

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ КЛЕТОК МЕЗОФИЛЛА ЛИСТЬЕВ КОНТРАСТНЫХ ПО ТЕРМОУСТОЙЧИВОСТИ СОРТОВ *TRITICUM AESTIVUM* ПРИ ДЕЙСТВИИ КРАТКОВРЕМЕННЫХ ТЕМПЕРАТУРНЫХ СТРЕССОВ

© Л. М. Бабенко,¹ Н. Н. Щербатюк, Д. А. Климчук, И. В. Косаковская

Институт ботаники им. Н. Г. Холодного НАН Украины, Киев, 01601;

¹ электронный адрес: lilia.babenko@gmail.com

В настоящей работе проанализировано влияние повышенной (40 °С, 2 ч) и положительной низкой (4 °С, 2 ч) температур на ультраструктурную организацию клеток мезофилла листьев *Triticum aestivum*. Показано, что в строме хлоропластов жароустойчивого сорта Ятрань 60 гипотермия вызывала интенсивное образование пластоглобул и увеличение количества и размера крахмальных зерен. Зафиксировано разбухание митохондрий и уменьшение контрастности мембран крист. После гипертермии в митохондриях, которые имели линзовидную форму, наблюдалось формирование развитых крист. У морозоустойчивого сорта Володарка после гипертермии хлоропласты приобретали более округлую форму. Отмечены частичное нарушение целостности тилакоидных мембран, деформация ламелл стромы, уменьшение объема крахмальных зерен в строме хлоропластов и формирование в цитоплазме многочисленных липидных капель. Деструкции тилакоидных мембран не наблюдалось. Часть митохондрий имела овальную форму и близкие к контрольным размеры, однако около 30 % органелл приобретало «гантелевидную» форму. После гипотермии наблюдалось увеличение объема клеток и хлоропластов. Обсуждается роль ультраструктурных преобразований клеток и клеточных органелл листьев озимой пшеницы в связи с устойчивостью к температурному режиму.

Ключевые слова: *Triticum aestivum*, температурный стресс, хлоропласты, митохондрии, пластоглобулы, липидные капли.

Глобальное потепление, обусловленное техногенным воздействием и природными циклическими, космическими и геологическими процессами, сопровождается ростом амплитуды температурных колебаний, участвующими катастрофическими атмосферными явлениями и общим нарушением климатического равновесия (Meehl et al., 2007). Изменения климата, которые проявляются в сезонном перераспределении осадков и варьировании суммы эффективных температур, существенно влияют на реализацию жизненных стратегий живых организмов.

Температурный режим относится к ключевым факторам окружающей среды. Он определяет характер роста и развития растений (Larcher, 2003), влияет на их продуктивность (Barlow et al., 2015; Hatfield, Prueger, 2015). Влияние температуры проявляется на субклеточном, клеточном и анатомическом уровнях (Kratsch, Wise, 2000; Saropulos, Drennan, 2007; Hurkman, Wood, 2011). Фундаментальной моделью для изучения действия температурных стрессов является лист — орган, проявляющий фенотипическую пластичность под влиянием экстремальных внешних факторов (Кордум и др., 2003; Atkin et al., 2006). Влияние стрессовых температур на физиолого-биохимические реакции растений изучено достаточно детально (Hatfield, Prueger, 2015), тогда как ультраструктурные изменения, происходящие в растительных клетках при действии неблагоприятных температур, остаются малоисследованными, а полученные результаты носят фрагментарный и неоднозначный характер (Babenko

et al., 2014; Попов и др., 2016; Венжик и др., 2017). Преобразования в ультраструктуре клеток зависят от интенсивности и продолжительности действия температурного стресса, вида растения и его стрессоустойчивости (Кислюк и др., 2007; Salem-Fnayou et al., 2011; Попов и др., 2016). Более того, если кратковременное температурное воздействие имело локальный характер, ему подвергалось не все растение, а только его отдельные органы или части, то в этом случае происходили определенные функциональные изменения в органах и частях растения, которые непосредственно не испытывали воздействия неблагоприятной температуры (Veselova et al., 2003; Lee et al., 2004; Титов, Таланова, 2011; Венжик и др., 2017). Наиболее чувствительными к температурному стрессу среди клеточных органелл являются хлоропласты. Показано, что гипертермия вызывает изменения в морфологии органелл, размерах тилакоидов, гранальности хлоропластов листьев пшеницы (Кислюк и др., 2007, 2008; Salem-Fnayou et al., 2011), сопровождается накоплением пластоглобул (Кислюк и др., 2008). В других работах отмечено уменьшение количества крахмала в хлоропластах различных видов растений (Jin et al., 2011; Salem-Fnayou et al., 2011; Климчук и др., 2012). Среди реакций других клеточных органелл под действием высокой температуры отмечено уменьшение количества крист в митохондриях молодых листьев *Oryza sativa* (Pareek et al., 1997), в клетках корня *Zea mays* и *Valerianella locusta* снижалась электронная плотность матрикса митохондрий (Ciamporova,

Mistrik, 1993). В эндосперме *Zea mays* наблюдали изменения в морфологии ядра, электронной плотности нуклеоплазмы, отмечено появление ядрышек без гранулярного компонента (Commuri, Jones, 1999). В наших предыдущих исследованиях установлено появление электронноплотных глобул, ассоциированных с мембранами эндоплазматического ретикулума и цитоплазматической мембраной, а также увеличение количества липидных капель в цитоплазме клеток мезофилла листьев *Brassica campestris* var. *oleifera* и *Amaranthus caudatus* (Климчук и др., 2012). В отдельных исследованиях обнаружили усиленную пролиферацию каналов эндоплазматического ретикулума, ассоциированную с высоким уровнем рибосом, снижение толщины клеточной оболочки (Wallwork et al., 1998).

Низкая температура вызывала увеличение размера крахмальных зерен в хлоропластах разных видов растений (Kratsch, Wise, 2000; Климчук и др., 2011), а также нарушение гранальности хлоропластов табака (Попов и др., 2016). Показано также нарушение целостности мембран хлоропластов у чувствительных к холодовому стрессу растений кукурузы (Pinhero et al., 1999; Sopher et al., 1999), томатов, бобов и табака (Holaday et al., 1992; Bruggemann et al., 1994; Попов и др., 2016). В то же время у холодоустойчивых растений *Pisum sativum* и *Brassica oleracea* var. *acephala* (Wise et al., 1983; Wise, Naylor 1987), а также у шпината, озимой ржи и рапса (Holaday et al., 1992; Hurry et al., 1995) наблюдалось набухание пластид без нарушения целостности мембран.

Среди реакций других органелл на отрицательную температуру отмечено набухание митохондрий без нарушения целостности мембран оболочки с исчезновением системы крист у *Brassica napus* var. *oleifera* (Stefanowska et al., 2002), как и у *Arabidopsis thaliana*, cv. *Columbia* (Ristic, Ashworth, 1993), тогда как при 5 °C у того же вида другие авторы наблюдали уменьшение объема митохондрий (Armstrong et al., 2006). Такая разнообразная реакция клеточных органелл у растений при температурном стрессе подразумевает формирование разных стратегий выживания в условиях стресса (Mittler et al., 2001; Kosakivska et al., 2008).

Пшеница является второй в мире по объему сбора урожая сельскохозяйственной культурой, однако в связи с изменениями климата и неблагоприятными экологическими факторами до 50 % урожая этой культуры теряется (Reynolds et al., 2001; Моргун и др., 2009). Недавние исследования по воздействию экстремальных температур на пшеницу (*T. aestivum*) показали, что низкие температуры вызывали стерильность, в то время как следствием чрезмерного перегрева является уменьшение количества зерна и продолжительности периода его заполнения (Baglow et al., 2015).

В связи с приведенными выше данными целью настоящей работы стал анализ структурно-функциональных особенностей клеток листьев жаро- и морозоустойчивого сорта озимой пшеницы после кратковременного воздействия высокой (40 °C) и положительной низкой (4 °C) температур для выяснения возможной роли ультраструктурных перестроек в формировании адаптивной реакции.

Материал и методика

Культивирование растений. Опыты проводили с 14-суточными растениями озимой пшеницы жароустойчивого сорта Ятрань 60 и морозоустойчивого Во-

лодарка (Моргун и др., 2009). Семена, промытые в дистиллированной воде, переносили в чашки Петри на увлажненную раствором Кнопа фильтровальную бумагу, помещали на 1 сут в термостат, где они находились в темноте при 24 °C. Затем чашки Петри с проросшими семенами переносили в камеру искусственного климата при 24 °C, освещении 180 мкмоль/м²·с, фотопериоде 16/8 ч (день/ночь) на 14 сут. Для создания условий теплового и холодового стрессов 14-суточные растения подвергали кратковременному (2 ч) воздействию температур 40 °C и 4 °C при указанном режиме освещения.

Для электронно-микроскопических исследований использовали высечки, полученные из средней части второго листа размером 1 × 2 мм. Предварительно образцы фиксировали 2.5%-ным глутаральдегидом в 0.1 М кокадилатном буфере (pH 7.2) в условиях вакуумной инфильтрации при комнатной температуре (1 ч), затем при 4 °C в течение 4 ч. Образцы промывали в том же буфере и проводили постфиксацию 1%-ным раствором OsO₄ в 0.1 М кокадилатном буфере (pH 7.2) при 4 °C в течение 12 ч. Для обезвоживания использовали растворы этилового спирта возрастающей концентрации и после обработки ацетоном заливали смесь эпоксидных смол Эпона-812 и Аралдита. Срезы, полученные на ультрамикротоме LKB-3 (Швеция), анализировали на электронном микроскопе JEM-1230 (JEOL, Япония). Для проведения морфометрического анализа клеток и органелл использовали программу UTHSCSA Image Tool 3 (США), применяя масштабную линейку электронно-микроскопических изображений.

Статистическую обработку полученных данных проводили, используя программу Excel стандартного пакета Microsoft Office 2013. В каждом варианте анализировали изображения не менее 100 зафиксированных клеток. Достоверность различий оценивали по *t*-критерию Стьюдента с поправкой Бонферрони для множественного сравнения, используя 5%-ный уровень значимости.

Результаты и обсуждение

Клетки мезофилла листьев 14-суточных растений озимой пшеницы сорта Ятрань 60 имели удлинено-овальную форму. Внутреннее строение клеток было представлено слоем цитоплазмы с погруженными в нее органеллами и центральной вакуолью. Хлоропласты расположены вдоль плазмалеммы. На диаметральных срезах клеток мезофилла контрольных и подвергнутых кратковременным температурным стрессам растений в среднем обнаружили 10—12 хлоропластов (см. таблицу), расположенных преимущественно по периферии клеток. Внутренняя мембранная структура хлоропластов представлена тилакоидами стромы и гран. Тилакоиды в гранях плотно упакованы и равномерно распределены в виде стопок (рис. 1, а). После теплового стресса (рис. 1, б) хлоропласты приобретали округлую форму в отличие от линзовидной, характерной для органелл контрольного варианта. В строме хлоропластов в контроле обнаружили крахмальные зерна значительных размеров (рис. 1, а). После воздействия высокой температуры отмечали уменьшение размеров и электронной плотности крахмальных зерен (рис. 1, б; см. таблицу).

Хлоропласты в клетках растений, подвергнутых действию холодового стресса, отличались более вытянутой формой и большим размером (рис. 1, в; см. таблицу), что

Ультраструктурные показатели клеток мезофилла листьев *Triticum aestivum* сортов Ятрань 60 и Володарка

Показатель	Воздействие		
	нет (контроль)	40 °С, 2 ч	4 °С, 2 ч
Сорт Ятрань 60			
Площадь сечения клетки на диаметральном срезе, мкм ²	224.50 ± 15.33	217.41 ± 14.85	236.31 ± 16.14
Число хлоропластов на диаметральном срезе клетки	12.80 ± 0.61	12.64 ± 0.52	12.40 ± 0.66
Площадь среза хлоропласта, мкм ²	5.91 ± 0.25	5.83 ± 0.21	6.44 ± 0.32
Количество крахмальных зерен на диаметральном срезе хлоропласта	5.12 ± 0.23	4.55 ± 0.25	8.44 ± 0.23
Площадь среза крахмального зерна, мкм ²	0.22 ± 0.02	0.18 ± 0.02	0.32 ± 0.04 ^a
Количество пластоглобул на диаметральном срезе в строме одного хлоропласта	5.44 ± 0.50	6.68 ± 0.69 ^a	20.68 ± 1.50 ^a
Количество митохондрий на диаметральном срезе клетки	6.32 ± 0.28	6.44 ± 0.27	6.28 ± 0.27
Площадь среза митохондрий, мкм ²	0.19 ± 0.01	0.24 ± 0.02 ^a	0.20 ± 0.01
Количество липидных капель в цитоплазме на диаметральном срезе клетки	0.52 ± 0.14	0.60 ± 0.17	0.56 ± 0.18
Сорт Володарка			
Площадь сечения клетки на диаметральном срезе, мкм ²	220.35 ± 16.09	211.99 ± 16.32	264.22 ± 7.85 ^a
Число хлоропластов на диаметральном срезе клетки	12.93 ± 0.78	12.80 ± 0.74	12.87 ± 0.62
Площадь среза хлоропласта, мкм ²	5.45 ± 0.35	5.39 ± 0.33	6.54 ± 0.32 ^a
Площадь крахмального зерна на диаметральном срезе хлоропласта, мкм ²	0.73 ± 0.04	0.71 ± 0.06	0.62 ± 0.04 ^a
Количество митохондрий на диаметральном срезе клетки	6.13 ± 0.29	6.20 ± 0.47	6.33 ± 0.41
Площадь среза митохондрий, мкм ²	0.15 ± 0.01	0.16 ± 0.03	0.18 ± 0.01 ^a
Количество липидных капель на диаметральном срезе клетки	0.40 ± 0.13	4.47 ± 0.31 ^a	2.07 ± 0.43 ^a

Примечание. Данные представлены в виде среднего и стандартного отклонения по подсчетам не менее 100 листьев. ^a Отличие от контроля при $P \leq 0.05$.

может быть обусловлено увеличением гидратированности тканей вследствие уменьшения уровня транспирации. Заметных разрушений внутренних мембран тилакоидов не зафиксировано. В хлоропластах наблюдалось увеличение количества и размеров крахмальных зерен (см. таблицу). Выявленные изменения могут быть связаны с нарушениями в системе оттока ассимилятов (сахарозы) в условиях низкой температуры. Кратковременное действие низкой температуры привело к появлению в строме хлоропластов многочисленных пластоглобул (рис. 1, в; см. таблицу). Их количество значительно превышало численность, отмеченную после действия высокой температуры и в контроле. Увеличение числа пластоглобул в хлоропластах относится к неспецифическим реакциям, поскольку проявляется при действии различных стрессоров (Brehelin et al., 2007; Salem-Fnayou et al., 2011). Протеомные и ультраструктурные исследования пластоглобул свидетельствуют об их роли в стабилизации тилакоидных мембран при окислительных повреждениях при стрессе, они являются местом хранения липидоподобных веществ (таких как каротиноиды, токоферол, пластохинон) и специфичных для пластоглобул белков с энзимными и структурными функциями (Austin et al., 2006; Vidi et al., 2006). Образование большого количества пластоглобул указывает на возможные метаболические нарушения, что согласуется с особенностями сорта Ятрань 60, способного выдерживать значительную гипертермию, но чувствительного к низким температурам.

Митохондрии в клетках мезофита листьев 14-суточных растений сорта Ятрань 60 были преимущественно овальной формы (рис. 1, з, д). Митохондрии в клетках растений после действия высокой температуры сохраняли

овальную форму, характеризовались электронно-плотным матриксом и многочисленными развитыми кристами, что объясняется возрастающими потребностями в АТФ при гипертермии. Возрастало также их количество по сравнению с контролем (рис. 1, б). При действии положительной низкой температуры, напротив, митохондрии заметно «разбухали», становились округлыми, при этом мембраны крист становились менее контрастными (рис. 1, в).

Форма митохондрий является высокодинамичным структурным показателем (Van Gestel, Verbelen, 2002; Logan, 2010). У теплолюбивых растений ее изменение сопровождается исчезновением крист, что рассматривается в качестве симптома повреждения (Krasch, Wise, 2000), у холодостойких растений изменение формы митохондрий носит обратимый характер (Yu et al., 2011; Vella et al., 2012). Предполагается, что изменение форм митохондрий способствует увеличению площади их поверхности и облегчает обмен метаболитами с цитоплазмой (Yu et al., 2011; Vella et al., 2012). В работах других авторов показано, что увеличение размеров митохондрий при кратковременном стрессе свидетельствует о повышении дыхательной способности растений (Armstrong et al., 2006; Венжик и др., 2017). Однако при длительном охлаждении растений не зафиксировано увеличения размеров митохондрий, но отмечено увеличение их количества (Венжик и др., 2017).

Клетки мезофилла листьев 14-суточных растений морозоустойчивого сорта Володарка имели удлиненно-овальную форму и достаточно однородную толщину клеточных стенок (рис. 2, а). Тилакоиды гран хлоропластов в клетках мезофилла контрольных растений были хорошо развиты и плотно прилегали друг к другу. Наблюдалось равномерное расположение гран в строме хлоропласта.

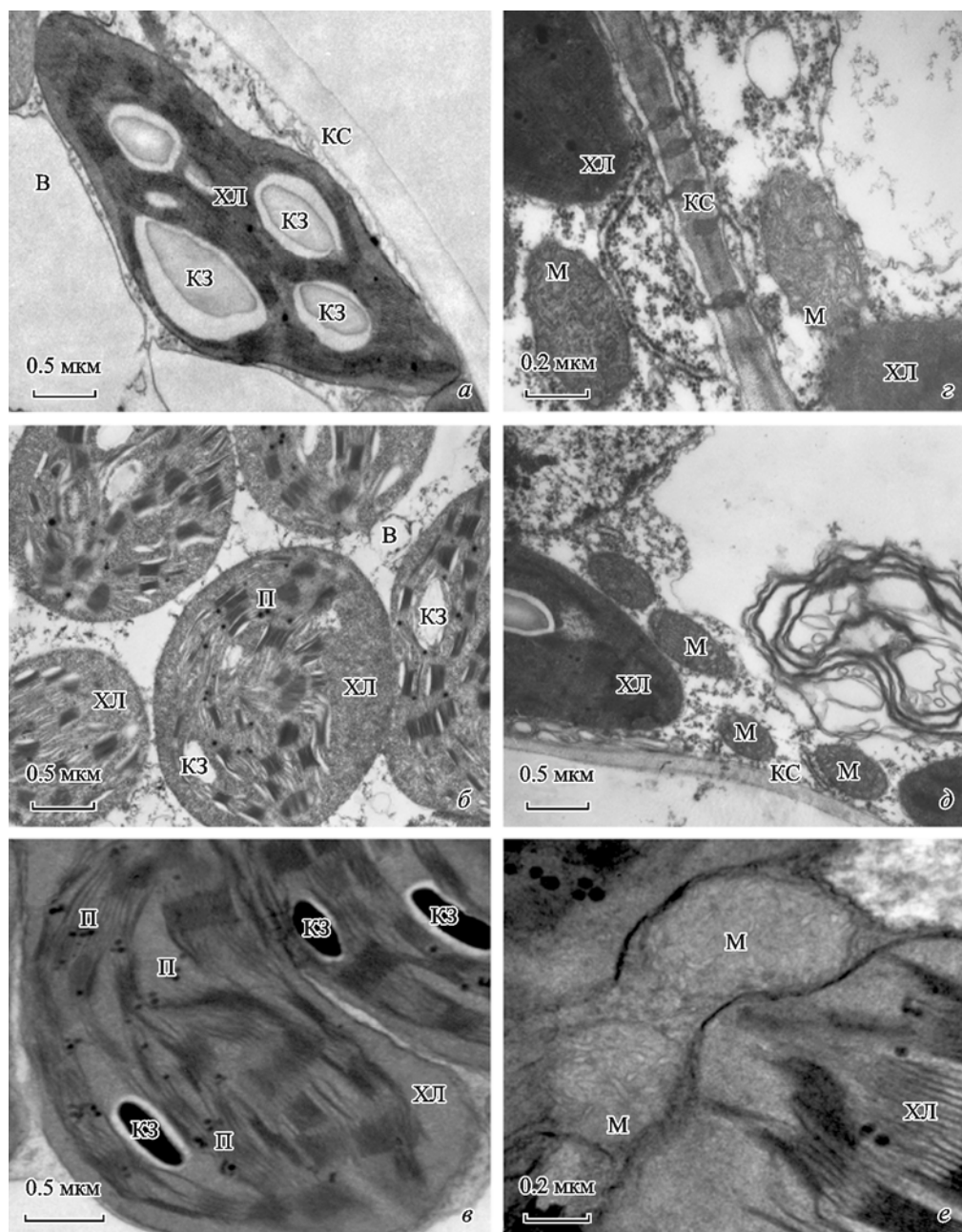


Рис. 1. Особенности ультраструктурной организации клеток мезофила листьев *Triticum aestivum* сорта Ятрань 60 без температурного воздействия (а, з), после гипер- (б, д) и гипотермии (в, е).

ХЛ — хлоропласт, КЗ — крахмальное зерно, КС — клеточная стенка, В — вакуоль, П — пластоглобула, М — митохондрия. Масштабные отрезки — 0.5 (а, б, в, д) и 0.2 (з, е) мкм.

В строме присутствовали крахмальные зерна со средним размером 0.73 ± 0.04 мкм² (рис. 2, а, з; см. таблицу). Цитоплазма клеток после гипертермии содержала в среднем 4—5 липидных капель на клеточный срез по сравнению с 1 каплей на два среза клеток в контрольном варианте (см. таблицу). После действия высокой температуры хлоропласты приобретали более округлую форму, граны неравномерно распределялись в строме, тилакоидные мембраны были частично разрушены (рис. 2, б). Деформировались также ламеллы стромы, обеспечивающие межгранальные соединения. После гипертермии существенных изменений в количестве и объеме крахмальных зерен по сравнению с контролем не отмечено (рис. 2, б; см. таблицу).

Митохондрии в клетках мезофила листьев 14-суточных проростков сорта Володарка в контрольных условиях (рис. 2, з) имели преимущественно овальную форму и развитую систему крист пластинчатого типа. После действия высокой температуры органеллы имели тенденцию к округлению, матрикс стал более электронно-плотным, расстояние между кристами возросло (рис. 2, б, д). Такая реорганизация мембранной системы митохондрий в условиях гипертермии косвенно свидетельствует о значительных изменениях в энергетическом балансе клетки (Vella et al., 2012). Площадь сечения этих органелл имела близкие значения с контрольными (см. таблицу). При кратковременной гипотермии часть митохондрий имела оваль-

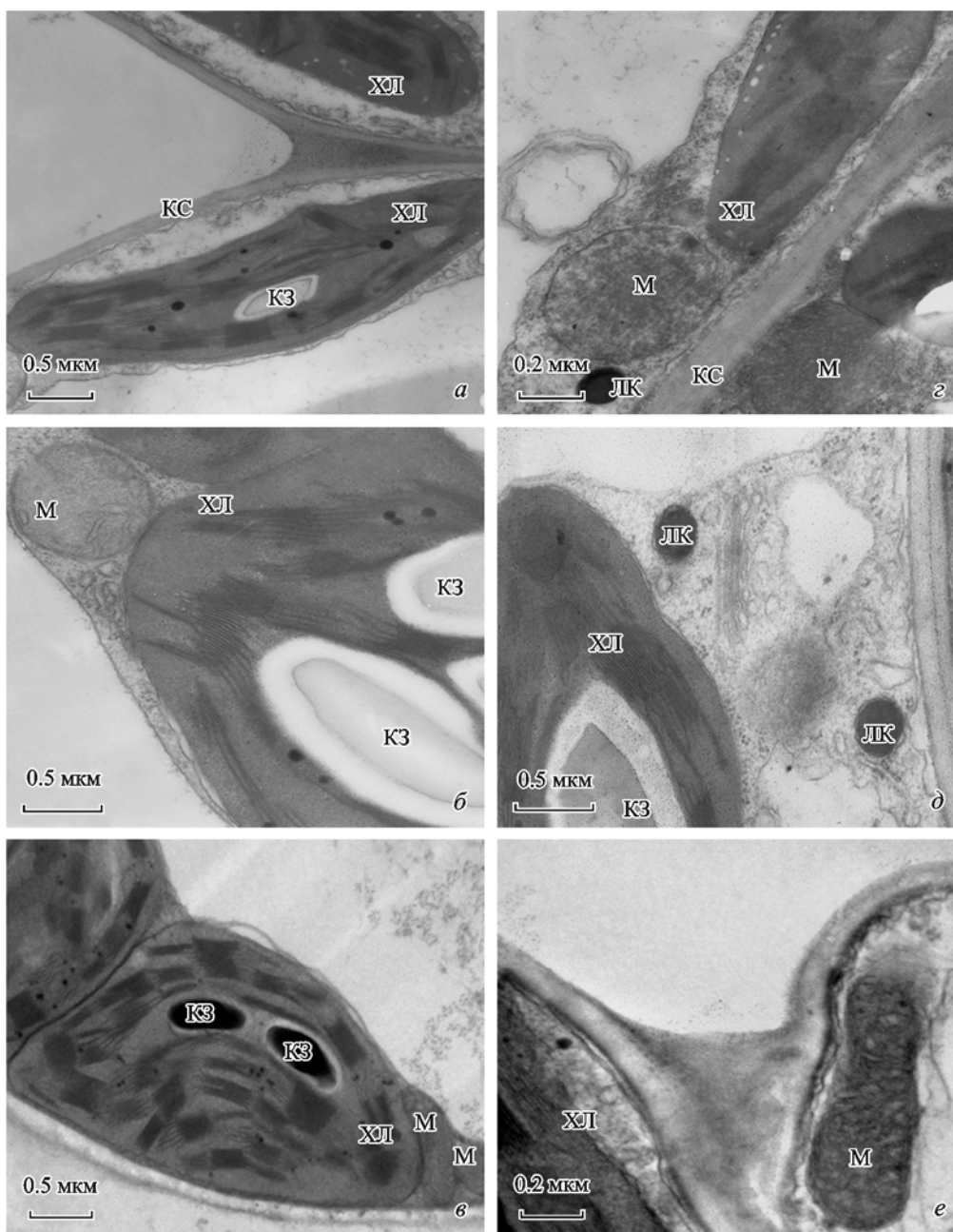


Рис. 2. Особенности ультраструктурной организации клеток мезофилла листьев *Triticum aestivum* сорта Володарка без температурного воздействия (а, с), после гипер- (б, д) и гипотермии (е, е).

Обозначения те же, что и на рис. 1. Масштабные отрезки — 0.5 (а, б, в, д) и 0.2 (з, е) мкм.

ную форму и близкие к контрольным образцам размеры, однако около 30 % органелл приобретали вытянутую «гантелевидную» форму (рис. 2, в, е). Площадь среза таких митохондрий, локализованных вдоль плазмалеммы и хлоропластов, составляла 0.26—0.30 мкм².

У холодостойких растений, таких как арабидопсис или пшеница, изменение формы митохондрий на вытянутую «гантелевидную» или даже «чашевидную» носит обратимый характер (Yu et al., 2011; Vella et al., 2012). Предполагается, что такая форма органелл способствует увеличению площади их поверхности и облегчает обмен метаболитами с цитоплазмой (Yu et al., 2011; Vella et al., 2012). Кратковременная гипотермия не приводила к существенным ультраструктурным изменениям в хлоропла-

стах (рис. 2, в). Не отмечали деструкции мембран тилакоидов хлоропластов, однако зафиксировали увеличение объема этих клеточных органелл, так же как и общего объема клеток (см. таблицу). Свидетельством устойчивости сорта Володарка к низким температурам является уменьшение объема крахмала в строме хлоропластов (см. таблицу), что связано с мобилизацией полисахарида для обеспечения энергетических потребностей клеток в условиях холода (Климчук и др., 2011). В свою очередь кратковременная гипертермия вызвала деструкцию тилакоидных мембран хлоропластов и образование значительного количества липидных капель в цитоплазме. Подобные эффекты гипертермии на структуру хлоропластов и накопление липидных капель в цитоплазме наблю-

дались нами ранее в листьях *Brassica campestris* var. *oleifera* и *Amaranthus caudatus* (Kosakivska et al., 2008; Климчук и др., 2012). В работах других авторов сообщалось также о том, что высокая температура и засуха вызывали накопление липидных капель и уменьшение количества крахмала в хлоропластах пшеницы (Vassileva et al., 2011). В частности, у *Rosmarinus officinalis* в условиях засухи наблюдалось значительное набухание внешней мембраны оболочки митохондрий и изменения в строении межгранулярной ламеллярной системы хлоропластов (Olmos et al., 2007). Выявленные изменения ультраструктуры хлоропластов и митохондрий листьев различных по термостойкости сортов озимой пшеницы в условиях высокотемпературного стресса имели специфический характер. Так, органеллы засухоустойчивого сорта сохраняли микроструктуру лучше, чем чувствительного (Grigoreva et al., 2012). Высокотемпературный стресс подавляет прежде всего фотосинтез, что соответственно сопровождается изменениями ультраструктуры хлоропластов (Velikova et al., 2009). По мнению авторов, уменьшение количества крист в митохондриях при гипо- и гипертермии, засухе связано с сокращением выработки энергии и способствует задержке роста, которая обычно сопровождается стрессовыми условиями (Сямрогова, Мистрик, 1993). Ранее нами показано, что формирование многочисленных липидных капель в клетках мезофила листа озимой пшеницы сорта Володарка в ответ на гипертермию происходит на фоне повышенной активности липоксигеназы — ключевого фермента метаболизма полиненасыщенных жирных кислот (Babenko et al., 2014).

В целом настоящая работа свидетельствует о том, что в зависимости от типа температурного воздействия в клетках растений реализуются различные адаптивные программы, которые сопровождаются комплексом ультраструктурных изменений. Адаптация растений жаростойкого сорта *T. aestivum* Ятрань 60 к условиям гипотермии сопровождается увеличением количества и размеров крахмальных зерен и количества пластоглобул в строении хлоропластов клеток мезофила листка. В митохондриях при гипотермии происходило разбухание органелл и кристы в них становились менее контрастными. При гипертермии в хлоропластах уменьшались количество и размеры крахмальных зерен, митохондрии при кратковременном тепловом воздействии, сохраняя овальную форму, характеризовались электронно-плотным матриксом и многочисленными развитыми кристами. В условиях гипертермии в строении хлоропластов мезофила листьев морозоустойчивого сорта Володарка происходило уменьшение объема крахмальных зерен, в цитоплазме формировались многочисленные липидные капли, наблюдались частичное разрушение тилакоидных мембран и деформирование ламелл стромы. Гипотермия вызывала увеличение объема хлоропластов и общего объема клеток, однако деструкция тилакоидных мембран хлоропластов не была зафиксирована. Благодаря таким адаптивным изменениям растения способны успешно переносить кратковременное воздействие стрессовых температур в период активной вегетации, т. е. в период, когда они к этому наиболее чувствительны.

Работа выполнена в рамках проекта «Фитогормональная система новых генотипов *Triticum aestivum* L. и ее диких предков при воздействии экстремальных климатических факторов» при финансовой поддержке Национальной академии наук Украины.

Список литературы

- Венжик Ю. В., Титов А. Ф., Таланова В. В. 2017. Кратковременное охлаждение проростков или корней пшеницы вызывает изменения в ультраструктуре клеток мезофила листа. Тр. Карельского научного центра РАН. 5 : 66—78. (Venzhik Yu. V., Titov A. F., Talanova V. V. 2017. Short-term chilling of wheat seedlings or roots affects the ultrastructure of mesophyll cells. Trudy Karelskogo nauchnogo tsentra RAN. 5 : 66—78.)
- Кислюк И. М., Буболо Л. С., Быков О. Д., Каменцева И. Е., Шерстнева О. А. 2008. Защитное и повреждающее действие видимого света на фотосинтетический аппарат пшеницы при гипертермии. Физиол. раст. 55 (5) : 613—621. (Kislyuk I. M., Bubolo L. S., Bykov O. D., Kamentseva I. E., Sherstneva O. A. 2008. Protective and injuring action of visible light on photosynthetic apparatus in wheat plants during hyperthermia treatment. Russ. J. Plant Physiol. 55 (5) : 613—621.)
- Кислюк И. М., Буболо Л. С., Каменцева И. Е., Котлова Е. Р., Шерстнева О. А. 2007. Тепловой шок увеличивает терморезистентность фотосинтетического транспорта электронов, количество мембран и липидов в хлоропластах листьев пшеницы. Физиол. раст. 54 (4) : 456—463. (Kislyuk I. M., Bubolo L. S., Kamentseva I. E., Kotlova E. R., Sherstneva O. A. 2007. Heat shock increases thermotolerance of photosynthetic electron transport and the content of chloroplast membranes and lipids in wheat leaves. Russ. J. Plant Physiol. 54 (4) : 456—463.)
- Климчук Д. О., Косаківська І. В., Акімов Ю. М., Щербатюк М. М., Воробйова Т. В. 2011. Структурно-функціональні особливості листків суріпці озимої та ширіці хвостатої за умов короткочасної дії низької позитивної температури. Вісник Харків. нац. аграрн. ун-ту. Сер. біол. 3 (24) : 15—24. (Klymchuk D. O., Kosakivska I. V., Akimov Yu. M., Shcherbatyuk M. M., Vorobyova T. V. 2011. Structure-functional peculiarities of brassica campestris and amarantus caudatus leaf cells under low positive temperature. Biull. Kharkiv Nat. Agrar. Univ. (Ser. Biol.). 3 (24) : 15—24.)
- Климчук Д. О., Косаківська І. В., Акімов Ю. М., Щербатюк М. М., Воробйова Т. В. 2012. Структурно-функціональні особливості листків клітин суріпці озимої та ширіці хвостатої за умов короткочасної дії високої температури. Вісник Харків. нац. аграрн. ун-ту. 2 (26) : 61—70. (Klymchuk D. O., Kosakivska I. V., Akimov Yu. M., Shcherbatyuk M. M., Vorobyova T. V. 2012. Structure-functional peculiarities of brassica campestris and amarantus caudatus leaf cells under high temperature. Biull. Kharkiv Nat. Agrar. Univ. (Ser. Biol.). 2 (26) : 61—70.)
- Кордюм Е. Л., Сытник К. М., Бараненко В. В., Белявская Н. А., Климчук Д. А., Недуха Е. М. 2003. Клеточные механизмы адаптации растений к неблагоприятным воздействиям экологических факторов в естественных условиях. Киев: Наук. думка. 282 с. (Kordyum E. L., Sytnik K. M., Baranenko V. V., Belyavskaya N. A., Klymchuk D. A., Nedukha E. M. 2003. Cellular mechanisms of plant adaptation to adverse effects of environmental factors in natural conditions. Kyiv: Nauk. Dumka. 282 p.)
- Моргун В. В., Санин Е. В., Швартау В. В. 2009. Клуб 100 центнеров. Сорта и технологии выращивания высоких урожаев озимой пшеницы. Киев: Логос. 87 с. (Morgun V. V., Sanin E. V., Shvartau V. V. 2009. The club has 100 centners. Varieties and technologies of cultivation of high harvests of winter wheat. Kyiv: Logos. 87 p.)
- Попов В. Н., Антипина О. В., Астахова Н. В. 2016. Изменения ультраструктуры хлоропластов растений табака в процессе защиты от окислительного стресса при гипотермии. Физиол. раст. 63 (3) : 301—307. (Popov V. N., Antipina O. V., Astakhova N. V. 2016. Changes in chloroplast ultrastructure of tobacco plants in the course of protection from oxidative stress under hypothermia. Russ. J. Plant Physiol. 63 (3) : 301—307.)
- Титов А. Ф., Таланова В. В. 2011. Локальное действие высоких и низких температур на растения. Петрозаводск: Карельский научный центр РАН. 166 с. (Titov A. F., Talanova V. V. 2011. The local effect of high and low temperatures on plants. Petrozavodsk: Karel'skiy Nauchnyy Tsentr RAN. 166 p.)

- Armstrong A. F., Logan D. C., Tobin A. K., O'Toole P., At-kin O. K. 2006. Heterogeneity of plant mitochondrial responses underpinning respiratory acclimation to the cold in *Arabidopsis thaliana* leaves. *Plant Cell Environ.* 29 : 940—949.
- Akin O. K., Loveys B. R., Atkinson L. J., Pons T. L. 2006. Phenotypic plasticity and growth temperature: understanding interspecific variability. *J. Exp. Bot.* 57 : 267—281.
- Austin J. R., Frost E., Vidi P. A., Kessler F., Staehelin L. A. 2006. Plastoglobules are lipoprotein subcompartments of the chloroplast that are permanently coupled to thylakoid membranes and contain biosynthetic enzymes. *Plant Cell.* 18 : 1693—1703.
- Babenko L. M., Kosakivska I. V., Akimov Yu. A., Klymchuk D. O., Skaternya T. D. 2014. Effect of temperature stresses on pigment content, lipoxigenase activity and cell ultrastructure of winter wheat seedlings. *Genet. Plant Physiol.* 4 : 117—125.
- Barlow K. M., Christy B. P., O'Leary G. J., Riffkin P. A., Nuttall J. G. 2015. Simulating the impact of extreme heat and frost events on wheat crop production: a review. *Field Crops Res.* 171 : 109—119.
- Brehelin C., Kessler F., Van Wijk K. 2007. Plastoglobules: versatile lipoprotein particles in plastids. *Trends Plant Sci.* 12 : 260—265.
- Brüggemann W., Klaucke S., Maas-Kantel K. 1994. Long-term chilling of young tomato plants under low light. V. Kinetic and molecular properties of two key enzymes of the Calvin cycle in *Lycopersicon esculentum* Mill. and *L. peruvianum* Mill. *Planta.* 194 : 160—168.
- Ciamporova M., Mistrik I. 1993. The ultrastructural response of root cells to stressful conditions. *Environ. Exp. Bot.* 33 : 11—26.
- Commuri P. D., Jones R. J. 1999. Ultrastructural characterization of maize (*Zea mays* L.) kernels exposed to high temperature during endosperm cell division. *Plant Cell Environ.* 22 : 375—385.
- Grigorova B., Vassileva V., Klymchuk D., Vaseva I., Demirevska K., Feller U. 2012. Ultrastructural responses of leaf mitochondria and chloroplasts of wheat plants exposed to drought, high temperature and their combination. *J. Plant Interact.* 7 : 204—213.
- Hatfield J., Prueger J. 2015. Temperature extremes: effect on plant growth and development. *Weather and Climate Extremes.* 10 : 4—10.
- Holaday A. S., Martindale W., Alred R. 1992. Changes in activities of enzymes of carbon metabolism in leaves during exposure of plants to low temperature. *Plant Physiol.* 98 : 1105—1114.
- Hurkman W. J., Wood D. F. 2011. High temperature during grain fill alters the morphology of protein and starch deposits in the starchy endosperm cells of developing wheat (*Triticum aestivum* L.) grain. *J. Agric. Food Chem.* 59 : 4938—4946.
- Hurry V. M., Strand A., Tobi?son M. 1995. Cold hardening of spring and winter wheat and rape results in differential effects on growth, carbon metabolism, and carbohydrate content. *Plant Physiol.* 109 : 697—706.
- Jin B., Wang L., Wang J., Jiang K. Z., Wang Y., Jiang X. X., Ni C. Y., Wang Y. L., Teng N. J. 2011. The effect of experimental warming on leaf functional traits, leaf structure and leaf biochemistry in *Arabidopsis thaliana*. *BMC Plant Biol.* 11 : 35—45.
- Kosakivska I. V., Klymchuk D. O., Negretzky V. A., Bluma D. A., Ustinova A. Yu. 2008. Stress proteins and ultrastructural characteristics of leaf cells in plants with different types of ecological strategies. *Gen. Appl. Plant Physiol.* 34 : 405—418.
- Kratsch H. A., Wise R. R. 2000. The ultrastructure of chilling stress. *Plant Cell Environ.* 23 : 337—350.
- Larcher W. 2003. *Physiological plant ecology.* Berlin; Heidelberg; New York: Springer. 513 p.
- Lee S. H., Singh A. D., Chung G. C., Ahn S. J., Noh E. K., Stendie E. 2004. Exposure of roots of cucumber (*Cucumis sativus*) to low temperature severely reduced root pressure, hydraulic conductivity and active transport of nutrients. *Physiol. Plant.* 120 : 413—422.
- Logan D. C. 2010. Mitochondrial fusion, division and positioning in plants. *Biochem. Soc. Trans.* 38 : 789—795.
- Meehl G. A., Stocker T. F., Collins W. D., Gaye A. J., Gregory J. M., Kitoh A., Knutti R. 2007. *Global climate projections.* Cambridge, U. K.; New York: Cambridge Univ. Press. 349 p.
- Mittler R., Merquiol E., Hallak-Herr E., Rachmilevitch S., Kaplan A., Cohen M. 2001. Living under a 'dormant' canopy: a molecular acclimation mechanism of the desertplant *Retama raetam*. *Plant J.* 25 : 407—416.
- Olmos E., Sánchez-Blanco M. J., Ferrández T., Alarcón J. J. 2007. Subcellular effects of drought stress in *Rosmarinus officinalis*. *Plant Biol.* 9 : 77—84.
- Pareek A., Singla S., Grover A. 1997. Short-term salinity and high temperature stress-associated ultrastructural alterations in young leaf cells of *Oryza sativa* L. *Ann. Bot.* 80 : 629—639.
- Pinhero R. G., Paliyath G., Yada R. Y., Murr D. P. 1999. Chloroplast membrane organization in chilling-tolerant and chilling-sensitive maize seedlings. *J. Plant Physiol.* 155 : 691—698.
- Reynolds M., Ortiz-Monasterio J., McNab A. 2001. Application of physiology in wheat breeding. Mexico, D. F.: Cimmyt. 491 p.
- Ristic Z., Ashworth E. 1993. Changes in leaf ultrastructure and carbohydrates in *Arabidopsis thaliana* L. (Heynh) cv. Columbia during rapid cold acclimation. *Protoplasma.* 172 : 111—123.
- Salem-Fnayou A. B., Bouamama B., Ghorbel A., Mliki A. 2011. Investigations on the leaf anatomy and ultrastructure of grapevine (*Vitis vinifera*) under heat stress. *Microsc. Res. Tech.* 74 : 756—762.
- Saropulos A. S., Drennan D. S. H. 2007. Ultrastructural alterations in mesophyll and bundle sheath chloroplasts of two maize cultivars in response to chilling at high irradiance. *Biol. Plant.* 51 : 690—698.
- Sopher C. R., Krol M., Huner N. P. A. 1999. Chloroplastic changes associated with paclobutrazol-induced stress protection in maize seedlings. *Can. J. Bot.* 77 : 279—290.
- Stefanowska M., Kura M., Kacperska A. 2002. Low temperature induced modifications in cell ultrastructure and localization of phenolics in winter oilseed rape (*Brassica napus* L. var. oleifera) leaves. *Annu. Bot.* 90 : 637—645.
- Van Gestel K., Verbelen J. P. 2002. Giant mitochondria a response to low oxygen pressure in cells of tobacco (*Nicotiana tabacum* L.). *J. Exp. Bot.* 53 : 1215—1218.
- Vassileva V., Signarbieux C., Anders I., Feller U. 2011. Genotypic variation in drought stress response and subsequent recovery of wheat (*Triticum aestivum* L.). *J. Plant Res.* 124 : 147—154.
- Velikova V., Tsonev T., Barta C., Centritto M., Koleva D., Stefanova M., Busheva M., Loreto F. 2009. BVOC emissions, photosynthetic characteristics and changes in chloroplast ultrastructure of *Platanus orientalis* L. exposed to elevated CO₂ and high temperature. *Environ. Pollut.* 157 : 2629—2637.
- Vella G. F., Joss T. V., Roberts T. H. 2012. Chilling-induced ultrastructural changes to mesophyll cells of *Arabidopsis* grown under short days are almost completely reversible by plant re-warming. *Protoplasma.* 249 : 1137—1149.
- Veselova S., Farhutdinov R., Mitrichenko A., Symonyan M., Hartung W. 2003. The effect of root cooling on hormone content and root hydraulic conductivity of durum wheat seedlings (*Triticum durum* L.). *Bulg. J. Plant Physiol. Special Issue* : 360—366.
- Vidi P. A., Kanwischer M., Baginsky S., Austin J. R., Csucs G., Dormann P., Kessler F., Breheine C. 2006. Tocopherol cyclase (VTE1) localization and vitamin E accumulation in chloroplast plastoglobule lipoprotein particles. *J. Biol. Chem.* 281 : 11 225—11 234.
- Wallwork M. A. B., Lenner C. F., Logue S. J., Sedgley M. 1998. Effect of high temperature during grain-filling on the structure of developing and malted barley grains. *Annals of Bot.* 82 : 587—599.
- Wise R. R., McWilliam J. R., Naylor A. W. 1983. A comparative study of low-temperature-induced ultrastructural alterations of three species with differing chilling sensitivities. *Plant Cell Environ.* 6 : 525—535.
- Wise R. R., Naylor A. W. 1987. Chilling-enhanced photooxidation. The peroxidative destruction of lipids during chilling injury to photosynthesis and ultrastructure. *Plant Physiol.* 8 : 272—277.
- Yu J., Cang J., Zhou Z., Liu L. 2011. Anatomical structure composition between leaves of two winter wheat cultivars with different cold/freezing tolerance under low temperature stress. *J. Northeast Agr. Univ.* 18 : 1—3.

STRUCTURAL-FUNCTIONAL PECULIARITIES OF LEAF MESOPHYLL CELLS
OF *TRITICUM AESTIVUM* CULTIVARS WITH DIFFERENT COLD/HEAT TOLERANCE
UNDER SHORT-TERM TEMPERATURE STRESSES

L. M. Babenko,¹ N. N. Scherbatiuk, D. A. Klimchuk, I. V. Kosakovskaya

M. H. Kholodny Institute of Botany National Academy of Science of Ukraine, Kyiv, 01601;

¹ e-mail: lilia.babenko@gmail.com

High-temperature (40 °C, 2 h) and positive low-temperature (4 °C, 2 h) effects on the ultrastructure of leaf mesophyll cells of two winter wheat cultivars have been analyzed. We have shown that under conditions of hypothermia the chloroplast stroma of the heat-resistant variety Yatran 60 intensively formed plastoglobules and the number and size of starch grains increased. In mitochondria the hyperthermia resulted in the formation of developed cristae and vice versa, the hypothermia involved some decrease in crista volume and organelles swelling. Under conditions of hyperthermia the starch grains volume in the chloroplast stroma of the frost-resistant variety Volodarka decreased and multiple lipid drops were formed in cytoplasm. Chloroplasts acquired a more rounded shape. There was observed a partial disruption of the thylakoid membranes integrity and stroma lamellae deformation. A cold stress caused some increase in the volume of cells and chloroplasts but following a low temperature effect no destruction of thylakoid membranes occurred. The role of structural-functional rearrangements in cells and cell organelles of winter wheat leaves associated with adaptation to temperature conditions is discussed.

Key words: *Triticum aestivum*, temperature stress, chloroplasts, mitochondria, plastoglobulins, lipid droplets.
