредственно прилегающих к сосудам ксилемы [6]. Для характеристики деятельности этой ткани необходимы дальнейшие исследования. Одним из методических подходов является электронная микроскопия, так как она открыла возможность изучения функции, иммобилизованной на снимке [5]. Исследованию ультраструктуры клеток стелярной паренхимы при разной функциональной нагрузке корня и посвящена настоящая работа.

Методика

Объектом исследования служили корни 3-дневных проростков кукурузы сорта Одесская. Семена после 3-часового замачивания в воде прорастивали во влажной камере в ювете с песком, покрытым фильтровальной бумагой, при температуре 26—27 °С. Через 3 сут проростки высаживали

на кристаллизаторы с водопроводной водой (рН 6,0) на 3 ч, после чего использовали для проведения опытов.

Подготовку материала к электронно-микроскопическим исследованиям проводили наиболее широко распространенным в настоящее время методом двойной фиксации

с последующим позитивным контрастированием ультратонких срезов [14, 16]. Для этого поперечные срезы толщиной примерно 1 мкм из зоны корневых волосков на расстоянии 2—3 см от кончика корня фиксировали в 2,5 % растворе глутаральдегида в течение 3 ч и затем в 1 % растворе осмиевой кислоты 2 ч. Оба раствора готовили на фосфатном буфере (рН 7,2) с добавлением 0,05 М сахарозы; фиксацию проводили при температуре 1—2°C. Фиксированный материал тщательно промывали охлажденным буфером и обезвоживали этиловым спиртом возрастающей концентрации—30, 50, 70, 80 %, 2 смены 96%, 2 смены 100% по 15 мин. В абсолютном спирте срезы контрастировали 1 % уранилацетатом в течение 12 ч. Затем после 30-минутной обработки пропиленоксидом срезы пропитывали 12 ч заливочной смесью и в желатиновых капсулах заключали в Эпон-812. Полимеризация проходила при ступенчатом повышении температуры от 35 до 60 °C в течение 2 сут.

Ориентированные заливка и заточка блоков позволили делать ультратонкие срезы из строго определенных зон радиального транспорта воды и растворенных веществ. Срезы толщиной 50—60 нм, изготовленные на ультрамикротоме LKB-4800A, контрастировали цитратом свинца и исследовали под электронным микроскопом УЭМВ-ЮОБ или JE.M.-7 при увеличении 7500—25 000. Исследования проводили в лаборатории электронной микроскопии ТСХА и в Ботаническом институте им. В. Л. Комарова АН СССР.

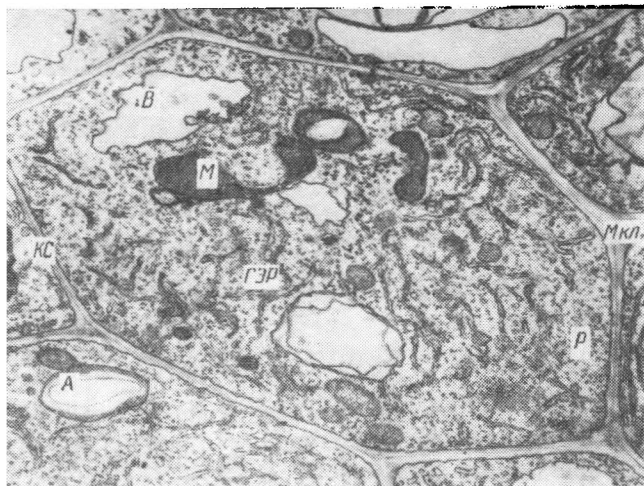
Для создания разной функциональной нагрузки корня использовали резкую смену температуры с 20 до 35°C. Контролем служили корни, постоянно находящиеся при 20 °C. О нагнетательной активности корня судили по скорости плача, которую регистрировали с интервалом 10 с с помощью горизонтального микроскопа и выражали в делениях шкалы окулярмикрометра. В параллельных опытах наблюдали за размерами площади сечения коры и стелы в зоне корневых волосков. Для этого из фиксированных 4 % формалином корней на расстоянии 2—3 см от кончика делали поперечные срезы. С помощью рисовального аппарата Аббе при увеличении микроскопа 5X8 зарисовывали контуры среза и центрального цилиндра. Изображение среза и его частей вырезали и взвешивали на аналитических весах. Площадь выражали в процентах к исходной. Повторность определений—6—8-кратная. В таблице и на рис. 6 представлены средние значения из параллельных определений.

Условные обозначения к рисункам: А — амилопласт; АЭР — агранулярный эндоплазматический ретикулум; В — вакуоль; ГЭР — гранулярный эндоплазматический ретикулум; Д — диктиосома; Ин — инвагинация; КС — клеточная стенка; М — митохондрия; Мкл — межклетник; Нп — нуклеоплазма; ПГ — пузырек Гольджи; Пд — плазмодесма; Пл — плазмалемма; Р — рибосомы; Т — тонопласт; Цит — цитоплазма; Я — ядро; Ядр — ядрышко; ЯО — ядерная оболочка.

Результаты

Особенностью строения центрального цилиндра всасывающей зоны корня является чередующееся расположение ксилемы и флоэмы. Таким образом, сложная по своему строению флоэма, включающая разнообразные по структуре и функциональному назначению элементы, устраняется с пути массового тока в ксилему, что обеспечивает наилучшее осуществление водопроводящей функции. Ткань, расположенная между ксилемой и флоэмой, дифференцируется как паренхима. Клетки стелярной паренхимы (рис. 1) имеют вытянутую форму: длина их примерно в 1,5 раза больше, чем ширина. В сечении у них обычно 6—8 граней,

Рис. 1. Клетка стелярной паренхимы, густо заполненная цитоплазматическим содержимым (X7500).



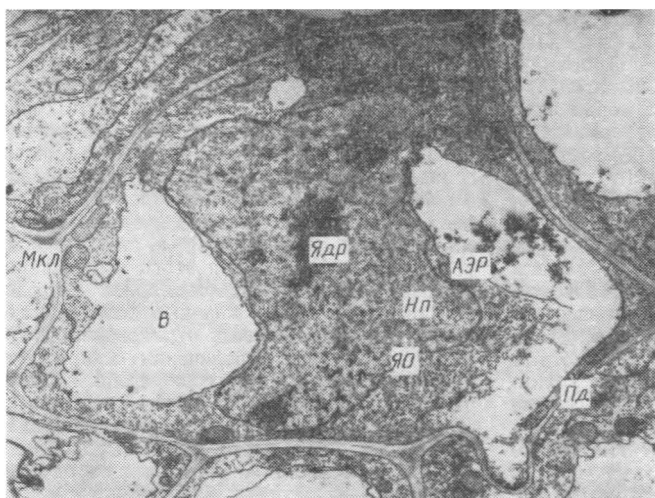


Рис. 2. Центральное положение ядра в клетке стелярной паренхимы (X7 500).

встречаются извилистые очертания клеточных стенок, что увеличивает контакт между клетками (рис. 2, 3). В клеточных стенках часто обнаруживаются плазмодесмы, связывающие паренхимные клетки друг с другом и с молодыми, не закончившими дифференциацию трахеальными элементами (рис. 2, 4). Характерной особенностью стелярной паренхимы, как уже отмечали многие авторы [2, 15], является слабое развитие межклетников (рис. 1, 2).

В отличие от перицикла, сохраняющего меристематические потенции, остальные клетки стелярной паренхимы характеризуются некою-

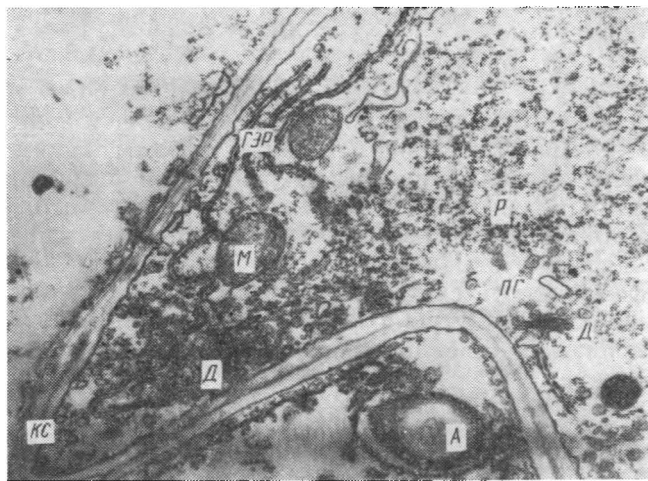
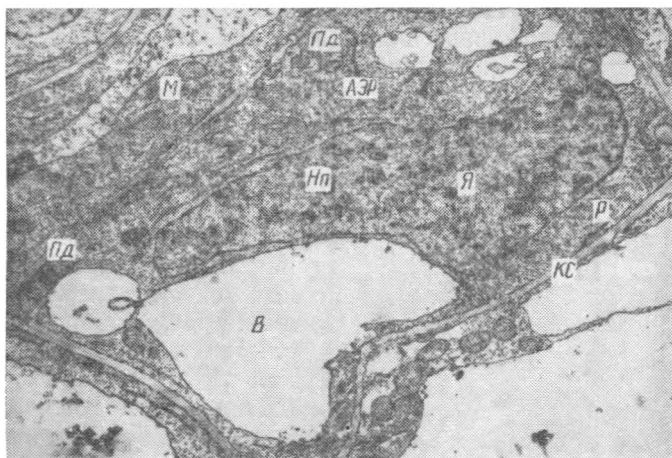


Рис. 3. Фрагмент клетки стелярной паренхимы, насыщенный мембранами гранулярного эндоплазматического ретикулума и диктиосом (X13 000).

рой вакуолизацией (рис. 1, 2, 4). Ядра имеют неправильную (рис. 2, 4), а иногда ярко выраженную лопастную форму (рис. 5), за счет чего значительно увеличивается поверхность ядра и усиливается контакт ядерной оболочки с цитоплазмой. Основной объем ядра занят мелкозернистой нуклеоплазмой (рис. 2, 4), ядрышко компактное, с более высокой электронной плотностью, чем ядро (рис. 2, 5).

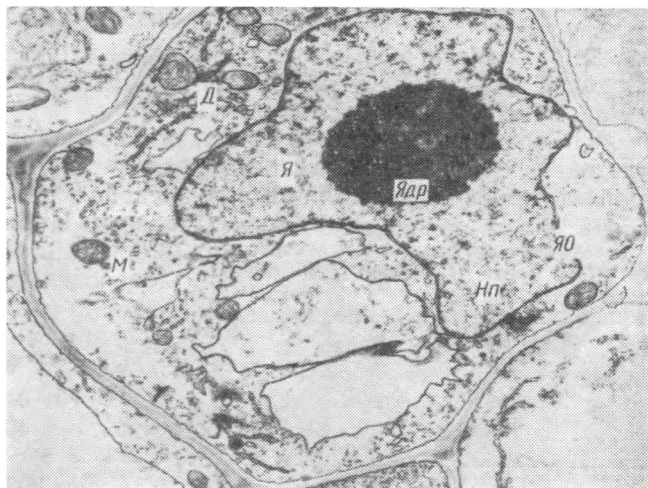
Клетки стелярной паренхимы имеют хорошо развитую мембранную систему: эндоплазматический ретикулум (рис. 1, 3, 4), диктиосомы (рис. 3, 5), богаты митохондриями (рис. 3—5). Эндоплазматический ретикулум, как правило, гранулярный (рис. 1, 3). Мембраны, образующие каналы, несут рибосомы и часто замкнуты на концах. Содержимое цистерн входит в контакт с содержимым перинуклеарного пространства, о чем свидетельствует часто встречаемая непрерывность ретикулярных мембран и наружной мембраны ядерной оболочки (рис. 2, 5). В таких

Рис. 4. Клетки стелярной паренхимы с ярко выраженной системой плазмодесм (8750).



случаях эндоплазматический ретикулум рассматривается как активная система синтеза и внутриклеточного транспорта. Сильное развитие у клеток стелярной паренхимы эндоплазматического ретикулума делает их сходными с клетками эпилемы и эндодермы, выполняющими проводящую функцию. Рибосомы в большом количестве заполняют все пространство между крупными органеллами (рис. 1, 3, 4).

Рис. 5. Ядро лопастной формы в клетке стелярной паренхимы (Х8750).



Митохондрии, достаточно крупные, морфологически хорошо дифференцированные, имеют развитую систему крист, свободно располагающихся в электронноплотном матриксе (рис. 3—5). В. Ф. Машанский [7] показал, что такие особенности ультраструктуры митохондрий прочно связаны с их высокой дыхательной активностью и обусловлены высокой степенью сопряжения окисления с фосфорилированием. Следовательно, можно предположить, что митохондрии стелярной паренхимы находятся в активном состоянии и способны поддерживать высокий энергетический уровень метаболических процессов. Это согласуется с данными Боулинга [17], полученными с помощью полярографической микроэлектродной техники, о наличии лишь очень небольшого градиента концентрации кислорода по радиусу корня подсолнечника. Леонард и Хотчис [20] обнаружили одинаковую активность катионспецифичной АТФ-азы в клетках коры и стелы. Все изложенное выше указывает на несостоятельность господствующих долгие годы представлений Крафта — Бройера [18] о пониженной метаболической активности стелярной

паренхимы. Наличие большого количества высокоструктурированных митохондрий, заполненных лейкопластов и хорошо развитого эндоплазматического ретикулума свидетельствует о высокой синтетической и секреторной функции стелярной паренхимы.

Одним из направлений электронно-микроскопических исследований является изучение ультраструктурных изменений в клетках при острых физиологических экспериментах, проводимых в целях активизации или

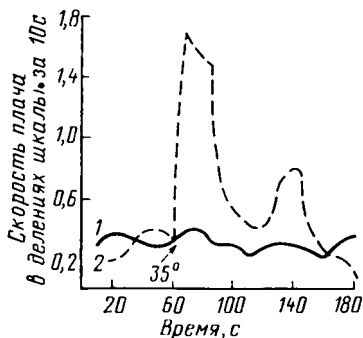


Рис. 6. Динамика плача в зависимости от температуры.

1 — контроль, без смены температуры; 2 — опыт, смена температуры 20 на 35 °С; стрелкой указано время смены температуры.

подавления той или иной функции. Это дает возможность изучать переходные состояния ультраструктуры, возникающие в клетках под влиянием воздействий на их функцию. Исходными для постановки наших опытов послужили предыдущие исследования [9], в которых установлено усиление нагнетательной деятельности корня, проявляющееся в увеличении скорости плача и возникновении ритмичности с коротким периодом при резком изменении температуры в корнеобитаемой среде с 20 до 35 °С. Было выявлено время наступления максимума и минимума плача в пределах периода, что позволяет изучать состояние клеток в определенные фазы ритма.

Как видно на рис. 6, скорость плача контрольных растений в течение 3 мин наблюдений оставалась примерно на одном уровне. В опытном варианте резкое повышение

температуры вызвало характерное скачкообразное увеличение скорости плача и затухающие ритмические колебания ее с периодом 1 мин, как это было уже отмечено ранее.

Площадь сечения всего корня, а также коры и стелы у контрольных растений на протяжении опыта практически не изменялась. Незначительные колебания находились в пределах ошибки определений (таблица).

Изменение площади сечения корня кукурузы сорта Одесская при резкой смене температуры (% к исходной)

| Время от начала воздействия, с | Весь корень | Кора | Центральный цилиндр |
|--------------------------------|-------------|-----------|---------------------|
| Контроль | | | |
| 10 | 99,5±1,0 | 99,3±0,8 | 101,6±2,8 |
| 50 | 99,3±0,8 | 98,0±2,5 | 98,0±2,4 |
| 70 | 101,6±2,8 | 102,3±3,9 | 102,7±2,8 |
| Опыт | | | |
| 10 | 69,0±9,3 | 69,0±6,8 | 84,0±10,0 |
| 50 | 97,6±3,9 | 99,0±12,0 | 97,0±1,1 |
| 70 | 92,4±5,6 | 91,8±8,6 | 98,2±10,0 |

в опытном варианте. Через 10 с после воздействия повышенной температурой площадь сечения корня и его частей значительно уменьшалась, в т. ч. площадь коры — на 31 %, центрального цилиндра — на 16%. По времени это уменьшение площади сечения корня совпадало с резким повышением скорости плача. Через 50 с после воздействия повышенной температурой размеры коры и центрального цилиндра снова увеличивались до исходных, а скорость плача снижалась до минимума (исходного уровня).

Через 70 с после смены температуры вновь наблюдалось увеличение скорости плача, которое, однако, было выражено значительно

слабее. Одновременно отмечалось некоторое уменьшение площади сечения корня в основном за счет уменьшения площади коры. Таким образом, в период максимума плача происходил интенсивный выброс воды в сосуды ксилемы и размеры клеток корня уменьшались, в то время как в период минимума они снова поглощали воду и увеличивались в размерах.

Как было установлено нами ранее [8], усиление плача при повышении температуры не связано с изменением осмотического потенциала

пасоки, а происходит вследствие повышения активной секреции воды клетками корня в сосуды ксилемы, что требует затрат энергии. На активный транспорт воды в корнях указывают и другие исследователи [3, 19].

В процессе активного нагнетания воды значительная роль принадлежит клеткам коры, которые в условиях наших опытов, как правило, сокращались и расслаблялись сильнее, чем клетки центрального цилиндра, как бы накачивая в него воду. Клетки центрального цилиндра со-



Рис. 7. Границы трех клеток коровой паренхимы после резкой смены температуры ($\times 20\,000$).

кращались меньше, что могло быть обусловлено большим притоком в них воды из клеток коры или, возможно, несовпадением максимумов сокращения клеток коры и клеток центрального цилиндра.

Как показали электронно-микроскопические исследования, уменьшение объема коры и центрального цилиндра через 10 с после резкого повышения температуры не сопровождалось отхождением плазмалеммы от клеточной стенки (рис. 7, 8). Таким образом, происходило общее

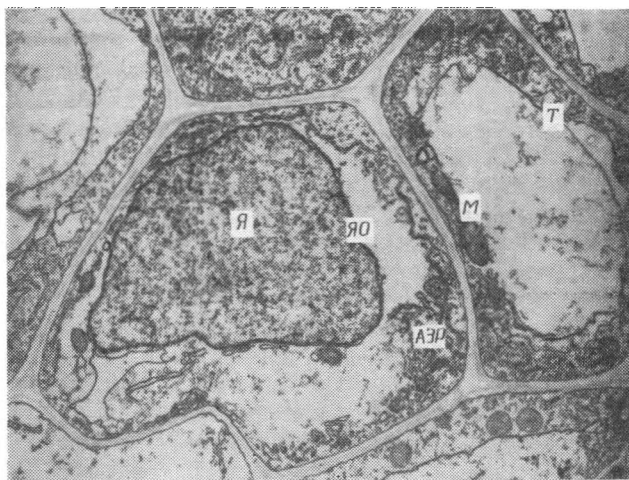


Рис. 8. Клетки стелярной паренхимы после резкой смены температуры ($\times 7500$).

сокращение объема клеток, сохранение в интактном состоянии системы плазмодесм и симпласта в целом. Можно предположить, что такое сокращение способствует проталкиванию воды и растворенных веществ в дифференцирующиеся сосуды, которые еще сохраняют живое содержимое и симпластную связь с окружающими клетками. Электронная плотность цитоплазмы несколько увеличилась (рис. 8, 9), тонопласт и дру-

гие мембранные образования приобрели более высокий контраст (рис. 7—9). Повышение температуры приводило к некоторому снижению электронной плотности матрикса митохондрий. На фотографиях хорошо видно, что различия в плотности между мембранами крист и окружающего их матрикса возросли. Увеличилось также количество светлых вакуолей, ограниченных мембранной, внутри митохондрий. Иногда наблюдалось отслаивание наружной мембраны оболочки с образованием светлых полостей в перимитохондриальном пространстве.

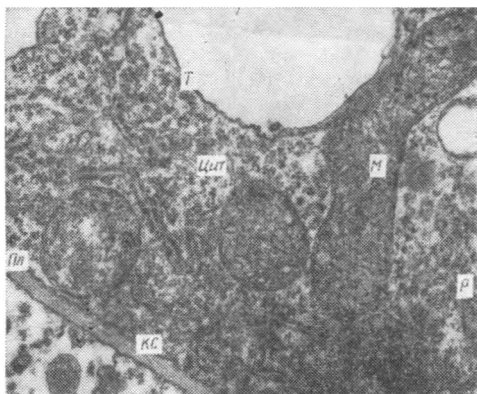


Рис. 9. Фрагмент клетки стелярной паренхимы со значительно увеличенной электронной плотностью цитоплазмы после резкой смены температуры (X 25 000).

Такое состояние митохондрий характеризует их высокую функциональную нагрузку и способность сохранять свой водный статус при снижении оводненности клетки в целом.

Проведенное электронно-микроскопическое исследование свидетельствует о достаточно высокой функциональной активности стелярной паренхимы в зоне корневых волосков. Загрузка ксилемы происходит, вероятно, в живые проводящие элементы, на что прежде всего указывают различия в скорости экссудации у различных зон корня. Максимальный перенос ионов и воды в транспортное русло происходит в кончиках корня, где трахеальные элементы сохраняют не только плазмалемму, но и тонопласт [21]. Лишь в более зрелых частях корня сосуды ксилемы теряют цитоплазматическое содержимое, обеспечивая тем самым высокие скорости водного тока.

Дифференциация клеток стелярной паренхимы сопровождается, по-видимому, усилением транспортной активности мембран и специализацией метаболизма, направленного на образование транспортных форм веществ. Все это обеспечивает паренхимным клеткам возможность осуществлять контроль за состоянием и уровнем подвижных соединений в транспортном канале. Роль мембран проводящих элементов заключается, вероятно, в удержании поступившего экссудата и ограничении пассивной утечки транспортируемых соединений. Кроме того, в растительном организме ксилема и флоэма объединены в одну транспортную систему. Важное значение в процессе перемещения веществ между проводящими элементами отводят так называемым передаточным клеткам [6, 24]. Возможно, что в центральном цилиндре корня эту функцию выполняют паренхимные клетки, хотя они и не имеют ярко выраженной морфологической специализации.

Выводы

1. Клетки стелярной паренхимы характеризуются наличием высокоструктурированных митохондрий с хорошо развитой системой крист и электронноплотным матриксом, насыщенностью гранулярным эндоплазматическим ретикулумом, диктиосомами, лейкопластами и рибосомами. Это свидетельствует о высокой синтетической и секреторной активности ткани.

2. Слабая вакуолизация стелярной паренхимы по сравнению с корой, тесный контакт плазмалеммы с клеточной стенкой и наличие многочисленных плазмодесм позволяют полагать, что основным транспортным руслом в центральном цилиндре корня является симпласт.

3. Резкое повышение температуры в корнеобитаемой среде приводит к усилению нагнетательной активности корня, что сопровождается уменьшением площади поперечного сечения коры и центрального цилиндра при сохранении в интактном состоянии плазмодесм и симпласта в целом. Характер изменений ультраструктуры клеток соответствует повышению функциональной нагрузки.

4. Результаты электронно-микроскопического исследования позволяют предполагать, что стелярная паренхима играет важную роль в транспортных процессах. Ее функция может заключаться в аккумуляции и первичной метаболизации транспортируемых веществ, активной секреции воды с растворенными веществами в дифференцирующиеся соуды, сохраняющие живое содержимое.

ЛИТЕРАТУРА

1. Вахмистров Д. Б. Ионный режим растений: эволюция проблемы. — Новые направления в физиологии растений. — М.: Наука, 1985, с. 214—230. — 2. Данилова М. Ф. Структурные основы поглощения веществ корнем. — Л.: Наука, 1974. — 3. Жолкевич В., Н. Транспорт воды в растении и его регуляция. — Регуляция водного обмена растений. — Киев: Наукова думка, 1984, с. 5—9. — 4. Курсанов А. Л. Транспорт ассимилятов в растении. — М.: Наука, 1976. — 5. Курсанов А. Л. Функциональная электронная микроскопия и ее задачи. — Ученый и аудитория. — М.: Наука, 1982, с. 65—78. — 6. Люттге У., Хиггинботам Н. Перемещение веществ в растениях. — М.: Колос, 1984. — 7. Машанский В. Ф. Субмикроскопическая организация митохондрий. — Цитология, 1964, вып. 6, № 3, с. 275—281. — 8. Можаяева Л. В., Пильщикова Н. В. О движущей силе плача растений. — Физиология растений, 1979, том 26, вып. 5, с. 994—1000. — 9. Можаяева Л. В., Пильщикова Н. В., Зайцева Н. В. Изучение сократительных свойств клеток корня в связи с ритмичностью плача растений. — Изв. ТСХА, 1975, вып. 1, с. 3—12. — 10. Пильщиков Ф. Н., Пильщикова Н. В. Ультраструктура сосущих корней яблони. — Изв. ТСХА, 1986, вып. 2, с. 117—128. — 11. Соколова С. В., Красавина М. С. Функциональные отношения клетки и тканей в проводящей системе растений. — Физиология растений, 1980, т. 27, вып. 5, с. 986—1004. — 12. Сытник К. М., Книга Н. М., Мусатенко Л. И. Физиология корня. — Киев: Наукова думка, 1972. — 13. Чугунова Т. В. Об активном участии паренхимных клеток в нагнетающей деятельности корневой системы. — Географ. аспекты реализации Прод. прогр. СССР / Тр. шк. семин. мол. ученых биол. фак. МГУ и Ин-та почвовед. и фотосинтеза АН СССР. Пущино, 10—14 нояб.; 1985. М.: Изд-во МГУ, 1986, с. 66—68. — 14. Уикли Б. Электронная микроскопия для начинающих. — М.: Мир, 1976. — 15. Эзау К. Анатомия семенных растений: В 2 т. — М.: Мир, 1980. — 16. Электронно-микроскопические методы исследования биологических объектов. — М.: Изд-во АН СССР, 1963. — 17. Bowling D. J. F. — *Planta*, 1973, vol. 111, p. 323—328. — 18. Crafts A. J. S., Broeyer T. C. — *Am. J. Bot.*, 1938, vol. 24, p. 415—431. — 19. Ginsburg H., Ginsburg B. — *The J. of Membrane Biology*, 1971, vol. 4, N 1, p. 29—41. — 20. Leonard R. T., Hotchkiss C. W. — *Plant Physiology*, 1978, vol. 61, p. 175—179. — 21. Lüttge U. — *Encyclop. Plant Physiol.*, 1983, vol. 15A, N 5, p. 181—211. — 22. Lüttge U., Laties G. G. — *Planta*, 1967, vol. 74, p. 173—187. — 23. Sauter J. J., Iten W., Zimmermann M. N. — *Canad. J. Bot.*, 1973, vol. 51, p. 1—8. — 24. Warmbrodt R. D. — *Amer. J. Bot.*, 1985, vol. 72, N 3, p. 414—433.

Статья поступила 22 июня 1987 г.

SUMMARY

Results of the research into ultrastructure of central cylinder parenchyma cells in the zone of root hairs of 5 days old corn shoots show high functional activity of stele parenchyma and of its symplastic connection with differentiating vessels. Higher pressing activity of the root caused by sharp temperature increase is accompanied by reduction of cortex cells and of central cylinder with preservation of plasmodesm system and higher structural arrangement of cytoplasm. Participation of stele parenchyma in active secretion of water and solved substances into xylem vessels is assumed.