



УДК 581.331+581.162.4:572.226

© 2012

Е. А. Кравец, В. В. Бережная, В. И. Сакада, Н. М. Рашидов,
академик НАН Украины **Д. М. Гродзинский**

Изменения архитектоники апикальной меристемы корня при радиационном мутагенезе

Острое облучение индуцирует в меристеме корня проростков гороха возрастание гетерогенности клеточных популяций, вакуолизацию и паренхиматизацию отдельных клеток и полициотов. Степень нарушения топологии клеточных рядов коррелирует с дозой облучения. Пропорционально дозе облучения сокращаются размеры меристемы, возрастает частота инактивации клеток и деформаций клеточных рядов, изменяется порядок клеткообразования и линейность расположения клеток внутри пакетов. При 33%-й частоте аберрантных анафаз (ЧАА) структурная архитектура меристемы деформируется, но все же сохраняется. По достижении 50% ЧАА топология клеточных рядов и зональность апекса разрушаются, а размеры меристемы сокращаются до “критического” уровня.

Организации, классификации типов апикальной меристемы корня и происхождению первичных тканей корня посвящена обширная литература [1–6]. Показано, что апикальной меристеме свойственна строгая упорядоченность рядов меристематических клеток, берущих начало от инициальных клеток. В зависимости от характера пространственных отношений между этими группами клеток и происхождением первичных тканей корня выделяют открытый и закрытый типы апикальной меристемы [1–4]. Меристема и первичные ткани корневого апекса устроены по модульному типу — в них прослеживаются повторяющиеся модульные единицы, отражающие ритмы пролиферации [4–7]. В норме в меристеме пролиферируют все клетки, но с разной скоростью. Радиационному повреждению наиболее подвержены активно пролиферирующие клетки, причем их радиочувствительность определяется фазой клеточного цикла. Продолжительность клеточного цикла клеток в меристеме варьирует, обеспечивая асинхронность митозов, что лежит в основе ее радиоустойчивости [8–10]. В меристеме существует система межклеточных взаимодействий, основанная на сочетании симпластического и интрузивного роста клеток, которая определяет образование и поддержание ее структурной архитектоники [10, 11]. При такой топологии должны су-

ществовать гибкие механизмы замены отдельных клеток и клеточных клонов с сохранением архитектоники ткани при ее повреждении. Однако эти вопросы до сих пор еще не изучены. Мало что известно о дозовой зависимости характера повреждений меристемы, “критичности” уровня повреждения, при котором топология рядов меристемы еще сохраняется как неразрывная система. Целью проведенного исследования было изучение изменений в структурной архитектонике меристемы в связи с количественной оценкой радиационного хромосомного мутагенеза.

Материал и методы. В качестве объекта исследования использовались проростки гороха (*Pisum sativum* L.) сорта Комелот. Трехсуточные проростки облучали на рентгеновской установке РУМ-17 ($I = 10$ А; $U = 200$ кэВ) в дозах 4, 6, 8 и 10 Гр. Анализ меристемы проводили через 48 и 72 ч после облучения. Оценивали частоту аберрантных ана-телофаз (ЧАА), площадь клеток в дистальной меристеме и периблеме. Объем выборки составлял 15–17 корешков, для определения площади клеток — 60–70 клеток на вариант, для анализа топологии — по 4 корешка на вариант. Препараты изготавливали согласно стандартной цитологической методике: для подсчета аберраций — давленные ацетокарминовые препараты; анализа топологии меристемы — полутонкие срезы из смеси эпоксидных смол, подкрашенные метиленовой синью или с помощью ШИК-реакции [12]. Площадь клеток определяли на постоянных препаратах с помощью функций программы Image. Материал статистически обработан с использованием Microsoft Excel.

Результаты исследования и их обсуждение. Дозовые зависимости частоты хромосомных аберраций в меристеме корня через 48 ч после облучения в диапазоне от 4 до 10 Гр характеризуются порогом и плато в области 4–8 Гр. Пороговый уровень повреждений составлял для данного генотипа 27% аберрантных анафаз, а в диапазоне плато он поднимался до 33%. При 10 Гр дозовая кривая формировала экспоненту, обусловленную вовлечением в мутационный процесс большого числа новых клеток.

В контроле проксимальная меристема и зона растяжения структурно четко организованы в виде параллельных клеточных рядов (рис. 1, а). Структурная архитектоника периблемы (предшественницы первичной коры) прослеживается в виде клеточных пакетов, количество клеток в которых составляет 2–4–8–16–32, в зависимости от числа делений (рис. 2, а). Число клеток в продольных рядах до перехода в зону растяжения колеблется в пределах 120–150. Внутри пакетов происходят симметричные поперечные деления, которые иногда дополняются тангентальными, образующими дополнительные ряды клеток. Топология рядов переходной зоны более упорядочена, возможно потому, что при переходе к растяжению клеточные ряды занимают фиксированное положение.

Острое облучение индуцирует в меристеме возрастание ЧАА, гетерогенность клеточных популяций и рядов, раннюю вакуолизацию и паренхиматизацию отдельных клеток и полицитов (см. рис. 1). Степень нарушения топологии клеточных рядов обычно коррелирует с дозой облучения. Изменяется порядок клеткообразования, симметричность митозов и линейность расположения клеток внутри пакетов. Пропорционально дозе облучения сокращаются размеры меристемы, возрастает частота инактивации клеток и деформаций клеточных рядов основной меристемы и зоны растяжения.

При облучении в 4 и 6 Гр возрастает гетерогенность меристемы, часть гистогенов увеличиваются, вакуолизируются и выходят из клеточного цикла (см. рис. 1, б, в; 2, б). Площадь клеток в дистальной меристеме возрастает в 1,5–2 раза (по отношению к контролю), варьирование этого показателя — в 2–3 раза, среди гистогенов первичной коры размеры клеток увеличиваются в 1,6–2,5 раза, а их варьирование — в 1,5 раза. Возрастает поли-

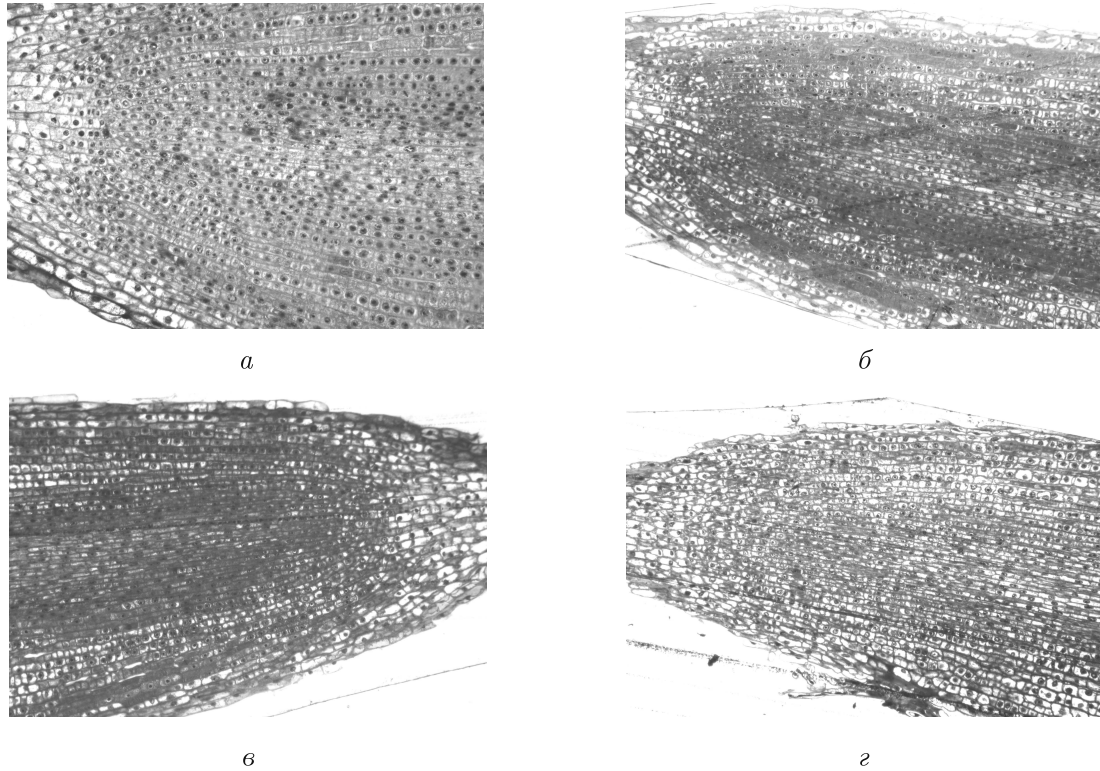


Рис. 1. Возрастание паренхиматизации меристемы с увеличением дозы облучения: *а* — контроль; *б* — 4 Гр; *в* — 6 Гр; *г* — 10 Гр

морфизм пакетирования — клетки внутри пакетов варьируют по числу, форме и размерам (см. рис. 2, *б*). Нарушаются ориентация и симметричность митозов, а также цитокinesis, в частности, нередко образуются дикарионы (см. рис. 2, *в*). Однако топология клеточных рядов основной меристемы и первичных тканей сохраняется. В зоне растяжения ряды, образованные aberrантными клетками и полицитами, могут деформироваться.

При облучении в 8 и 10 Гр протяженность меристемы и число клеток в продольных рядах резко сокращаются (в 4–5 раз). Топология клеточных рядов основной меристемы, дистальной части зоны растяжения, а также характер пакетирования претерпевают значительные изменения (см. рис. 2, *г*). При дозе в 10 Гр по всей меристеме и в первичных тканях нарастают цитопатологические изменения. Паренхиматизация охватывает большинство гистогенов, инициальные клетки и полициты (см. рис. 1, *г*; 2, *д*). Многие клеточные пакеты подвергаются разнообразным деформациям и “трансформациям”, в результате чего нарушается линейность пакетирования и параллельность клеточных рядов, свойственные норме (см. рис. 2, *г*, *д*). На месте дегенерирующих клеток могут образовываться характерные пустоты. В большинстве исследуемых корневых апексов после облучения в 10 Гр полностью нарушается зональность, топология рядов и пакетирование клеток. Дегенеративные изменения охватывают и зону растяжения, особенно ее дистальную часть, в которой обнаруживаются “несостыковки” клеточных рядов и изодиаметрический рост клеток (см. рис. 2, *е*).

Итак, степень нарушения топологии клеточных рядов обычно коррелирует с дозой облучения и уровнем цитогенетического повреждения меристемы. С увеличением дозы облуче-

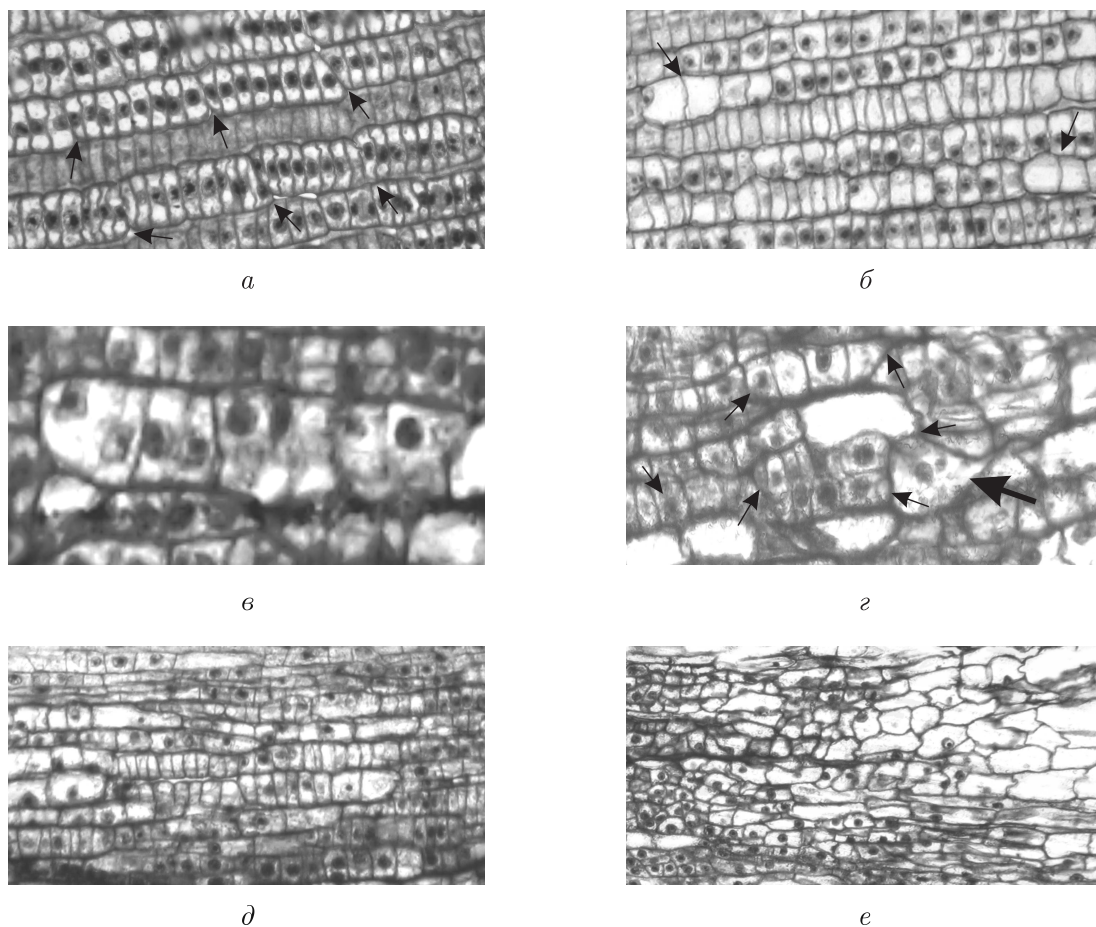


Рис. 2. Топология клеточных рядов и пакетирование клеток в основной меристеме (*a–в, д* — 48 ч после облучения; *г, е* — 72 ч после облучения): *a* — пакетирование клеток в периблеме, контроль (стрелками указаны клеточные пакеты); *б* — пакетирование клеток в периблеме, 4 Гр (стрелками указаны инактивированные клетки); *в* — пакетирование калиптрогенов, клон дикарионов, 4 Гр; *г* — пакетирование по 4 и 8 клеток в периблеме, сочетание инактивации и пролиферации клеток в пакетах, 8 Гр (стрелками указаны деформированные пакеты, справа стрелкой указан дикарион); *д, е* — нарушение пакетирования в периблеме, 10 Гр; *е* — деградация топологии клеточных рядов дистальной части зоны растяжения, 8 Гр

ния сокращаются размеры меристемы, возрастает частота инактивации клеток дистальной меристемы и деформаций клеточных рядов основной меристемы и зоны растяжения. Изменение характера пакетирования отражает нарушение ритма пролиферации. Ранняя вакуолизация и паренхиматихация клеток основной меристемы может свидетельствовать о повреждении центра покоя, в функцию которого, по мнению многих исследователей, входит поддержание стволости и предотвращение дифференцировки примыкающих к нему клеток [13, 14]. Анализ топологии клеточных рядов согласуется с количественной оценкой хромосомного мутагенеза. Так, 27–33%-я ЧАА (в диапазоне 4–8 Гр), как правило, не сопровождается деградацией ткани. Архитектоника меристемы подвергается деформациям, но основные контуры топологии рядов сохраняются. По достижении 50%-го рубежа ЧАА топология клеточных рядов разрушается и размеры меристемы сокращаются до “критического” уровня.

1. Barlow P. W. Structure and function at the root apex-phylogenetic and ontogenetic perspectives on apical cells and quiescent centre // Structure and function of roots / Eds. F. Baluška, M. Ciamporová, O. Gaspariková, P. W. Barlow. – Dordrecht: Kluwer, 1995. – P. 3–18.
2. Groot E. P., Doyle J. A., Nichol S. A., Rost T. L. Phylogenetic distribution and evolution of root apical meristem organization in dicotyledonous angiosperms // Int. J. Plant Sci. – 2004. – **165**. – P. 97–105.
3. Rost T. L., Bryant J. A. Root organization and gene expression patterns // J. Exp. Bot. – 1996. – **47**. – P. 1613–1628.
4. Clowes F. A. L. Pattern in root meristem development in angiosperms // New Phytol. – 2000. – **146**. – P. 83–94.
5. Waisel Y., Eshel A., Kafkafi U., Barlow P. W. Cellular patterning in root meristems: Its origins and significance // Plant roots: The hidden half / Eds. Y. Waisel, A. Eshel, U. Kafkafi. – New York: Marcel Dekker, 2002. – P. 49–82.
6. Barlow P. W. Cellular packets, cell division and morphogenesis in the primary root meristem of *Zea mays* L. // New Phytol. – 1987. – **105**. – P. 27–56.
7. Барлоу П. В., Люк Ж. Ритмический характер морфогенеза растений на примере повторяющегося образования клеток идиобластов // Физиология растений. – 2008. – **55**, № 2. – С. 163–183.
8. Гудков И. Н. Клеточные механизмы пострадиационного восстановления растений. – Киев: Наук. думка, 1986. – 222 с.
9. Батыгин Н. Ф. Онтогенез высших растений. – Москва: Агропромиздат, 1988. – 101 с.
10. Иванов В. Б. Клеточные механизмы роста растений. Тимирязевские чтения. Т. 68. – Москва: Наука, 2011. – 103 с.
11. Эсау К. Анатомия растений. – Москва: Мир, 1969. – 564 с.
12. Паушева З. П. Практикум по цитологии растений. – Москва: Агропромиздат, 1988. – 271 с.
13. Van den Berg C., Willemsen V., Hage W. et al. Cell fate in the Arabidopsis root meristem determined by directional signalling // Nature. – 1995. – **378**. – P. 62–65.
14. Scheres B. Stem-cell niches: nursery rhymes across kingdoms // Nat. Rev. Mol. Cell. Biol. – 2007. – **8**. – P. 345–354.

ГУ “Институт пищевой биотехнологии
и геномики НАН Украины”, Киев
Институт клеточной биологии и генетической
инженерии НАН Украины, Киев

Поступило в редакцию 27.10.2011

О. А. Кравець, В. В. Бережна, В. І. Сакада, Н. М. Рашидов,
академік НАН України **Д. М. Гродзинський**

Зміни архітектоніки апікальної меристеми кореня при радіаційному мутагенезі

Гостре опромінення індукує в меристемі кореня проростків гороху зростання гетерогенності клітинних популяцій, вакуолізацію і паренхіматизацію окремих клітин та поліцитів. Ступінь порушення топології клітинних рядів корелює з дозою опромінення. Пропорційно дозі опромінення зменшуються розміри меристеми, зростає частота інактивзації клітин, деформацій клітинних рядів, змінюється порядок клітиноутворення та лінійність розміщення клітин всередині пакетів. При 33%-й частоті аберантних анафаз (ЧАА) структурна архітектоніка меристеми деформується, але все ж зберігається. Після досягнення 50% ЧАА топологія клітинних рядів і зональність апекса руйнуються, а розміри меристеми скорочуються до “критичного” рівня.

E. A. Kravets, V. V. Berezhnaya, V. I. Sacada, N. M. Rashidov,
Academician of the NAS of Ukraine **D. M. Grodzinsky**

Changes in the architectonics of the root apical meristem at radiation mutagenesis

Acute irradiation of pea germs induced an increase of the cell population polymorphism, vacuolation, and parenchimatization of individual cells and cell packets in the root meristem. The degree of topology disturbances is usually correlated with the dose of irradiation. Increasing the dose reduces the meristem size and increases the inactivation frequency of cells and the cell packet deformation. The structural architectonics of the meristem is deformed at the 33%-frequency of aberrant anaphases (FAA), but, nevertheless, it remains. At 50% FAA, the topology of cellular rows and the zoning of apex are destroyed, and sizes of the meristem are decreased to “the critical” level.