



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**

Восстановление структурной архитектоники меристемы корня после радиационного воздействия

Поддержание и восстановление топологии клеточных рядов при радиационном повреждении меристемы осуществляются через репопуляцию и замещение на ее основе поврежденных клеток и рядов. Новые клеточные ряды продвигаются в поврежденной ткани, по-видимому, путем сочетания симпластического и интрузивного роста. Продвижение aberrантных клеток и полициотов в зону растяжения замедляется или блокируется через прерывание симпластического роста. Локальные процессы восстановления сопровождаются изменением линейности пакетирования клеток. По достижении 50%-го уровня частоты хромосомных aberrаций указанные механизмы восстановления оказываются неэффективными и восстановление следует более радикальному механизму — регенерации, которая приводит к полной замене тканей апекса. Восстановительный потенциал апекса корня ограничивается, по-видимому, “критической массой” меристематических клеток и степенью поражения зоны растяжения.

Апикальная меристема корня характеризуется стройной упорядоченностью рядов меристематических клеток, берущих начало от гистогенов и их инициалей. Структурным и организационным центром в корне является центр покоя [1–4]. Известно, что при радиационном (механическом и холодовом) повреждении основной меристемы происходит активация центра покоя, благодаря чему численность клеточных популяций и рост корня восстанавливаются [5–8]. Устойчивость основной меристемы к воздействию повреждающих факторов обеспечивается асинхронностью клеточной пролиферации, в основе которой лежат варьирование размеров клеток и продолжительности клеточного цикла [7–9]. Центр покоя, кроме функции “депо” радиорезистентных клеток-инициалей, регулирует состояние ствольности, пролиферацию прилегающих к нему клеток и предотвращает их дифференцировку [10–12]. Однако мало что известно о структурной компоненте восстановления. Нет сведений о том, как отражается инактивация клеток на архитектонике меристемы, не известны механизмы замены отдельных клеток и клеточных клонов при их повреждении. Целью проведенного

исследования было изучение механизмов восстановления структурной архитектоники меристемы корня при радиационном повреждении.

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. Частоту хромосомных aberrаций (ЧАА) и их распределение по клеткам оценивали на давленных ацетокарминовых препаратах, используя ана-телофазный метод учета [13]. Объем выборки составлял 15–17 корешков. Для анализа топологии меристемы изготавливали полутонкие срезы из смеси эпоксидных смол, подкрашенные метиленовой синью или с помощью ШИК-реакции. Препараты изготавливали по общепринятым цитологическим методикам [13, 14].

Результаты исследования и их обсуждение. Дозовые зависимости частоты хромосомных aberrаций в меристеме корня в диапазоне от 4 до 10 Гр характеризуются “порогом” и плато в области 4–8 Гр. Пороговый уровень повреждений составляет для данного генотипа 27% aberrантных анафаз и 33% — в районе плато. При 10 Гр уровень хромосомных aberrаций достигает 50% и дозовая кривая формирует экспоненту, обусловленную вовлечением в мутационный процесс большого числа новых клеток.

Топология клеточных потоков меристемы в норме. Проксимальная меристема и дистальная часть зоны растяжения структурно четко организованы в виде параллельных клеточных рядов. Архитектоника периблемы (предшественницы первичной коры) прослеживается в виде повторяющихся клеточных пакетов, внутри которых число дочерних клеток, в зависимости от деления, составляет 2–4–8–16–32 клеток. Внутри пакетов происходят симметричные поперечные деления, которые иногда дополняются тангентальными, образующими дополнительные ряды клеток. Топология рядов дистальной части зоны растяжения более упорядочена, возможно, потому, что при переходе к растяжению клеточные ряды занимают фиксированное положение.

Острое облучение индуцирует в меристеме возрастание уровня хромосомных aberrаций, полиморфизм клеточных популяций, раннюю вакуолизацию и паренхиматизацию отдельных клеток и полицитов. Изменяется линейный характер пакетирования и симметричность митозов внутри пакетов. Степень нарушения топологии клеточных рядов обычно коррелирует с дозой облучения. Пропорционально дозе сокращаются размеры меристемы, возрастает частота инактивации клеток и деформаций клеточных рядов основной меристемы и зоны растяжения.

Восстановительные процессы при облучении в дозе 4 и 6 Гр. Дозовая кривая в точке 4 Гр характеризуется перегибом, который свидетельствует о совмещении двух разных механизмов восстановления — репаративного и репопуляционного. На активацию систем репарации указывает снижение уровня анафаз с 1 и 2 перестройками, на активацию пролиферативной гибели клеток — индукция мультиaberrантных повреждений. При 4 Гр репопуляция только оживляется, а при 6 Гр она становится главным механизмом восстановления, который компенсирует редукцию числа клеток в меристеме.

Поддержание и восстановление структурной архитектоники осуществляются в два этапа и путем близких по характеру механизмов. Сначала образуются небольшие пролиферативные пулы клеток, преимущественно в дистальной, а также других частях меристемы (рис. 1, б). Затем на их основе формируются новые вертикальные ряды клеток, которые путем связного и интрузивного роста продвигаются между поврежденными рядами клеток (см. рис. 1, б). В составе новых клеточных рядов вновь появляются инактивированные кле-

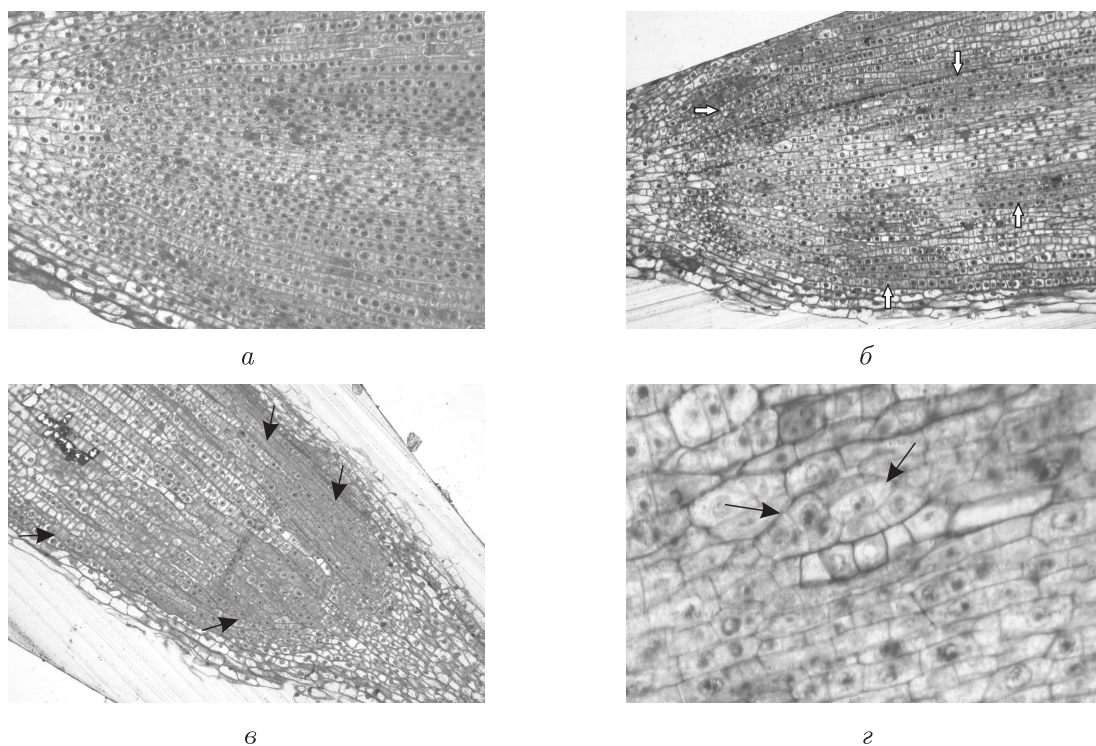


Рис. 1. Топология клеточных рядов и восстановительные процессы в меристеме при облучении в дозах 4 и 6 Гр (*а, г* — 48 ч; *б, в* — 72 ч после облучения): *а* — топология клеточных рядов в норме, контроль; *б* — образование субпопуляций клеток в разных частях меристемы, 6 Гр (стрелками указаны локальные участки пролиферации клеток); *в* — интрузивный рост новых клеточных рядов из дистальной меристемы, 6 Гр (стрелками указаны новообразованные ряды клеток, продвигающиеся от дистальной в проксимальную часть меристемы); *г* — локальные процессы восстановления путем ограниченной тангентальной пролиферации клеток в перилеме, 4 Гр (стрелками указан участок локальной пролиферации)

тки и полициты, что свидетельствует о продленном мутагенезе. Продвижение aberrantных клеток и полицитов по меристеме в зону растяжения замедляется или блокируется. Это может быть следствием прерывания симпластического роста и изоляции поврежденных клеток и полицитов. Другой, близкий по характеру, локальный механизм восстановления, связан с ограниченной тангентальной пролиферацией клеток внутри полицитов (см. рис. 1, *г*). Он направлен на заполнение небольших пространств между рядами при деформации соседних полицитов. В отличие от репопуляции, он менее радикален, однако изменяет характер пакетирования клеток и нарушает топологию клеточных рядов (см. рис. 1, *г*; рис. 2, *а, б*). Повреждения в дистальной части зоны растяжения восстанавливаются за счет поступления новых клеточных рядов из меристемы, а также пролиферации клеток перицикла и субэпидермальных слоев.

Восстановительные процессы при облучении в дозе 8 и 10 Гр. После облучения резко сокращаются (в 4–5 раз) размеры меристемы и число клеток в продольных рядах. Топология клеточных рядов основной меристемы и переходной зоны претерпевает значительные изменения, возрастает частота инактивации клеток и полицитов и деформаций клеточных рядов. В связи с полиморфизмом клеткообразования изменяется линейный характер пакетирования (см. рис. 2, *а, б*). При 10 Гр меристема теряет присущую ей архитектуру и деградирует. Восстановление осуществляется на основе репопуляции

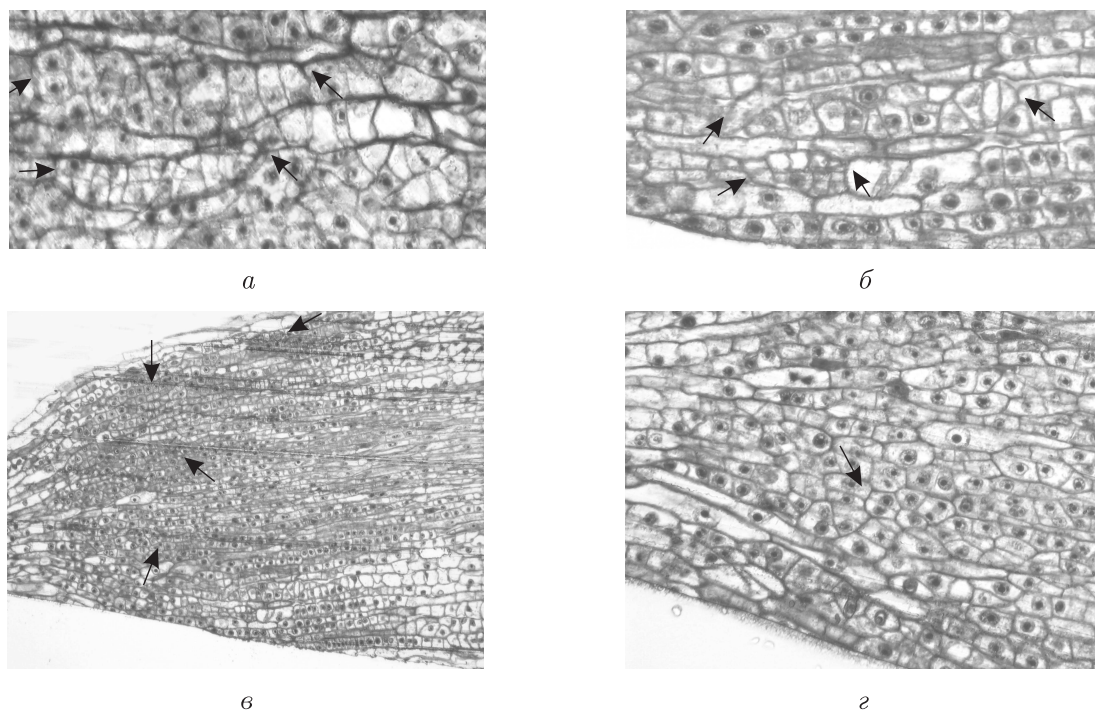


Рис. 2. Восстановительные процессы в меристеме при облучении в дозах 10 Гр (72 ч после облучения): а, б — пролиферация клеток внутри полициотов, изменение линейного характера пакетирования (стрелками указаны измененные клеточные пакеты); в, г — репопуляционные процессы в дистальной и других частях меристемы (стрелками указаны локальные участки пролиферации клеток)

за счет радиорезистентных клеток. Локальные субпопуляции образуются в разных частях меристемы, но преимущественно в дистальной (см. рис. 2 в, г). Восстановление топологии клеточных рядов происходит благодаря возможности интрузивного роста новых рядов клеток вдоль продольной оси корня. Дозовая кривая в точке 8 Гр характеризуется перегибом, который предполагает наличие двух близких механизмов восстановления — репопуляционного и регенерационного. При 8 Гр (ЛД₅₀) топология рядов в меристеме обычно восстанавливается через репопуляционный механизм, описанный выше. При 10 Гр восстановительный процесс замедляется и усложняется. Его основу также составляет репопуляционный механизм. Однако пределы восстановительного потенциала меристемы ограничиваются “критическим резервом” пролиферативного пула и степенью поражения зоны растяжения. Полагают, что величина “критического резерва” в значительной мере зависит от способности его клеток к гиперфункции как основы компенсаторных процессов [15]. В большинстве случаев восстановление при облучении в дозе 10 Гр следует более радикальному механизму — регенерации. Регенерация приводит к полной замене тканей апекса, включая зону растяжения. При этом остатки деформированной ткани сминаются и оттесняются кнаружи. Локальные механизмы восстановления, играющие определенную роль в восстановлении при средних дозах облучения, в данном диапазоне не играют существенной роли.

Итак, механизмы восстановительных процессов при радиационном повреждении корня коррелируют с уровнем повреждения меристемы. В диапазоне плато, при 33%-м уровне aberrantных анафаз, поддержание и восстановление топологии меристемы осуществ-

ляются за счет репопуляции и механизмов симпластического и интрузивного роста новых клеточных рядов, которые продвигаются вдоль оси корня и оттесняют ряды поврежденных клеток. Продвижение аберрантных клеток и полицитов в зону растяжения замедляется или блокируется через прерывание симпластического роста. По-видимому, симпластический аппарат связного роста при радиационном повреждении меристемы нарушается и подвергается перестройке, что обуславливает возможность интрузивного роста новых рядов клеток. Локальные процессы восстановления сопровождаются изменением линейности пакетирования клеток. По достижении 50%-го уровня ЧАА восстановление следует более радикальному механизму — регенерации, которая приводит к полной замене тканей апекса.

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. Clowes F. A. L. Pattern in root meristem development in angiosperms // New Phytol. – 2000. – **146**. – P. 83–94.
4. 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.
5. Clowes F. A. L. Reorganization of Root Apices after Irradiation // Ann. Bot. – 1959. – **23**, No 2. – P. 205–210.
6. Barlow P. W., Rathfelder E. L. Cell division and regeneration in primary root meristems of *Zea mays* recovering from cold treatment // Environ. Exp. Bot. – 1985. – **25**. – P. 303–314.
7. Гудков И. Н. Клеточные механизмы пострadiационного восстановления растений. – Киев: Наук. думка, 1986. – 222 с.
8. Иванов В. Б. Клеточные механизмы роста растений. Тимирязевские чтения. – Т. 68. – Москва: Наука, 2011. – 103 с.
9. Батыгин Н. Ф. Онтогенез высших растений. – Москва: Агропромиздат, 1988. – 101 с.
10. 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.
11. Sabatitni S., Heidstra R., Wildwater M., Scheres B. SCARECROW is involved in positioning the stem cell niche in the Arabidopsis root meristem // Genes Develop. – 2003. – **17**. – P. 354–358.
12. Scheres B. Stem-cell niches: nursery rhymes across kingdoms // Nat. Rev. Mol. Cell. Biol. – 2007. – **8**. – P. 345–354.
13. Паушева Э. П. Практикум по цитологии растений. – Москва: Агропромиздат, 1988. – 371 с.
14. Электронная микроскопия клеток и тканей / Отв. ред. П. П. Румянцев. – Ленинград: Наука, 1990. – 144 с.
15. Гродзинський Д. М. Парадигми сучасної радіобіології // Радіобіологічні ефекти хронічного опромінення рослин у зоні впливу Чорнобильської катастрофи. – Київ: Наук. думка, 2008. – С. 9–32.

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

Відновлення структурної архітекtonіки меристеми кореня після радіаційного впливу

Підтримання і відновлення топології клітинних рядів при радіаційному пошкодженні меристеми здійснюються через репопуляцію та заміщення на її основі пошкоджених клітин і рядів. Нові клітинні ряди, вірогідно, просуваються в пошкодженій тканині шляхом інтрузивного та симпластичного росту. Просування аберантних клітин та поліцитів у зону розтягування сповільнюється або блокується через переривання симпластичного росту. Локальні процеси відновлення супроводжуються зміною лінійності пакування клітин. При досягненні 50%-го рівня аберантних анафаз у меристемі зазначені механізми відновлення стають неефективними і відновлення відбувається за більш радикальним механізмом — регенерацією, що призводить до повної заміни тканин апекса. Можливості відновлення апекса обмежуються, напевно, “критичною масою” меристематичних клітин та ступенем ураження зони розтягування.

Е. А. Kravets, V. V. Berezhnaya, V. I. Sacada, N. M. Rashidov,
Academician of the NAS of Ukraine D. M. Grodzinsky

The recovery of a structural architectonics of root meristem after the effect of irradiation

The maintenance and the restoration of a topology of cell rows in the radiation-injured meristem are achieved by the repopulation and via the substitution of damaged cells and rows. New cellular rows probably move in the damaged tissues by intrusive and symplastic growth. The advance of aberrant cells and polycells to the elongation zone slows down or is blocked via the interruption of symplastic growth. The local recovery processes are accompanied by a change in the linearity of packing cells. At 50% level of aberrant anaphases, the mentioned mechanisms of recovery prove to be ineffective. So, the recovery follows a more radical mechanism — regeneration, which leads to the complete replacement of the apex tissues. The possibilities of the apex recovery are probably limited by the “critical mass” of meristematic cells and the degree of damage of the elongation zone.