

## СЕЗОННАЯ РИТМИКА СТРУКТУРЫ ЛЕЙКОПЛАСТОВ ЧЕШУЙ ЛУКОВИЦЫ *SCILLA SIBIRICA* L.

*Е. А. Мирославов, Е. М. Бармичева*

*Ботанический институт им. В. Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург;  
электронный адрес: miroslav@kd1537.spb.edu*

Проведено изучение сезонных изменений пластид основной ткани чешуй лукавицы ранневесеннего эфемероида *Scilla sibirica* L. В летнее время пластиды представлены типичными амилопластами, их основной объем ( $97.0 \pm 2.3$  % парциального объема) занимает одно крупное крахмальное зерно. Парциальный объем стромы минимален. В ней выявляются мелкие пластоглобулы, тилакоидов не обнаружено. Такое же строение пластиды имеют и в октябре. В декабре крахмала не обнаруживается. По периферии пластид выявляются отдельные тилакоиды. Ранней весной (март), когда листья еще не вышли на поверхность земли, парциальный объем крахмальных зерен составляет  $53.0 \pm 2.2$  %. В строме выявляются структуры, по внешнему виду сходные с микротрубочками, довольно хорошо развита система тилакоидов, некоторые из них располагаются концентрически. В полостях тилакоидов обнаруживается электронно-плотное вещество. Многие пластиды имеют обкладки из элементов агранулярного эндоплазматического ретикулума. На основании анализа полученных данных и литературных источников делается заключение о том, что пластиды чешуй лукавицы не только запасают крахмал, но и, вероятно, могут принимать участие в биосинтезе фитогормонов.

Ключевые слова: лукавица, чешуя, лейкопласты, пластиды, сезонные изменения, эндоплазматический ретикулум, крахмал.

Лейкопласты основной ткани чешуй лукавицы ранневесенних эфемероидов рассматриваются как органеллы, роль которых сводится лишь к запасанию крахмала. Согласно полученным нами данным, по своему строению эти пластиды существенно отличаются от типичных амилопластов. Определенные различия, вероятно, существуют и в их функциональных особенностях. В настоящей статье дается характеристика строения лейкопластов основной ткани чешуй лукавицы ранневесеннего эфемероида *Scilla sibirica* L. в разные сезоны года.

### Материал и методика

В качестве объекта исследования взяты чешуи лукавицы среднего яруса ранневесеннего эфемероида *Scilla sibirica* L., растущего в парке Ботанического института им. В. Л. Комарова РАН. Для исследования вырезали образцы из средней трети чешуи между ее краем и срединной частью. Материал фиксировали 14 июля, 3 октября, 30 декабря и 28 марта следующего года. Кусочки чешуй фиксировали в смеси 2.5%-ного параформальдегида (Serva, Германия) и 2%-ного глутаральдегида (Serva, Германия) на 0.1 М фосфатном буферном растворе (рН 7.4), затем отмывали в этом же буферном растворе в течение 1 ч и повторно фиксировали в 2%-ном  $\text{OsO}_4$  на том же буферном растворе в течение 3—4 ч при комнатной температуре. После осмиевой фиксации образцы промывали в серии спиртов с повышением concentra-

ции, затем в абсолютном ацетоне и заливали эпоксидной смесью аралдит М-Эпон 812 (Fluka, Швейцария). Срезы изготавливали на ультратоме LKB-III. Полутонкие срезы окрашивали 0.1%-ным раствором толудинового синего. Ультратонкие срезы окрашивали 3.5%-ным уранил-ацетатом на ацетатном буферном растворе и цитратом свинца (Reynolds, 1967). Ультратонкие срезы анализировали и фотографировали с помощью электронного микроскопа Hitachi-H600. Парциальный объем крахмальных зерен определяли с использованием сетки случайного шага по методу Стефанова (1974). Диаметр трубочек и просвета тилакоидов, а также расстояние между ними оценивали по переведенным в цифровую форму микрофотографиям с использованием компьютерной программы анализа изображения ImageTool (UTHSCSA).

### Результаты и обсуждение

В летнее время (июль) пластиды клеток основной ткани лукавицы *Scilla sibirica* представлены амилопластами. Основной объем пластиды ( $97.0 \pm 2.3$  %) занимает одно крахмальное зерно. Парциальный объем стромы минимален. В ней выявляются мелкие пластоглобулы, тилакоидов не обнаруживается. Строма мелкозернистая, плотная (рис. 1). На большинстве срезов пластид она выявляется с трудом. Вероятно, это объясняется тем, что из-за своих ограниченных размеров она далеко не всегда попадает в плоскость среза.

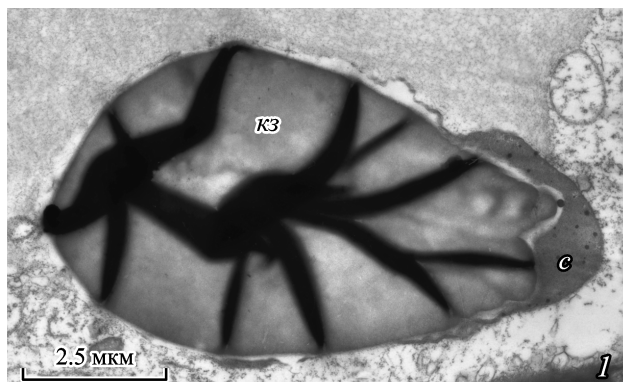


Рис. 1. Амилопласт в клетке основной ткани чешуи лукавицы *Scilla sibirica* (июль).

кз — крахмальное зерно, с — строма.

Fig. 1. Amyloplast in the ground tissue cell of the bulb scale of *Scilla sibirica* (in July).

кз — starch, с — stroma.

Такое же строение пластиды имеют и в октябре. В декабре крахмальных зерен не обнаруживается (рис. 2). По периферии пластид имеются отдельные тилакоиды (рис. 2). Тилакоиды и оболочка пластиды образуют складки.

Ранней весной (март), когда листья еще не вышли на поверхность земли, парциальный объем крахмальных зерен составляет  $53.0 \pm 2.2\%$ . Они имеют сравнительно небольшие размеры, но число их на каждый срез пластид значительно увеличивается (в среднем 3—5 зерен, а иногда и более; рис. 3, б). Увеличение парциального объема крахмальных зерен, по-видимому, происходит за счет превращения сахаров, образовавшихся в наступлении зимы при гидролизе крахмальных зерен, снова в крахмал.

В строле выявляются своеобразные структуры, по внешнему виду сходные с микротрубочками. Они располагаются в периферической части пластид и одним концом примыкают к внутренней мембране оболочки пластиды, а другим — к тилакоиду, расположенному под оболочкой (рис. 3, а). Непосредственной связи между

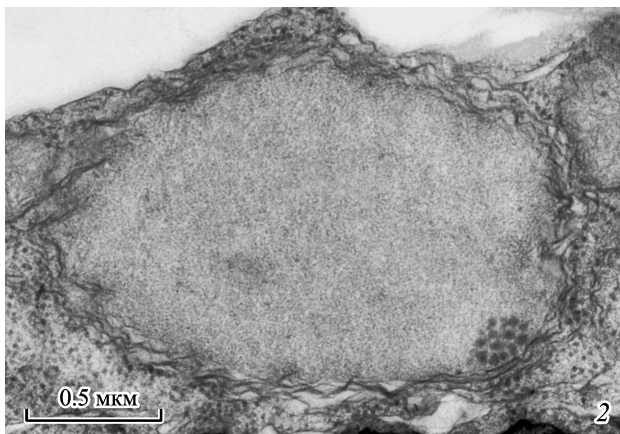


Рис. 2. Лейкопласт в клетке основной ткани чешуи лукавицы *Scilla sibirica* (декабрь).

Fig. 2. Leucoplast in the ground tissue cell of the bulb scale of *Scilla sibirica* (in December).

мембраной оболочки пластиды и трубкой не обнаруживается. Как правило, трубочки образуют скопления по 10—35 единиц. Их диаметр составляет  $13.7 \pm 0.7$  нм. В очень редких случаях выявляются и единичные микротрубочки. На срезе пластиды встречается несколько таких скоплений. Тилакоиды, находящиеся в периферической части пластид, вытянуты вдоль оболочки, нередко обнаруживаются и концентрически расположенные (рис. 4). Они параллельны друг другу; расстояние между соседними тилакоидами составляет  $20.9 \pm 1.2$  нм. Местами в их полостях выявляется электронно-плотное вещество. В таких участках полость тилакоида сужается: обычно ширина просвета тилакоида составляет  $15.4 \pm 0.8$  нм, а в месте выявления электронно-плотного вещества —  $8.9 \pm 0.5$  нм. Протяженность участков тилакоидов, имеющих электронно-плотное вещество, варьирует. В одних случаях она минимальна, и такие участки выявляются с трудом (рис. 4, а), в других они занимают значительную часть от общей длины тилакоида (рис. 4, б). По-видимому, это обусловлено определенными различиями в метаболизме пластид.

Практически все пластиды имеют обкладки из агрегулярного эндоплазматического ретикулума (АЭР). В одних случаях выявляются лишь отдельные профили срезов его трубочек. При этом они наиболее часто выявляются вблизи участков пластид, имеющих структуры, сходные с микротрубочками (рис. 3, а). В других случаях трубочки АЭР располагаются на значительном протяжении оболочки пластиды (рис. 4, а).

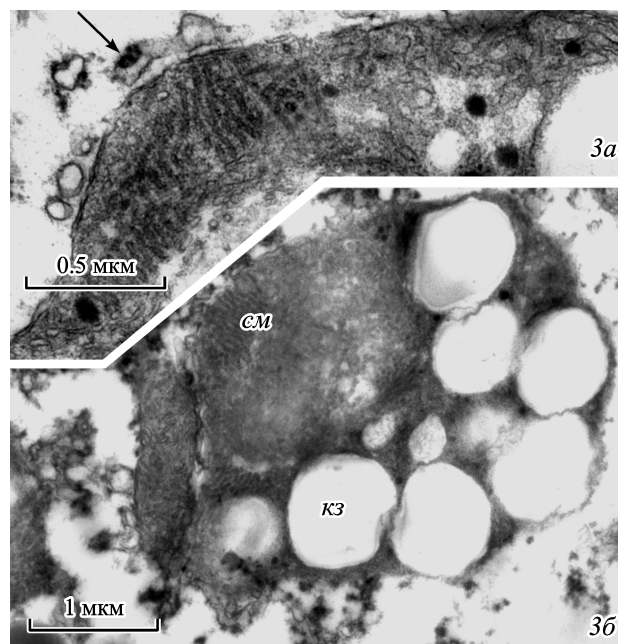


Рис. 3. Лейкопласт (б) в клетке основной ткани чешуи лукавицы *Scilla sibirica* (март).

Фрагмент этого лейкопласта (а) со структурами, сходными с микротрубочками. кз — крахмальное зерно, см — структуры, сходные с микротрубочками. Обкладка из элементов агрегулярного эндоплазматического ретикулума показана стрелкой.

Fig. 3. Leucoplast (б) in the ground tissue cell of the bulb scale of *Scilla sibirica* (in March).

а — fragment of this leucoplast with structures similar to microtubules. кз — starch, см — microtubules-like structures. Arrow — a sheath of smooth endoplasmic reticulum around the leucoplast.



Таким образом, в структуре лейкопластов основной ткани чешуй луковицы *Scilla sibirica* в годичном цикле происходят существенные изменения. Обращает на себя внимание прежде всего динамика размеров крахмальных зерен. Летом, в период относительного покоя луковицы, крахмальные зерна занимают почти весь объем амилопласта. С наступлением зимы содержание крахмала резко уменьшается. Ранней весной оно несколько возрастает и в период активного роста растения вновь уменьшается. Сходная картина наблюдается и у пластид основной ткани коры *Phellodendron amurense* (Наумова, Мирославов, 1986) и мезофилла листа вечнозеленых растений *Taxus baccata* (Алексеева, 1991). Снижение парциального объема крахмальных зерен с наступлением холодов у этих растений, а вероятно, и у *S. sibirica* происходит в результате превращения крахмала в сахара, которые, как известно, являются криопротектантами и способствуют повышению морозостойкости растения. Углеводы лейкопластов чешуй луковиц, безусловно, используются для роста растения, и их рассматривают как запасные органы.

При смене сезонов года существенные изменения происходят и в строении мембранной системы пластид. В начале весны (март) в строении обнаруживаются структуры, по внешнему виду сходные с микротрубочками, однако значительно короче последних. Имеются различия и в их химическом составе. Показано, что трубочки пластид не разрушаются под воздействием амипрофосметила, колхицина и винбластина (Artus et al., 1990). По мнению авторов, это указывает на отсутствие тубулина в их составе. Такие трубочки, в частности, выявлены в пластидах замыкающих клеток устьиц (Мирославов, 1974), секреторных тканей (Wanner et al., 1981; Sevinate-Pinto, Antunes, 1991), зародыша (Яковлев, Жукова, 1973) и яйцеклеток (Hoffman, 1967), т. е. в метаболически активных клетках. Функция трубочек неизвестна. Можно лишь предполагать, что их наличие указывает на повышение активности определенных процессов клетки. В этой связи обращает на себя внимание время формирования трубочек. Они выявляются ранней весной незадолго до цветения растений.

Сезонную ритмику имеют и обкладки из АЭР вокруг пластид. Они также выявляются лишь весной. Комплексы пластида — АЭР — являются характерной чертой структуры терпеноидогенных клеток (Васильев, 1977). При этом в клетках основной ткани чешуй луковицы *S. sibirica* АЭР имеется в цитозоле и вне комплекса с пластидой. Между степенью развития АЭР и интенсивностью синтеза терпеноидов существует прямая зависимость (Vassilyev, 2000). Это дает основание полагать, что АЭР осуществляет биосинтез терпеноидов. К терпеноидам относится и фитогормон гиббереллин.

В годичном цикле существенно перестраивается и тилакоидная система лейкопластов. В летне-осеннее время тилакоидов не обнаруживается. С наступлением зимы на срезах пластид выявляются отдельные тилакоиды, расположенные по периферии этих органелл. К весне формируется хорошо развитая система тилакоидов. Они находятся под оболочкой. Имеются и концентрически расположенные тилакоиды. В их полостях находится электронно-плотное вещество.

Уплотнения выявлены в полостях тилакоидов и у пластид периллы масляничной, выращенной в условиях длинного дня (Данилова, Кашина, 1999). С продолжительностью освещения тесно связано и образование

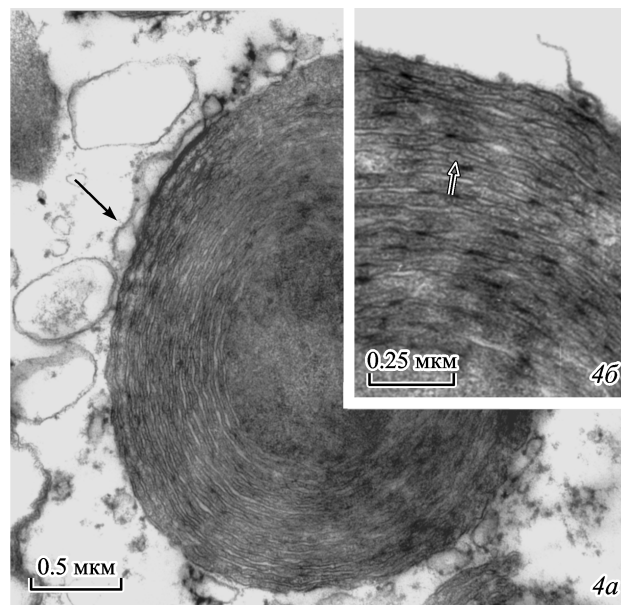


Рис. 4. Фрагменты лейкопластов из клетки основной ткани чешуи луковицы *Scilla sibirica*.

Однородной стрелкой отмечены элементы агранулярного эндоплазматического ретикулума (а), двойной стрелкой — участок тилакоида, заполненный электронно-плотным веществом (б).

Fig. 4. Fragments of leucoplasts (a, b) in the ground tissue cell of the bulb scale of *Scilla sibirica*.

Single arrow — part of the thylakoid filled with electron-dense substance.

гиббереллинов. Чем длиннее освещение, тем выше их содержание (Чайлахян, Ложникова, 1964; Муромцев, Агнитошкова, 1984). По-видимому, накопление электронно-плотного вещества в пластидах периллы масляничной имеет отношение к синтезу гиббереллинов (Данилова, Кашина, 1999). Такое предположение, вероятно справедливо и для пластид чешуй луковицы *S. sibirica*. Показано, что в чешуях луковиц ранневесенних эфемероидов накапливаются гиббереллины (Рахимбаев, 1979).

Итак, в строении лейкопластов клеток основной ткани чешуй луковиц в годичном цикле происходят кардинальные изменения. С наступлением весны формируются структуры, сходные с микротрубочками, образуются комплексы пластида—АЭР, возникает хорошо развитая система тилакоидов, в полостях которых находится электронно-плотное вещество. Эти признаки указывают на возможное участие пластид в биосинтезе веществ гормональной природы.

Таким образом, лейкопласты основной ткани чешуй луковиц ранневесенних эфемероидов являются не только депо углеводов. Вероятно, они могут принимать участие и в биосинтезе веществ гормональной природы.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект 03-04-49494).

#### Список литературы

Алексеева О. А. 1991. Возрастные и сезонные изменения структуры хлоропластов и митохондрий в клетках мезофилла тиса остроколючного: Дис. ... канд. биол. наук. Л.

- Васильев А. Е. 1977. Функциональная морфология секреторных клеток растений. Л.: Наука. 207 с.
- Данилова М. Ф., Кашина Т. К. 1999. Структурные основы актиноритмической регуляции цветения. СПб.: Наука. 218 с.
- Мирославов Е. А. 1974. Структура и функция эпидермиса листа покрытосемянных растений. Л.: Наука. 120 с.
- Муромцев Г. С., Агнестикова В. Н. 1984. Гиббереллины. М.: Наука. 216 с.
- Наумова Л. В., Мирославов Е. А. 1986. Сезонные изменения ультраструктуры клеток феллодермы *Phellodendron amurense* (Rutaceae). Ботан. журн. 71 (2) : 200—206.
- Рахимбаев И. 1979. Физиология роста и морфогенеза луковичных растений: Автореф. канд. дис. М.
- Стефанов С. Б. 1974. Морфометрическая сетка случайного шага как средство ускоренного измерения элементов морфогенеза. Цитология. 16 (6) : 785—787.
- Чайлахян М. Х., Ложникова В. Н. 1964. Фотопериодизм и динамика гиббереллинов в растениях. Физиол. раст. 11 (6) : 1006—1014.
- Яковлев М. С., Жукова Г. Я. 1973. Покрытосемянные растения с зеленым и бесцветным зародышем. Л.: Наука. 101 с.
- Artus N. N., Ryberg M., Sundqvist Chr. 1990. Plastid microtubule-like structures in wheat are insensitive to microtubule inhibitors. *Physiol. Plant.* 79 : 641—648.
- Hoffman L. R. 1967. Observations on the fine structure of *Oedogonium*. III. Microtubules elements in the chloroplasts of *Oedogonium cardiacum*. *J. Phycol.* 3 : 212—221.
- Reynolds E. S. 1967. The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. *J. Cell Biol.* 17 : 208—212.
- Sevinate-Pinto I., Antunes T. 1991. Glandular trichomes of *Teucreum scorodonia* L. Ultrastructure and secretion. *Flora.* 185 : 207—213.
- Vassilyev A. E. 2000. Quantitative ultrastructural data of secretory duct epithelial cells in *Rhus toxicodendron*. *Int. J. Plant Sci.* 161 : 615—630.
- Wanner G., Formanek H., Theimer R. R. 1981. The ontogeny of lipid bodies (sphaerosomes) in plant cells. Ultrastructural evidence. *Planta.* 15 : 109—128.

Поступила 17 I 2005

#### SEASONAL RHYTHMICS OF THE LEUCOPLAST STRUCTURE IN BULB SCALES OF *SCILLA SIBIRICA* L.

E. A. Miroslavov, K. M. Barmicheva

V. L. Komarov Botanical Institute RAS, St. Petersburg;  
e-mail: miroslav@kd1537.spb.edu

A study was made of seasonal changes in plastids of ground tissue cells of bulb scales in early-spring ephemeroïd *Scilla sibirica* L. In summer, plastids are represented by typical amyloplasts, with their main volume ( $97.0 \pm 4.3\%$ ) being occupied by one large starch grain. The volume fraction of plastid stroma is at its minimum. The stroma contains small plastoglobuli and no thylakoids. The same structure is characteristic of plastids in October. However, no starch is found in December, when some thylakoids are seen at the plastid periphery. In the early spring (March), when leaves still remain below the ground, the volume fraction of starch grains is  $53.0 \pm 2.2\%$ . In the stroma some structures superficially similar to those of microtubuli are revealed. The thylakoid system is fairly well developed, some of thylakoids being concentrically arranged. Some electron-opaque material is seen in the thylakoid lumen. Many plastids are sheathed with elements of the smooth endoplasmic reticulum. Based on the analysis of these and literature data, a conclusion is made that plastids of bulb scales not only store starch, but also seemingly participate in phytohormone biosynthesis.