

УДК 631.11: 631.529.144.4:581.8

ИЗМЕНЕНИЕ АРХИТЕКТониКИ КЛЕТОК МЕЗОФИЛЛА В ПРОЦЕССЕ ФОРМИРОВАНИЯ ЛИСТОВОЙ ПЛАСТИНКИ ПШЕНИЦЫ

¹В.А. Спивак, ²Е.В. Гулина

¹*Саратовский государственный университет им. Н. Г. Чернышевского, г. Саратов*

²*Саратовский государственный аграрный университет им. Н. И. Вавилова, г. Саратов*

Построение анатомической структуры в ходе развития биосистемы зависит от механических сил, которые генерируются организующими её клетками. Направленность и величина этих сил – факторы, изменяющиеся в онтогенезе под действием условий среды и способные оказывать влияние на морфогенез клетки. Онтогенез листа складывается из ряда этапов: 1) образования листового бугорка в основании конуса нарастания; 2) роста листового бугорка в трёх направлениях – высоту, ширину, толщину; 3) роста листового примордия; 4) роста листовой пластинки и влагалища; 5) разрастания частей листа до конечных размеров и дифференциации их анатомической структуры (Серебряков, 1952).

Рост злаков своеобразен. Растениям этого семейства свойственен особый, интеркалярный или вставочный, способ роста. Специфика данного роста листа злаков заключается в том, что « в начале меристематическая активность оси листа концентрируется на верхушке. Позднее она распространяется повсюду; иными словами, апикальный рост сопровождается интеркалярным» (Эсау, 1969). Расположенные по окружности стебля, меристематические клетки основания листового примордия злаков строго ориентируют направленность роста формирующихся клеток мезофилла относительно продольной оси листовой пластинки. Кроме того, рост листовой пластинки – процесс ритмичный, характеризующийся спадами и подъёмами ростовой активности (Францева, Гулина, Быховцев и др., 2002), которые четко выделяются морфологически у некоторых видов злаков (Тугаюк, 1972).

В настоящее время возникла непростая ситуация относительно вопроса становления архитектоники листа: известно – из каких клеток формируются его структуры, какие клетки представляют ту или иную структуру и очень мало данных, касающихся самого принципа создания внутренней конструкции листа. Наличие ограниченного числа форм клеток в листовом примордии (Ростовцева, 1984) и многообразии морфологических типов клеток в хлоренхиме дифференцированного листа (Березина, Корчагин, 1987) означает, что именно в промежутке между этими временными состояниями происходит направленное морфогенетическое изменение клеток, которые в дальнейшем составят хлоренхиму и определяют внутреннюю структуру листовой пластинки.

Цель нашей работы заключалась в изучении изменения архитектоники клеток мезофилла в процессе роста и развития листовой пластинки листа пшеницы.

Материал и методика

В качестве модельного объекта исследования был выбран первый лист проростков *Triticum aestivum* L. (сорт Саратовская 36) и *Triticum monocooccum* L. (линия 30090). Эти виды пшениц с фестукоидным типом анатомического строения листьев различаются особенностями проявления физиологических функций – активностью фотосинтеза, устойчивостью хлоропластов проростков к темноте, реакцией на изменение светового режима (Зеленский, 1995), суммарной внутренней ассимиляционной поверхностью клеток (Храмцова, Киселева И.С., 2003). Кроме того, изучаемые нами виды используют разные стратегии развития, на это указывает существование отрицательной корреляционной зависимости между площадью листьев и интенсивностью фотосинтеза у видов пшеницы разной ploидности (Зеленский, 1995).

Опытные растения *Tr. aestivum* выращивали в лабораторных условиях при 12-ти часовом фотопериоде в двух вариантах: I вариант – проростки культивировали в чашках Петри на фильтровальных дисках и дистиллированной воде при освещенности 2500 лк, что соответствует фотосинтетическому насыщению; II – вариант – проростки выращивали в растильнях на почвенном субстрате при отсутствии фотосинтетического насыщения с освещенностью в 570 лк.

Температура окружающей среды составляла $24 \pm 1^\circ\text{C}$.

Морфологический анализ состояния клеток мезофилла у обоих видов пшеницы проводили на листовых пластинках различного возраста: в начале разворачивания листовой пластинки и по окончании её разворачивания, то есть в момент отгиба. Листовые пластинки, не закончившие рост, отбирали с растений первого варианта, а завершившие рост – со второго варианта.

Морфометрический анализ проводили на клетках мезофилла *Tr. aestivum*. Листовые пластинки опытных растений измеряли, затем делили на шесть равных фрагментов, которые мацерировали по способу Манжена (Прозина, 1964). Клетки мезофилла в мацерированных тканях отделяли друг от друга и готовили временные препараты. Для анализа особенностей становления архитектоники трёх- и пятичлестных клеток мы использовали предложенные ранее (Брезина, Корчагин, 1987) параметры: длину, высоту и их соотношение.

На рисунке и в таблице цифрой 1 обозначены апикальные фрагменты листовых пластинок, а цифрой 6 – базальные.

Повторность опыта 10-ти кратная. Измерения осуществляли под микроскопом с помощью окуляр - микрометра $\text{MOB} \times 1-15^\times$.

Результаты и обсуждение

Первые листья для анализа отбирали в момент, когда конус нарастания растений находился в начале и конце пятого пластохрона, что морфологически соответствовало разворачиванию и отгибу листовой пластинки, соответственно. Данный лист выбран неслучайно - селекция пшеницы меньше всего коснулась этого органа, и он почти не изменился относительно исходных

родительских форм (Кумаков, 1980). К тому же формирование первого листа в меньшей степени зависит от активности фотосинтеза, так как, в отличие от последующих листьев, происходит при гетеротрофном типе питания.

В результате сравнительного анализа длины листьев у исследуемых растений установили, что в условиях освещенности в 2500 лк длина листовой пластинки *Tr. aestivum* достигала 8,96 см, а у *Tr. monococtum* – 10,22 см. Этот факт можно объяснить тем, что при данном уровне освещения теневыносливая мягкая пшеница раньше заканчивала рост, чем светолюбивая однозернянка. Более того, при меньшем весе зерновки вес зародыша *Tr. monococtum* превосходил зародыш *Tr. aestivum* и составлял $14,17 \cdot 10^{-4}$ г, против $9,7 \cdot 10^{-4}$ г, соответственно. Это определяется большими размерами базальной части зародыша – корешка с колеоризой. Так, длина зародышевого корешка от основания эпибласта до терминальной части составляла у *Tr. monococtum* – 643,6 мкм, у *Tr. aestivum* – 501,0 мкм, а с колеоризой – 1169,0 и 676,4 мкм, соответственно. Представленные данные могут служить доказательством существования различий в стратегиях развития исследуемых видов пшеницы, которые проявляются у растений уже на стадии зародыша.

Сложность изучения листа злаков заключается в том, что его рост – интегральный процесс, складывающийся из нескольких периодов: 1) скрытого роста; 2) видимого роста; 3) вставочного роста. При переходе от скрытого к видимому росту происходит изменение пространственного положения листовой пластинки с вертикального на горизонтальное. Перечисленные особенности в развитии листа злака приводят к тому, что активность процесса дифференциации по всей длине листовой пластинки неодинакова: она снижается от её верхушки к основанию. При вставочном росте ткани листа, расположенные в его базальной части, продолжают расти, причем по морфологии клеток они не тождественны клеткам тканей, которые находятся в апикальной части листовой пластинки. Окончательно форма определяется условиями среды, складывающимися во время роста листа. К тому же, формирующиеся клетки мезофилла при росте листовой пластинки в длину испытывают нарастающее действие физических сил на сжатие с её апикальной и базальной стороны.

На начальных этапах видимого роста наряду с развитием тканевых структур продолжается становление физиологических функций. Листовые пластинки, которые вышли из колеоптиля и начали разворачиваться в апикальной части, были отобраны нами для морфогенетического анализа состояния клеток мезофилла. Во всех шести исследуемых фрагментах листовой пластинки встречались клетки мезофилла со складками, или ячеистые (Березина, Корчагин, 1987). По очертаниям эти клетки у исследуемых видов пшеницы мало различались. Тем не менее, особенностью мезофилла *Tr. aestivum* следует считать преобладание во всех выделенных фрагментах четырёх- и пятиячеистых клеток, у *Tr. monococtum* – двух- и трёхячеистых.

Ввиду отсутствия сведений о распределении в мезофилле клеток с разным количеством ячеек по клеточным слоям, мы провели морфометрический анализ трёх- и пятиячеистых клеток, ориентируясь на

частоту их встречаемости у *Tr. aestivum*, на всем протяжении формирующейся листовой пластинки.

Нами установлено, что в развертывающейся листовой пластинке пшеницы, выращенной при освещенности 2500 лк, клетки с меньшим числом ячеек (рис. 1а) всегда имели большую (1, 3, 5, 6 отрезки) или равную (2, 4 отрезки) высоту с пятиячейстыми клетками. Причем в среднем (четвертый) и базальном (шестом) фрагментах листовой пластинки высота этих клеток была меньше, чем в других. Это свидетельствует о том, что рост клеток в высоту процесс периодичный, не зависящий от числа ячеек в клетке. Особенно четко данный факт выявляется при анализе изменения длин указанных клеток. На диаграмме видно, что по этому параметру клетки базальной части уступали верхушечным более чем на 30%, по высоте различия составляли около 20%. Следовательно, рост клеток в высоту завершается раньше, чем в длину. Такая направленность роста клеток должна способствовать раннему установлению размера толщины и ширины листовой пластинки, обеспечивая прочность конструкции всей структуры. Достаточно близкие значения высоты клеток во всех фрагментах (кроме шестого) позволяют заключить, что ограниченность толщины листовой пластинки будет определяться степенью развития проводящих пучков и эпидермиса. Так как в свернутой листовой пластинке в период роста листа вдоль центральной оси побега включаются механизмы дифференциации клеток, выполняющих несущую функцию.

Морфометрическое состояние клеток мезофилла листа, полностью сформировавшегося при освещенности 570 лк (рис. 1б), заметно отличается от предыдущего варианта. Так, ячеистые клетки по размеру четко разделились на две группы, в каждую из которых вошло равное количество фрагментов. Рост и дифференцировка клеток этих групп происходили в разных условиях освещения, питания, водообеспечения и механической нагрузки, что не могло не отразиться на их размерах.

Клетки нижней части листа, включающей четвертый, пятый, шестой фрагменты, независимо от количества ячеек, обладали большими размерами. Так, пятиячейстые клетки по длине превышали такие же клетки верхней половины листовой пластинки на 40%, а трёх-ячейстые - почти на 30%. Для высоты наблюдалась аналогичная тенденция, но с меньшей разностью значений: пятиячейстые клетки нижней части листовой пластинки превышали по этому показателю клетки верхней части на 27-35%, а трёхячейстые клетки имеют либо равные, либо большие размеры (~ на 20%).

При рассмотрении изменчивости формы клеток по длине листовой пластинки мы установили (табл. 1), что в растущем листе, у которого начала развертываться верхушка листовой пластинки, а базальная часть находилась в трубке, трёхячейстые клетки в трех из шести фрагментах имели укороченную прозенхимную форму, в то время как в базальном фрагменте - паренхимную. Пятиячейстые клетки во всех фрагментах листовой пластинки были прозенхимными. Удлиненность клеток снижалась от верхушки листа к его основанию.

В закончившей рост листовой пластинке клетки мезофилла отличались распределением форм по фрагментам. Прежде всего, среди трёхячейстых клеток паренхимными клетки находились в апикальном фрагменте с коэффициентом равным 1,83 (табл.). Во всех последующих фрагментах наблюдалось четкое последовательное увеличение значения данного коэффициента, что свидетельствует об удлинении клеток. Пятиячейстые клетки на данном этапе развития листа распределились по участкам листовой пластинки особым образом: фрагменты с менее вытянутыми клетками (1, 3, 5) чередуются с фрагментами, в которых клетки более вытянуты (2, 4, 6).

Изменение соотношений длины и высоты клеток ассимиляционной паренхимы в процессе формирования листовой пластинки первого листа *Tr. aestivum*

Тип клеток	Фрагменты листовой пластинки					
	1*	2	3	4	5	6
Развертывающаяся листовая пластинка, 2500 лк						
Трёх-ячейстые клетки	2,19	2,05	2,27	2,13	2,28	1,53
Пяти-ячейстые клетки	4,19	3,46	3,74	3,65	3,32	3,13
Отгнувшаяся листовая пластинка, 570 лк						
Трёх-ячейстые клетки	1,83	2,27	2,31	2,54	2,50	2,70
Пяти-ячейстые клетки	3,71	4,72	3,74	4,49	3,77	4,19

Примечание: 1* - обозначение см. в разделе «Материал и методика»

Установленная особенность распределения клеток, различающихся архитектурой, указывает на то, что в процессе развития листа клетки приобретают форму, соответствующую механической нагрузке, испытываемой хлоренхимой в различных фрагментах листовой пластинки.

Исследуемые нами ячейстые клетки пшеницы можно анализировать, пользуясь языком классической механики, как самостоятельные конструкции, созданные из эластичного материала, и представляющие собой мягкие оболочки. В частности осесимметричный цилиндр или, точнее, подкрепленную одноосную цилиндрическую оболочку (Алексеев, 1967). Подкрепление цилиндра становится необходимым в том случае, когда прочность конструкции ткани оказывается недостаточной, что имеет место при значительных размерах оболочек или при высоком давлении в них. Подкрепляющие элементы (в клетках это складки) мягких оболочек выполняют двойную функцию. Во-первых, они непосредственно разгружают ткань, воспринимая на себя значительную часть нагрузки от внутреннего давления. Во-вторых, обеспечивая

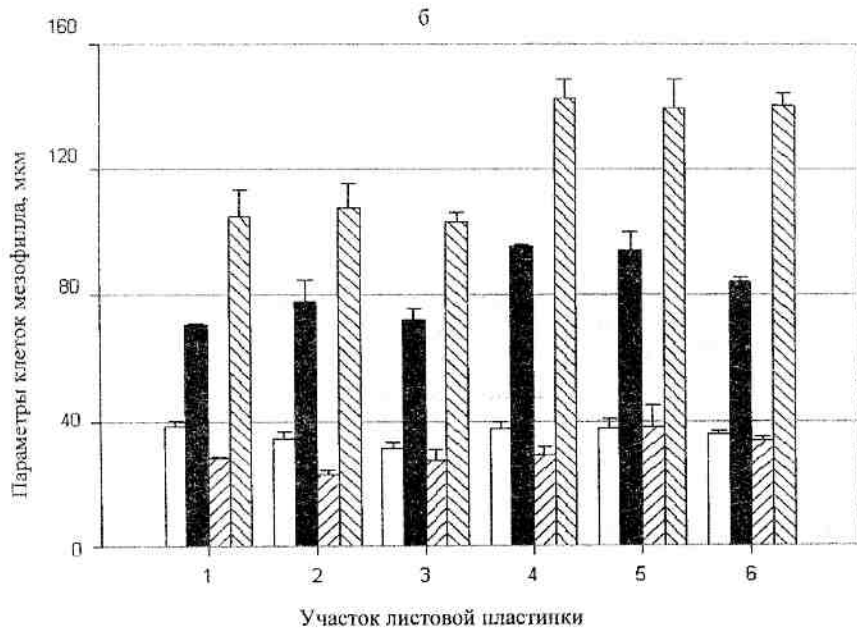
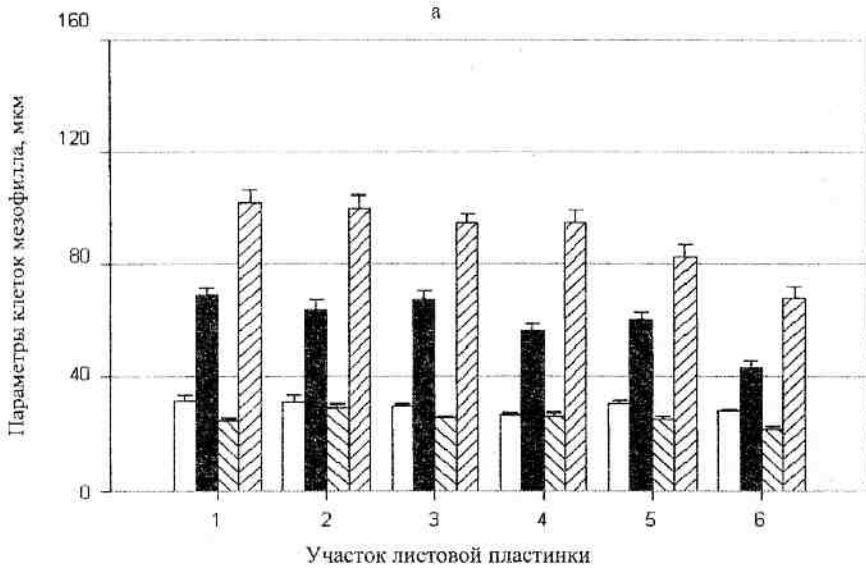


Рис.1 Изменение параметров клеток мезофилла в процессе роста первого листа *Tr. aestivum*: а – развёртывающаяся листовая пластинка, при освещенности 2500 лк; б – отогнувшаяся листовая пластинка, при освещенности 570 лк.

высота трёхячейстых клеток;
 длина трёхячейстых клеток;
 высота пятиячейстых клеток;
 длина пятиячейстых клеток.

одноосность напряженного состояния, приводят к дополнительному увеличению прочности конструкции.

Выше изложенное позволяет выделить два важных момента в развитии анатомической организации клеток мезофилла листа пшеницы: 1) скрытый рост, во время которого структура не испытывает больших напряжений со стороны внешних и внутренних факторов. Об этом свидетельствует отсутствие складок у клеток мезофилла, минимальное количество проводящих пучков и склеренхимных тяжей в листе (Серебрякова, 1971); 2) переход к открытому и собственно видимому росту, который сопровождается не только увеличением развития механических и проводящих тканей, но и существенным изменением архитектоники клеток ассимилирующей паренхимы. Недостаток воды и более высокая освещенность верхней части листовой пластинки в начале её развития приводят к тому, что в верхней половине листовой пластинки формируются близкие по размерам клетки. Клетки нижней части листовой пластинки, напротив, развиваются в условиях большей водообеспеченности и низкой освещенности. Поэтому при сравнении размеров клеток мезофилла в листовой пластинке можно заключить, что в верхней части листа хлоренхима формируется за счет большего числа клеток, а в нижней – за счет увеличения их размеров.

Таким образом, на основании проведенного анализа изменений архитектоники клеток мезофилла, можно заключить, что в процессе развития листа, происходят преобразования в конструкции клеток, направленные на усиление прочности их оболочек, тем самым создавая определенную гармонию между структурой клетки и физиологическими функциями.

Выводы

1. При формировании мезофилла на уровне клетки происходит смена направленности ростовой активности: сначала у неё доминирует рост в высоту, затем в длину.
2. По числу и размерам клеток листовая пластинка не является однообразно организованной структурой: начиная от верхушки, её фрагменты, по мере изменения нагрузки на клетки, сначала строятся за счет количества клеток, а затем (в базипитальном направлении) за счет их размеров, но при меньшем числе.

Литература

- Алексеев С.А. Основы теории мягких осесимметричных оболочек // Расчет пространственных конструкций. М., 1967. Вып. 11. С. 5-37.
- Березина О.В., Корчагин Ю.Ю. К методике оценки мезоструктуры листа видов рода *Triticum* L. (Poaceae) в связи с особенностями строения его хлорофиллоносных клеток // Бот. журн. 1987. Т. 72. № 4. С. 535-540.
- Зеленский М. И. Фотосинтетические характеристики важнейших сельскохозяйственных культур // Физиологические основы селекции растений/ Под ред. Г. В. Удовенко (Теоретические основы селекции растений. Т. II). Санкт-Петербург, 1995. С. 466-545.

- Кумаков В.А. Физиология яровой пшеницы. М., 1980. 297 с.
 Прозина М.Н. Ботаническая микротехника. М., 1960. 205 с.
 Ростовцева З.П. Рост и дифференцировка органов растения. М., 1983. 153 с.
 Серебряков И.Г. Морфология вегетативных органов высших растений. М., 1954. 390 с.
 Серебрякова Т.И. Морфогенез побегов и эволюция жизненных форм злаков. М., 1971. 360 с.
 Тутаюк В.Х. Анатомия и морфология растений. М., 1972. 336 с.
 Францева О.В., Гулина Е.В., Быховцев Б.Г., Спивак В.А. Особенности роста листа пшеницы под действием внешних факторов // Бюлл. Бот. сада СГУ. Саратов. 2001. Вып. 1. С. 138-143.
 Храмцова Е.В., Киселева И.С. Изменение структуры мезофилла листа злаков в связи с их окультуриванием и повышением продуктивности // V Съезд о-ва физиологов России. Междунар. конф. « Физиология растений – основа фотобиотехнологии». Тез. докл. Пенза, 2003. С. 229-230.
 Эсау К. Анатомия растений. М., 1969. 564 с.

УДК 581.1

АНАТОМО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ СТРОЕНИЯ ЛИСТЬЕВ
 БЕРЕЗЫ ПОВИСЛОЙ (*BETULA PENDULA* ROTH.),
 ПРОИЗРАСТАЮЩЕЙ В ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ
 ЛЕСОРАСТИТЕЛЬНЫХ УСЛОВИЯХ

Н.Н. Егорова, А.А. Кулагин
 Институт биологии УИЦ РАН, г. Уфа

В связи с увеличивающимся объемом вводимых в строй промышленных предприятий, с возрастающим количеством вовлекаемых в технологические процессы различных металлов, а также несовершенством используемых технологий производств, актуальной остается проблема загрязнения окружающей среды. Техногенное загрязнение наряду с природными явлениями нередко выступает в роли экстремального фактора окружающей среды, способствующего снижению эффективности регуляторных механизмов стабильности развития организма, что в свою очередь способствует появлению отклонений в морфологических признаках отдельных особей (Шмальгаузен, 1982).

Материал и методика

Целью нашей работы являлось изучение особенностей анатомических изменений тканей ассимиляционного аппарата березы повислой (*Betula pendula* Roth.) в течение вегетационного периода при произрастании в экстремальных условиях. Для этого образцы листьев отбирали на пяти пробных площадях: 1 – отвалы Башкирского медно-серного комбината (г. Сибай), 2 – отвалы Учалинского горно-обогатительного комбината, 3 – отвалы Кумертауского бурогоугольного разреза, 4 – зона промышленных предприятий г.Стерлитамака, 5