

СТРУКТУРЫ КЛАПАННОГО ТИПА В МОТОРНЫХ КЛЕТКАХ ЛИСТА *DISTICHLIS SPICATA* «YESEN 4A» (POACEAE)

© Г. А. Семенова

Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Московская обл.;
электронный адрес: gals1041@rambler.ru

Солевая железа листа *Distichlis* имеет прямой контакт с клетками межпучковой водоносной паренхимы (моторными клетками). Цитоплазматический тяж моторных клеток образует глубокие инвагинации, которые формируются при участии митохондрий. Перетяжка цитоплазматического тяжа в месте локализации митохондрий приводит к слиянию тонопласта и плазмалеммы с мембранами митохондрий и формированию тонкой однослойной пластины-клапана. В этом месте вакуолярные и апопластные пространства разделены между собой только клапаном. Цитоплазма моторных клеток заполнена электронно-плотными гранулами, которые здесь рассматриваются как сократительные элементы. Обсуждается возможность участия цитоплазматического тяжа в сокращении объема вакуолей моторных клеток, в результате которого создается напор воды на клапан. Это приводит к прямому выбросу воды в апопластное пространство, примыкающее к солевой железе.

Ключевые слова: *Distichlis spicata*, ультраструктура, мембранный клапан, микротрубочки.

Пустынные злаки, произрастающие в условиях почвенного засоления, выделяют избыток минеральных солей на поверхность листьев с помощью специализированного секреторного аппарата — солевой железы. В отличие от многоклеточных солевых желез Двудольных у Однодольных в семействе Poaceae солевые железы, являясь производными эпидермиса, состоят всего из двух клеток — базальной и выделительной (Liphschitz, Waisel, 1974; Bell, Columbus, 2008).

Ультраструктурная организация солевой железы, изученная у нескольких десятков видов семейства Poaceae, имеет общий план строения. Она показывает, что складки плазматической мембранны базальной клетки глубоко проникают в ее цитоплазму (Oross, Thomson, 1982, 1984; Amarasringhe, Watson, 1988; Barhoumi et al., 2008; Oi et al., 2012).

Механизм переноса раствора солей из почвы по сосудам ксилемы и далее через солевую железу на поверхность листьев еще далеко не ясен, хотя несомненно, что это активный процесс (Thomson et al., 1988). Еще в 1974 г. предположили, что растворы солей, губительные для цитоплазмы, должны двигаться по апопласту, не оказывая токсического действия на нее (Campbell et al., 1974). Но до сих пор вопрос о путях передвижения растворов солей по симпласту или по апопласту остается дискуссионным (Thomson et al., 1988; Somaru et al., 2002; Barhoumi et al., 2008; Semenova et al., 2010; Oi et al., 2012).

Концентрация NaCl выше 50—100 mM является очень токсичной для цитоплазмы и особенно для хроматина ядер. При таких концентрациях не только перестают работать многие ферменты (Zhu, 2002), но также ингибируются транскрипция и трансляция генов и соответственно синтез белков (Allakhverdiev et al., 2002). При выращивании проростков пшеницы в почве, содержащей NaCl в концентрации выше 100 mM, в ядрах хлоренхимы проис-

ходит сильная конденсация хроматина, а затем и полное его разрушение (Semenova et al., 2014).

Ранее была предложена гипотеза о механической природе солевого насоса, согласно которой движущей силой, производящей перемещение солевых растворов, являются импульсы сжатия (растяжения) складок плазмалеммы. Плазмалемма в виде многочисленных каналов пронизывает базальную клетку солевой железы, так что внутреннее пространство этих каналов является экстра-клеточным (апопластным) пространством. Тогда растворы солей из почвы могут передвигаться только по апопласту, минуя цитоплазму (Semenova et al., 2010). В этой же работе было сделано предположение об участии в переносе солей межпучковой водоносной паренхимы, клетки которой непосредственно контактируют с базальной клеткой солевой железы.

Задачей настоящего исследования является демонстрация ультраструктурных особенностей цитоплазмы клеток водоносной паренхимы, которые позволяют выявить их активную роль в процессе переноса соли по апопласту.

Материал и методика

Растения *Distichlis spicata* выращивали, как описано ранее (Semenova et al., 2010). Кусочки листьев фиксировали в 3%-ном глутаральдегиде в фосфатном буферном растворе с постфиксацией 1%-ным OsO₄. После обезвоживания в серии спиртов и ацетона препараты заключали в эпоксидную смолу Эпон-812. Ультратонкие срезы готовили на ультратоме LKB (Швеция), контрастировали их уранил-ацетатом и цитратом свинца, просматривали и фотографировали на электронном микроскопе JEM 100B (Япония).

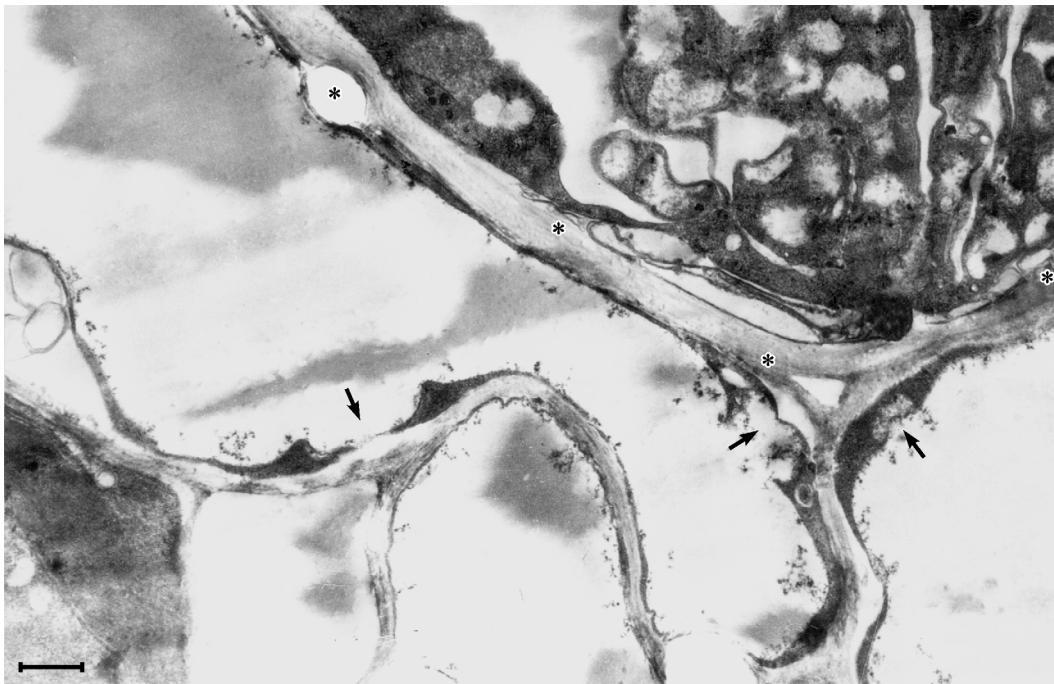


Рис. 1. Зона контакта базальной клетки солевой железы (правая часть), моторных клеток (центр) и клетки мезофилла (слева). Оболочка базальной клетки железы и соседних моторных клеток является общей (звездочки). Тонкий пристеночный слой цитоплазмы моторных клеток пронизан мембранными клапанами (стрелки). Масштабный отрезок — 1 мкм.

Результаты

Строение листа *Distichlis* является типичным для ксерофитных злаков с кранцанатомией. Листовая пластина составлена из однотипных сегментов, представляющих собой проводящие пучки, окруженные хлоренхимой — плотными клетками обкладки и рыхлым мезофиллом. Между сегментами расположены крупные клетки водоносной паренхимы, переходящие непосредственно в клетки эпидермиса и объединяющие сегменты в единую пластину (Bell, Columbus, 2008; Semenova et al., 2010). Клетки межпучковой водоносной паренхимы злаков не имеют общепринятого названия и в разных источниках называются по-разному: шарнирные (Эзау, 1980), моторные (Гамалей, 1985), бесцветные (Bell, Columbus, 2008) и собирательные (Semenova et al., 2010).

По существующей классификации (Carolin et al., 1973; Гамалей, 1985), этот тип кранцанатомии принадлежит хлоридоидному типу, в котором водоносные клетки суть моторные клетки. Считается, что они участвуют в сворачивании листовой пластины в трубку, и наоборот. В настоящей работе клетки водоносной паренхимы будут называться моторными, так как это название лучше отражает суть работы.

В желобке, образованном двумя соприкасающимися моторными клетками, расположена солевая железа, имеющая общую для них клеточную стенку (рис. 1). Моторные клетки содержат очень узкий (0.1—2.0 мкм) пристеночный слой цитоплазмы с вакуолью, занимающей 95 % их объема (рис. 1). В цитоплазме обнаруживаются небольшое распластанное вдоль стенки ядро, митохондрии и малочисленные (1—2 профиля на 1 срез) хлоропласты с плотным матриксом, развитой системой тилакоидов и многочисленными осмифильными глобулами. Матриксы митохондрий, хлоропластов, ядер и гиалоплазмы име-

ют высокую электронную плотность, что свидетельствует о гиперосмотичности среды (Гамалей, 2004).

Тонкий цитоплазматический тяж моторных клеток местами истончается до соприкосновения плазмалеммы и тонопласта. На срезе моторных клеток в 2—3 местах можно видеть специфические структуры, названные в предыдущей работе клапанами (Semenova et al., 2010). В этих местах наблюдаются перфорации в цитоплазматическом тяже (рис. 1). Процесс формирования клапана показан на рис. 2. Клапан образуется на месте перетяжки митохондрий, которые вытянуты вдоль клеточной стенки (рис. 2, а). При этом и клеточные мембранны — плазмалемма и тонопласт — с двух сторон вовлечены в этот процесс (рис. 2, б—г).

В конечном итоге в результате слияния мембран — как митохондриальных так и клеточных — образуется мембрана клапана в виде пластины (рис. 2). Пластина клапана имеет диаметр около 0.3 мкм, толщину около 20 нм, и, по-видимому, она достаточно жесткая. Картины прямого контакта между вакуолярным и апопластным пространством, выраженного в разной степени, показаны на рис. 2, д—з.

Высокая электронная плотность цитоплазмы моторных клеток обусловлена не только плотностью гиалоплазмы, но и наличием многочисленных (900 шт./мм²) электронно-плотных гранул (ЭПГ) в ней (рис. 3, б). На рис. 3, а представлен участок цитоплазмы клетки мезофилла и видно, что гиалоплазма значительно светлее, а расположенные в ней рибосомы имеют другую форму, несколько меньшие размеры и меньшую плотность (600 шт./мм²). ЭПГ цитоплазмы моторных клеток очень похожи на подобные структуры в цитоплазме базальной клетки солевой железы (рис. 4). В цитоплазме базальной клетки можно видеть целую систему микротрубочек, которые контактируют с экстраклеточными каналами, представляющими собой складки плазмалеммы, глубоко внедренные в тело базальной клетки (рис. 4, а, б).

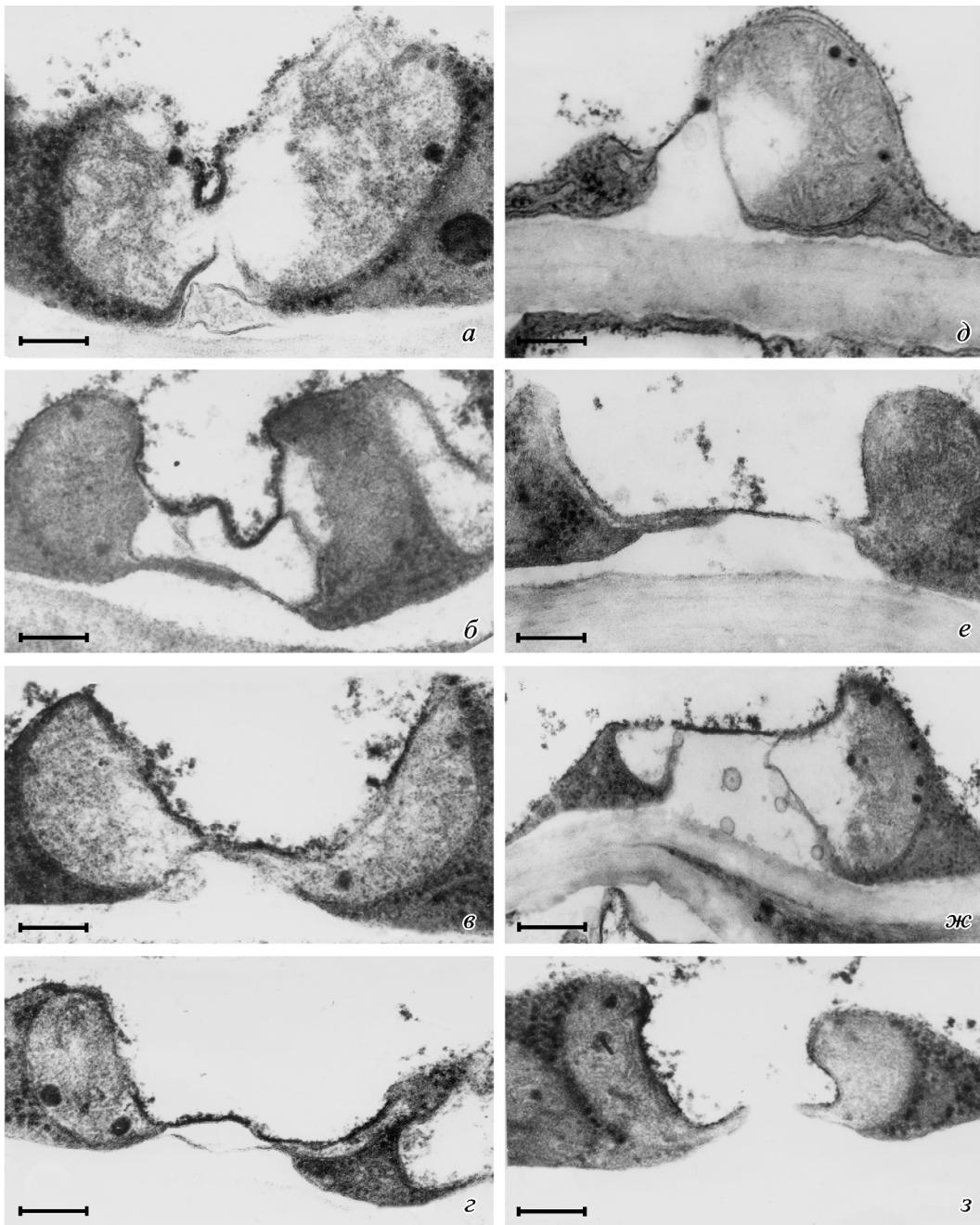


Рис. 2. Этапы формирования клапана в цитоплазме моторных клеток.

a—перетяжка митохондрии; *b*—*г*—слияние митохондриальных и клеточных мембран в единую пластину-клапан; *д*—*з*—разные степени раскрытия клапана вплоть до прямого соединения вакуолярного и апопластного пространств (*з*). Масштабные отрезки — 0,2 мкм.

Кроме того, в цитоплазме базальной клетки можно видеть скопления ЭПГ (рис. 4, *a*—*в*), которые были названы гранулярным комплексом (Semenova et al., 2010). Было сделано предположение о том, что составляющие комплекс гранулы могут быть микротрубочками в сжатом состоянии без просвета внутри. ЭПГ цитоплазмы моторных клеток также состоят из сжатых гранул с внутренним просветом (рис. 3, *б*). При этом продольных протяженных ракурсов микротрубочек, как это видно в цитоплазме железы, в цитоплазме моторных клеток не видно (рис. 3, *б*). Здесь предполагается, что ЭПГ, которые видны в виде гранулярного комплекса (рис. 4) или рассеяны диффузно

(рис. 3), могут представлять собой сократительные структуры, совершающие акты сжатия и растяжения.

На рис. 5 представлено большое увеличение участка цитоплазмы моторной клетки, примыкающего к клапану. Как видно, этот участок содержит не только ЭПГ в закрытом и открытом состояниях, но и пучок микрофиламентов, который вытянут вдоль цитоплазматического тяжа и примыкает непосредственно к оболочке митохондрии. Митохондрии всегда присутствуют вокруг сформированного клапана (рис. 2). По-видимому, и микрофиламенты, и митохондрии, и ЭПГ принимают непосредственное участие в акте сокращения (расслабления) моторных клеток.

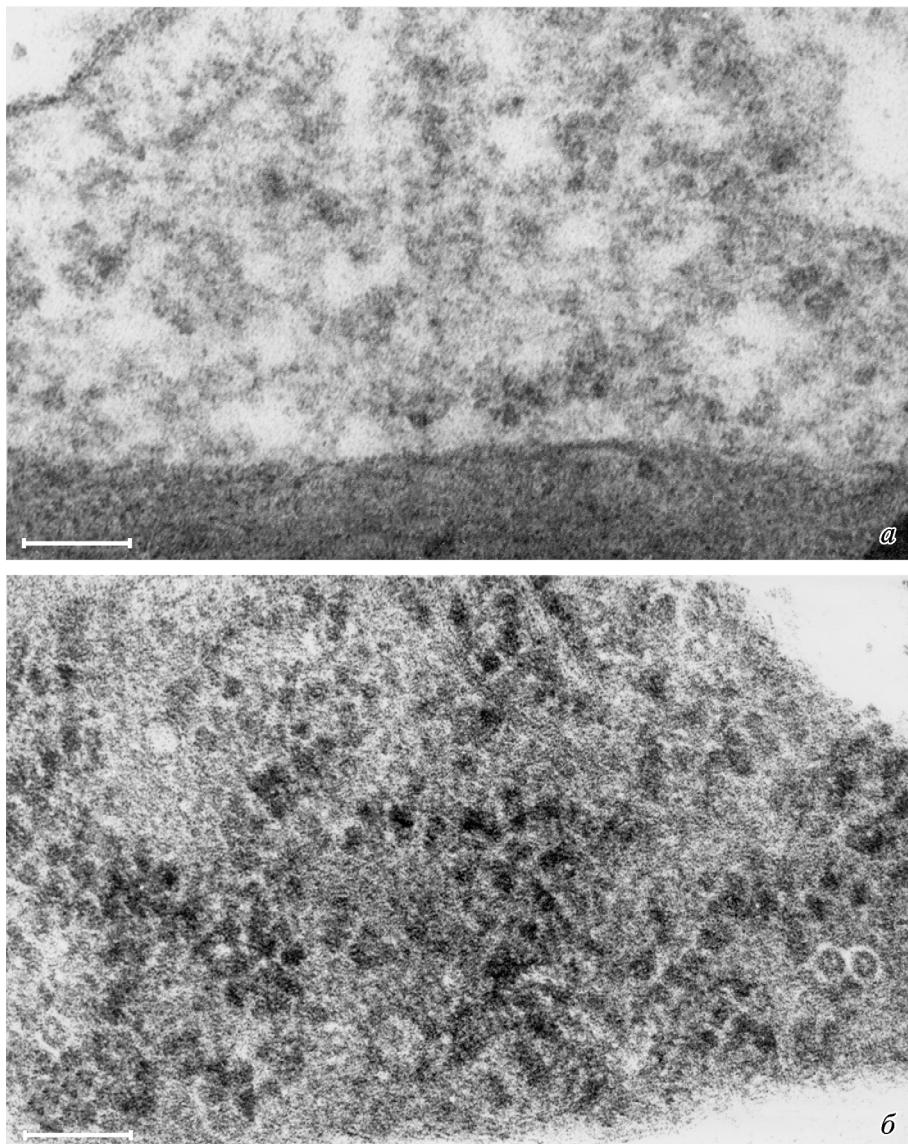


Рис. 3. Участок цитоплазмы клетки мезофилла (a) и моторной клетки (b). Видны различия как в плотности гиалоплазмы, так и в плотности и форме электронно-плотных гранул (ЭПГ). Масштабные отрезки — 0.1 мкм.

Обсуждение

Формирование столь сложной и специфической структуры, как клапан, видимо, является насущной необходимостью для жизнедеятельности растения. Перенос солей как ионными насосами, так и с помощью везикулярного транспорта через мембранны требует больших энергетических затрат (Гамалей, 2004). А с помощью клапана возможен вброс в апопластное пространство больших объемов единовременно.

Механизм работы клапана можно представить следующим образом. Клеточные стенки и цитоплазма моторных клеток изгибаются, сжимая их вакуолю. Движущей силой их сжатия и изгибаания могут быть процессы сокращения (расслабления) ЭПГ, плотность которых в цитоплазме моторных клеток очень велика. Сжатие объема вакуоли создает напор, который в месте расположения клапана приводит к образованию щели (или прямого входа), через которую и происходит залповый вброс водного

содержимого вакуоли в апопластное пространство. Затем происходит расслабление клеточных стенок, мембранныя пластина клапана возвращается в исходное состояние, и отверстие закрывается. Непрерывность клеточных мембран восстанавливается материалом липидных капель или мембранных везикул (рис. 2, a, з), которые обычно присутствуют рядом с клапаном.

При засухе, когда концентрация солей в водном потоке через сосуды ксилемы и по апопласту возрастает, объем моторных клеток сокращается, клапаны раскрываются, и происходит вброс большого объема воды в апопластное пространство вокруг солевой железы, разбавляя соли до нетоксичного уровня. По расчетам Дьяченко и Шабельникова (1985) при импульсном характере переноса может быть перемещено значительно больше вещества, чем при равномерном переносе.

Автор приносит благодарность проф. К. Я. Билю за предоставление растительного материала.

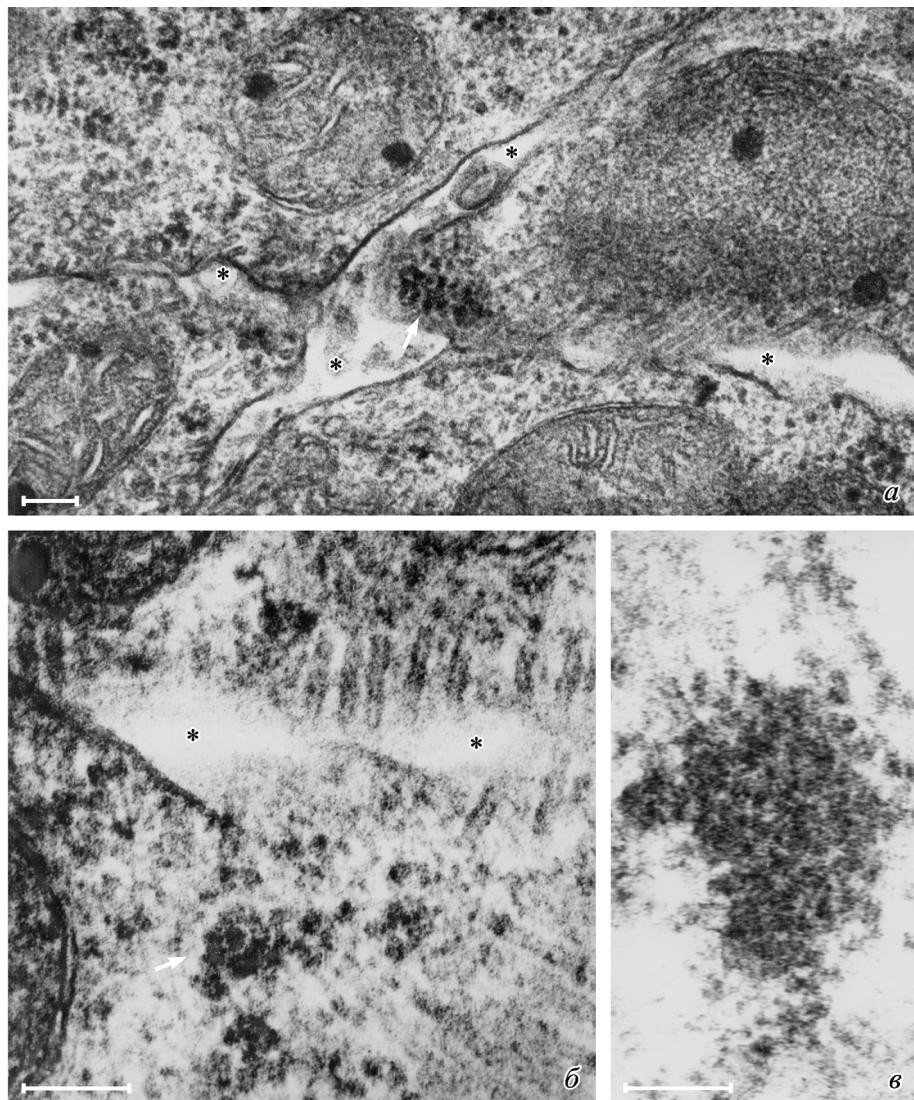


Рис. 4. Участок цитоплазмы базальной клетки солевой железы.

а — экстраплазматический канал (звездочки) и гранулярный комплекс (стрелка) в контакте с микротрубочками; *б*, *в* — микротрубочки и гранулярный комплекс соответственно при большом увеличении. Можно видеть формы сжатого и открытого состояний комплекса ЭПГ. Масштабные отрезки — 0,1 мкм.

Список литературы

Гамалей Ю. В. 1985. Вариации кранц-анатомии у растений пустынь Гоби и Каракумы. Бот. журн. 70 (10) : 1302—1313. (Yu. V. Gamalei. 1985. The variation of the kranz-anatomy in Gobi and Karakum plants. Bot. J. (Russia). 70 (10) : 1302—1313.)

Гамалей Ю. В. 2004. Транспортная система сосудистых растений. СПб.: Изд-во СПбГУ. 421 с. (Gamalei Yu. V. 2004. Transport system of vascular plants. St. Petersburg: St. Petersburg Univ. Press. 421 с.)

Дьяченко А. И., Шабельников В. Г. 1985. Математические модели действия гравитации на функции легких. В кн.: Проблемы космической биологии. М.: Наука. 8—279. (D'yachenko A. I., Shabelnikov V. G. 1985. Mathematical models of gravitation effects on lungs' functions. In: Problems of space biology. Moscow: Nauka. 8—279.)

Эзай К. 1980. Анатомия семенных растений. М.: Мир. 400 с. (Esau K. 1977. Anatomy of seed plants. New York: John Wiley & Sons. 576 p.)

Allakhverdiev S. I., Nishiyama Y., Miyara S., Miyairi S., Yamamoto H., Inagaki N., Kanesaki Yn., Murata N. 2002. Salt

stress inhibits the repair of photo-damaged photosystem II by suppressing the transcription and translation of *psh4* genes in *Synechocystis*. Plant Physiol. 130 : 1443—1453.

Amarasinghe V., Watson Z. 1988. Comparative ultrastructure of microhairs in grasses. Bot. J. Linn. Soc. 98 : 303—319.

Barhoumi Z., Djebali W., Abdelly Ch., Chaibi W., Smaoui A. 2008. Ultrastructure of *Aeluropus littoralis* leaf salt glands under NaCl stress. Protoplasma. 233 : 195—202.

Bell H. L., Columbus J. T. 2008. Prpososal for an expanded Distichlis (Poaceae, Chloridoideae): support from molecular, morphological, and anatomical characters. Systematic Bot. 33 : 536—551.

Campbell N., Thomson W. W., Platt K. 1974. The apoplastic pathway of transport to salt glands. J. Exptl. Bot. 25 : 61—69.

Carolin R. C., Jacobs S. W. L., Ves K. M. 1973. The structure of the cells of mesophyll and parenchymatous bundle sheath of the Graminae. Bot. J. Lin. Soc. 66 : 259—275.

Liphschitz N., Waisel Y. 1974. Existence of salt glands in various genera of the Gramineae. New Phytol. 73 : 507—513.

Oi T., Taniguchi M., Miyake H. 2012. Morphology and ultrastructure of the salt glands on the leaf surface of Rhodes grass (*Chloris gayana* Kunth). Int. J. Plant Sci. 173 : 454—463.

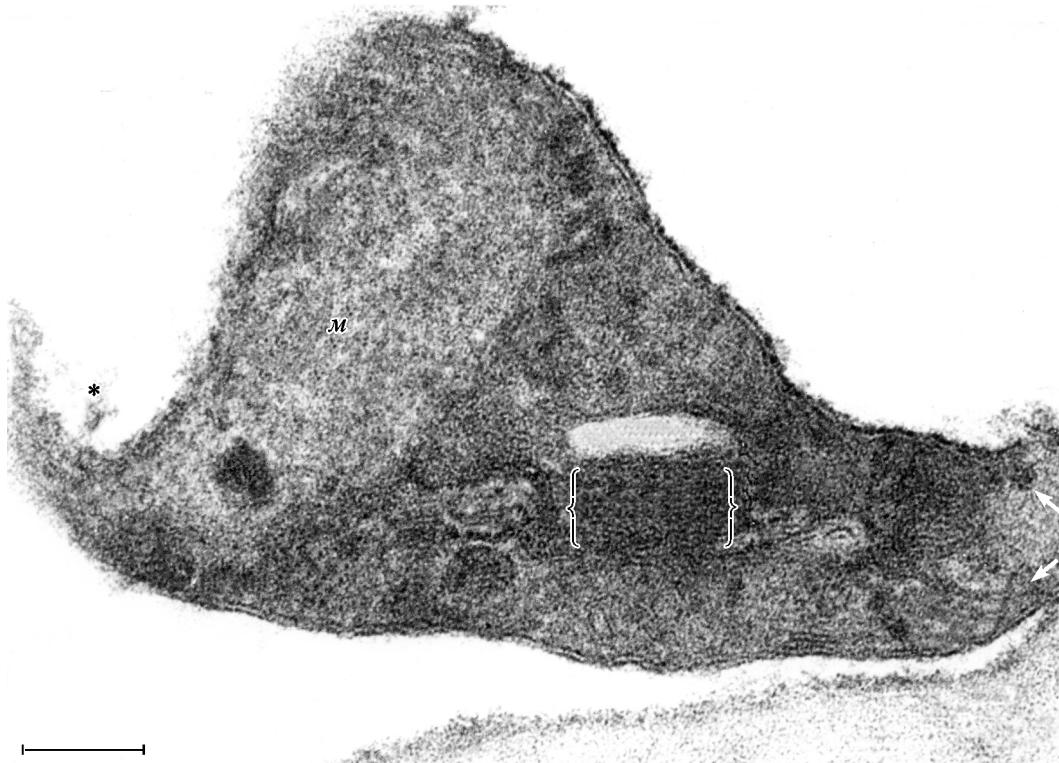


Рис. 5. Участок цитоплазмы рядом со сформированным клапаном (звездочка) при большом увеличении.

Стрелками показаны два состояния ЭПГ — сжатое (вверху) и развернутое (внизу). Пучок микрофиламентов показан фигурной скобкой, *m* — митохондрия. Масштабный отрезок — 0.1 мкм.

Oross J. W., Thomson W. W. 1982. The ultrastructure of the salt glands of *Cynodon* and *Distichlis* (Poaceae). Amer. J. Bot. 69 : 939—949.

Oross J. W., Thomson W. W. 1984. The ultrastructure of *Cynodon* salt glands: secreting and nonsecreting. Eur. J. Cell Biol. 34 : 287—291.

Semenova G. A., Fomina I. R., Biel K. Y. 2010. Structural features of the salt glands of the leaf of *Distichlis spicata* «Yensen 4a» (Poaceae). Protoplasma. 240 : 75—82.

Semenova G. A., Fomina I. R., Ivanov A. 2014. Combined effect of water deficit and salt stress on the structure of mesophyll cells in wheat seedlings. Cell Biol. 3 : 14—24.

Somaru R., Naidoo J., Naidoo G. 2002. Morphology and ultrastructure of the leaf salt glands of *Odyssea paucinevosis* (Stapf) (Poaceae). Flora. 197 : 67—75.

Thomson W. W., Faradey C. D., Oross J. W. 1988. Salt glands. In: Soluble transport in plant cells and tissues. London: Longman. 498—537.

Zhu J. K. 2002. Salt and drought stress signal transduction in Plants. Annu. Rev. Plant Biol. 53 : 247—273.

Поступила 14 V 2014

VALVE-LIKE STRUCTURES IN MOTOR CELLS OF THE LEAF OF *DISTICHLIS SPICATA* «YESEN 4A» (POACEAE)

G. A. Semenova

Institute of Theoretical and Experimental Biophysics RAS, Pushchino, Moscow region; e-mail: gals1041@rambler.ru

The salt gland of the leaf of *Distichlis* directly contacts the cells of interfascicular aquiferous parenchyma (motor cells). The cytoplasmic strand of motor cells produce deep invaginations, which form with the participation of mitochondria. The constriction of the cytoplasmic strand at the site of the localization of mitochondria leads to the fusion of the tonoplast and plasmalemma with mitochondrial membranes and the formation of a thin one-layer plate, a valve. At this locus, vacuolar and apoplast spaces are separated only by a valve. The cytoplasm of motor cells is filled with electron dense granules, which are considered as contractile elements. It is assumed that the cytoplasmic strand is involved in the reduction of the volume, which results in the generation of pressure on the valve. This leads to the direct throw-in of water into the apoplast space adjacent to the salt gland.

Key words: *Distichlis spicata*, ultrastructure, membrane valve, microtubes.