

ВПЛИВ ОКСИДУ АЗОТУ ТА ХЛОРИДУ РТУТІ НА СТРУКТУРУ МЕЗОФІЛУ ЛИСТКІВ ЗА УМОВ ПРИРОДНОЇ ПОСУХИ

Ірина В. Жук * і Микола М. Мусієнко

Анотація. Встановлено, що в умовах природної посухи в центральній частині хлоропластів клітин мезофілу накопичувався крохмаль, а хлоропласти локалізувались по периферії клітини біля плазмалеми. Після обробки рослин пшениці донором оксиду азоту відзначено зменшення кількості відкладень крохмалю та тісні контакти між хлоропластами, видовжене ядро локалізувалось в центрі клітин. Після обробки рослин пшениці хлоридом ртуті хлоропласти в клітинах втрачали овальну форму та контакти, збільшувались відкладення крохмалю, що свідчило про прискорення старіння тканин. Таким чином, оксид азоту в умовах посухи зменшував деструктивну дію посухи на клітини листкового мезофілу, а хлорид ртуті спричиняв деформацію мембран клітини.

Ключові слова: *Triticum aestivum*, посуха, хлоропласт, оксид азоту, аквапорини, хлорид ртуті

Навчально-Науковий центр «Інститут біології» Київського національного університету імені Тараса Шевченка, вул. Володимирська, 64/13, Київ, 01601, Україна; * iren_zhuk@mail.ru

Вступ

Посуха є критичною детермінантою процесів росту та розвитку рослин (SARVARI & BOROS 2010). Встановлено, що у формуванні інтегральної відповіді рослини на посуху задіяні універсальні регуляторні системи, які беруть участь у формуванні відповіді на більшість типів абіотичних та біотичних стресів (КОЛУПАЕВ і КАРПЕЦ 2010, МУСІЄНКО і ЖУК 2009; DIETZ 2008; SCHASTMAN & GEODGER 2008). Оксид азоту (NO) розглядають як важливу регуляторну речовину, яка бере участь у регуляції руху клітин продохів, росту, реакції рослин на посуху.

Визначну роль в регуляції водного обміну відіграють аквапоринові водні канали (KALDENHOFF *et al.* 2000). Їх присутність в мембранах забезпечує високу швидкість току води, особливо в критичних за водопостачанням ситуаціях. Аквапорини чутливі до дії ртуті, яка зв'язує консервативні залишки цистеїну, спричиняє конформаційні зміни в аквапоринах і блокує прохід води каналом (LU & MAUREL 2005). Аквапорини сконцентровані в зонах поділу та розтягнення клітин і відіграють важливу роль в русі води між сусідніми клітинами в період проростання насіння. Показано, що ртуть блокує активність аквапоринів шляхом окиснення цистеїнових залишків всередині водної пори і змінює конформацію інших частин білка без впливу на інтегральність клітини. За умов посухи аквапорини допомагають рослинам підтримувати гомеостаз і водний баланс (KALDENHOFF *et al.* 2000). Аквапорини

включаються в регуляцію гідравлічного опору листків. Вважають, що аквапорини змінюють потік води в замикальні клітини продохів і таким чином регулюють рухи клітин продохів. Вважають, що рух води по аквапоринових каналах відіграє визначну роль у період колосіння рослин пшениці, а інгібування водного транспорту в цей період суттєво зменшує зернову продуктивність (LUU & MAUREL 2005). Чутливість аквапоринового водного транспорту до інгібіторів змінюється протягом онтогенезу рослин пшениці. Найвища активність аквапоринів у пшениці відзначена у період колосіння, однак найбільше поглинання води коренями виявлено у пшениці в період молочної стиглості зерна.

Матеріали і методи досліджень

Рослини ярої пшениці (*Triticum aestivum* L.) сорту «Недра» вирощували в умовах польового дослідження на ділянках дослідного господарства НАН України «Феофанія». Розміри облікової ділянки – 1 м², повторність дослідження чотириразова. Ґрунт дерново-підзолистий. Протягом періоду росту рослин температура повітря та ґрунту коливалась від +15-20°C в період виходу в трубку сходів і до +40°C в період колосіння-цвітіння та формування зернівок, а вологість ґрунту становила 65-70%, але у фазах цвітіння-формування зерна зменшувалась до 20-30% від повної вологості ґрунту. В умовах польового дослідження вивчали регуляторну роль NO та інгібітору аквапоринового водного

транспорту HgCl_2 в концентрації 0,5 мМ. Рослини дослідних варіантів обробляли донором NO – водним розчином нітропрусиду натрію шляхом обприскування листків у фазі виходу в трубку. Обробка рослин водним розчином HgCl_2 в концентрації 0,5 мМ також проводилась у фазі виходу в трубку. Електронно-мікроскопічні дослідження проводили за методом Рейнольда (Кордюм *и др.* 2003). Для префіксації матеріалу серединні вирізки листків поміщали у 2,5% розчин глютарового альдегіду на 0,1 М фосфатному буфері (pH=7,2). Фіксували зразки у 1% OsO_4 на аналогічному буфері. Нарізані на мікротомі LKB (Швеція) препарати контрастували двокомпонентним контрастером цитрату свинцю за Рейнольдом та аналізували в трансмісійному електронному мікроскопі JSM 1200 EX (Японія).

В період ґрунтової посухи проводили відбір листків і визначали структурну будову органел клітини.

Результати та їх обговорення

Встановлено, що хлоропласти в клітині розташовувались по периферії клітини і мали форму видовженого овалу (Рис. 1.). В центральній частині кожного хлоропласта локалізоване велике крохмальне зерно, яке містило електронно-щільний матеріал у своїй центральній частині. Біля хлоропласта розташовані мітохондрії, які оточені рибосомами. Хлоропласти мали правильну овальну форму. Мембранні структури хлоропластів були добре розвиненими і впорядкованими. Крохмальне зерно було розташоване в центрі хлоропласту.

Після обробки рослин пшениці донором NO у фазі виходу в трубку структура хлоропласту зазнала значних змін. Відбір листків для дослідження проводили у фазі молочної стиглості зерна. В хлоропласті утворилось кілька крохмальних зерен (Рис. 2). Центральна частина крохмальних зерен відзначалась високою електронною щільністю, але по периферії крохмальні зерна були прозорими. Крохмальні зерна утворювали овальні видовжені структури. В хлоропласті видно великі стопки тилакоїдів гран, які з'єднані міжгранальними тилакоїдами. Зовнішня оболонка хлоропласта утворює овальну структуру правильної форми. Поблизу стопок гран в хлоропластах

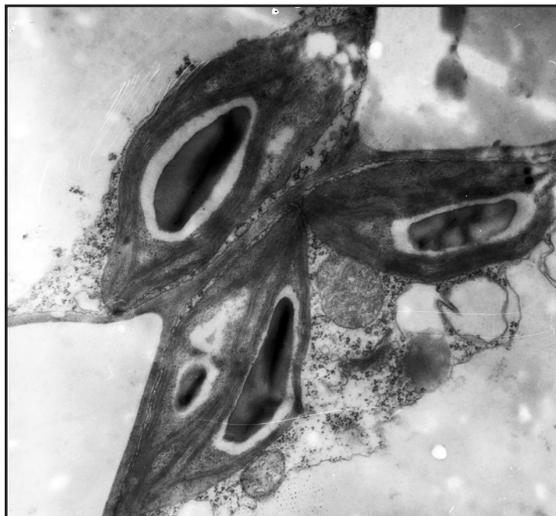


Рис. 1. Структура хлоропластів клітин мезофілу пшениці сорту «Недра» контрольного варіанту в умовах природної посухи (масштаб: 1 см = 500 нм).

Fig. 1. Chloroplast structure of mesophyll cells of spring wheat variety «Nedra» under nature drought conditions (scale: 1 cm = 500 μm).

розташовані краплини ліпідів. Структурна будова хлоропластів свідчить про їх високу функціональну здатність.

Хлоропласти за дії на рослини донора NO були локалізовані по периферії клітини поблизу клітинної оболонки. В кожному хлоропласті знайдено три і більше крохмальних зерен. Стопки тилакоїдів в хлоропластах розташовані по периферії хлоропласту та між крохмальними зернами і з'єднані довгими ламелами у видовжені структури, які об'єднані в єдину систему у хлоропласті. Найбільш щільні стопки тилакоїдів локалізовані на протилежних кінцях видовженого хлоропласту. Хлоропласти у клітині стикаються один з одним загостреними кінцями і утворюють структурний континуум. Видовжене ядро локалізоване вздовж великої вакуолі. В центрі ядра локалізоване щільне ядрце. В самій вакуолі видні кристалічні структури, які утворюють скупчення. Мембрана хлоропластів формує правильну подвійну структуру.

Для вивчення водного режиму рослин частина рослин пшениці сорту «Недра» була оброблена специфічним інгібітором аквапоринових водних каналів HgCl_2 у фазі виходу в трубку. Відбір прапорцевих листків для електронно-мікроскопічних досліджень проводили у фазі молочно-воскової стиглості.



Рис. 2. Структура хлоропластів клітин мезофілу прапорцевого листка ярої пшениці сорту «Недра» після обробки донором NO (масштаб: 1 см = 1 мкм).

Fig. 2. Chloroplast structure of mesophyll cells of spring wheat last leaf variety «Nedra» after donor NO treatment (scale: 1 cm = 1 μ m).



Рис. 3. Структура хлоропластів клітин листкового мезофілу пшениці сорту «Недра» після обробки рослин інгібітором аквапоринів – хлоридом ртуті (масштаб: 1 см = 1 мкм).

Fig. 3. Chloroplast structure of leaf mesophyll cells of spring wheat variety «Nedra» after plant treatment by aquaporin inhibitor – mercury chloride (scale: 1 cm = 1 μ m).

Дослідження показали, що обробка рослин суттєво змінила структурну організацію органел клітини (Рис. 3).

Після обробки листків пшениці сорту «Недра» інгібітором транспорту аквапоринів відзначено зміни в структурі хлоропластів. Овальна структура хлоропласту змінюється на неправильну. Великі крохмальні зерна містять електронно-прозорий матеріал в центральній частині, який ущільнюється в напрямку до їх периферії. Крохмальні зерна в хлоропластах часто мають неправильну форму і їх кількість може збільшуватись до шести-семи і більше, а їх розміри значно варіюють. Грани тилакоїдів утворюють менш щільні структури, які об'єднані міжгранальними талакоїдами. Частина хлоропластів змінює форму з овальної на округлу з неправильними вигинами поверхні. Мембрани хлоропластів мають численні ознаки дезінтеграції. В хлоропластах наявні стопки тилакоїдів, але вони значно менші за розмірами, ніж у хлоропластах клітин рослин контрольного варіанту. Окремі хлоропласти не контактують між собою і менш щільно, ніж у контролі, контактують з плазмалемою. Отже, дія інгібітора активності аквапоринів спричиняла деструкцію хлоропластів клітин листкового мезофілу.

Електронно-мікроскопічні дослідження показали, що в умовах посухи відбувається накопичення крохмалю в хлоропластах, яке свідчить про зменшення відтоку фотоасимілятів від листків до атрагуючих органів – зернівок. Це не можна віднести до деструктивних змін, тому що вони зворотні у разі покращення водозабезпечення рослин, яке сприяє утилізації фотоасимілятів. Було виявлено, що грани в хлоропластах за дії посухи були стиснуті між крохмальними зернами. Регуляторна дія NO проявилась у збільшенні кількості крохмальних зерен за відсутності деструктивних змін, які негативно впливали б на функціонування хлоропласту. Дія важкого металу ртуті спричиняла деструкцію хлоропласту, яка призводила до деформації фотосинтетичних структур, зовнішньої оболонки, порушувала контакти між хлоропластами, зменшувала функціональну здатність клітин мезофілу.

Хлоропласт, як одна з найважливіших енергоутворюючих органел рослинної клітини, бере участь в багатьох метаболічних реакціях і характеризується адаптивною мінливістю.

У клітинах мезофілу кількість хлоропластів, їх розміри і субмікроскопічна організація залишаються практично незмінними впродовж всього вегетаційного періоду, однак екзогенна дія фізіологічно активних речовин може суттєво змінити структуру хлоропластів, що безпосередньо впливає на їх функції.

Використані джерела

КОЛУПАЕВ Ю.Е. и КАРПЕЦ Ю.В. 2010. Формирование адаптивных реакций растений на действие абиотических стрессоров. Основа, Киев.

КОРДЮМ Е.Л., СЫТНИК К.М., КЛИМЧУК Д.А. и др. 2003. Клеточные механизмы адаптации растений к неблагоприятным воздействиям экологических факторов в естественных условиях. Наукова думка, Киев.

МУСІЄНКО М.М. і ЖУК І.В. 2009. Молекулярні механізми індукції захисних реакцій рослин в умовах посухи. *Укр. ботан. журн.* 66 (4): 580–595.

DIETZ K.-J. 2008. Redox signal integration: from stimulus to networks and genes. *Physiol. Plantarum* 133 (3): 459–468.

KALDENHOFF R., RIBAS-CARBO M., SANS J.F. et al. 2000. Aquaporins and plant water balance. *Plant Cell Environ.* 31 (3): 658–666.

LU D.T. & MAUREL C. 2005. Aquaporins in a challenging environment: molecular gears for adjusting plant water status. *Plant Cell Environ.* 28 (1): 85–96.

SARVARI M. & BOROS B. 2010. The impact of climate on crop production. *Агроекологічний журнал* 2: 53–58.

SCHACTMAN P.J. & GEODGER Q.D. 2008. Chemical root to shoot signaling under drought. *Trends Plant Sci.* 13 (6): 281–287.

THE INFLUENCE OF NITRIC OXIDE AND MERCURY CHLORIDE ON LEAF MESOPHYLL STRUCTURE UNDER NATURAL DROUGHT CONDITIONS

IRYNA V. ZHUK * & MYKOLA M. MUSIYENKO

Abstract. It is established that under natural drought conditions starch was accumulated in the central part of chloroplasts of mesophyll cells and chloroplasts were localized on the periphery of cells at plasmalemma. After treatment wheat plants by nitric oxide donor the decreasing of starch deposits number and close contacts between chloroplasts were indicated, elongated nucleus was localized in the centre of cells. After treatment wheat plant by mercury chloride chloroplasts in the cells lost their oval shape and contacts, increased eventually deposition of starch, indicating the acceleration of aging tissues. Thus, nitric oxide in drought conditions reduced the destructive effect of drought on mesophyll cells, and mercury chloride caused deformation of the membrane cell.

Key words: *Triticum aestivum*, drought, chloroplast, nitric oxide, aquaporins, mercury chloride

Educational and Scientific Centre «Institute of Biology» Taras Shevchenko Kyiv National University, Volodymyrska Str, 64/13, Kyiv, 01601, Ukraine; * iren_zhuk@mail.ru