

УДК 577.152.087:581.2

## ВПЛИВ ВОДНОГО ДЕФІЦИТУ ТА АБСЦИЗОВОЇ КИСЛОТИ НА УЛЬТРАСТРУКТУРУ КЛІТИН ІЗОЛЬОВАНОЇ ЗАРОДКОВОЇ ОСІ НАСІННЯ КВАСОЛІ

ЛІДІЯ БАБЕНКО

**Анотація.** Досліджували вплив дегідратації й регідратації на ультраструктуру клітин ізольованої зародкової осі насінин квасолі на різних етапах проростання. Встановлено, що лабільними структурами цитоплазми є полісоми, ендоплазматичний ретикулюм, діктіосоми. Вони формуються при гідратації й зникають при зневодненні. Дегідратація зародкових осей у чутливій фазі спричинювала плазмоліз клітин і незворотне руйнування їх мембранних структур. Обробка розчином АБК  $10^{-4}$ М, затримувала процеси структурної перебудови клітин пов'язані з активним ростом, але не впливала на їх життєздатність і виступала як протектор дегідратації на чутливій до зневоднення стадії.

**Ключові слова:** *Phaseolus vulgaris*, насінина, зародкова вісь, АБК, ультраструктура клітин

Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України, Терещенківська, 2, м. Київ, МСП-1, 0160, Україна;  
lilia.babenko@gmail.com

### Вступ

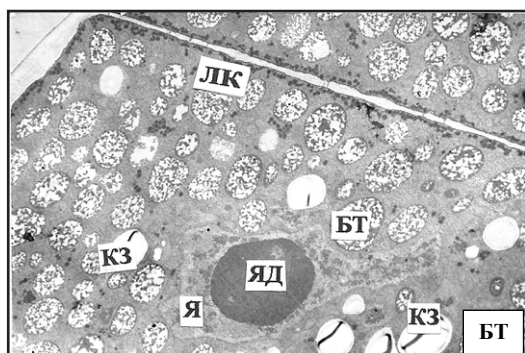
Життєвий цикл насінин більшості видів рослин складається з формування, спокою і проростання. Зрілі насінини більшості видів зони помірного клімату здатні зневоднюватись до повітряно-сухого стану без втрати життєздатності. Вони переходять у стан спокою і набувають стійкості до зовнішніх несприятливих факторів (Кан 1982; Николаева *и др.* 1985). Таку властивість насінини зберігають й на ранніх стадіях проростання, коли їх можна висушити до початкового стану, а після повторної регідратації вони здатні нормально прорости. У пізні періоди проростання насінини втрачають стійкість до зневоднення і при висушуванні гинуть. Взагалі, період проростання насіння поділяють на стійку і чутливу до зневоднення фази. У стійкій фазі, навіть після кількох циклів гідратації-дегідратації, насінини не втрачають життєздатності. У цьому разі метаболічні процеси, які розпочинаються

після проникнення води у насінини, під час висушування лише призупиняються, що забезпечує їх прискорене проростання під час повторного обводнення (BEWLEY & BLACK 1985). Вважають, що втрата клітинами зародка стійкості до зневоднення пов'язана зі змінами ліпідного обміну та функціонального стану мембран. При з'ясуванні багатьох питань формування проростків важливого значення набуває дослідження механізмів регуляції ростових процесів за допомогою фізіологічно активних речовин. Одним з фітогормонів, що здатний регулювати процеси росту і розвитку рослин, є абсцизова кислота (АБК). Однак, ефекти викликані цим гормоном, у значній мірі визначаються його концентрацією (МАРТИН *та ін.* 1995; СИТНИК *та ін.* 2003; МУСАТЕНКО *та ін.* 1982). Не можна однозначно стверджувати, що цей фітогормон гальмує ростові процеси. У тканин чи клітин на різних стадіях розвитку неоднакова чутливість до АБК, що може нівелювати її інгібуючу дію іншими компонентами фітогормональної системи,

**Табл. 1.** Зміна маси зародкової осі в різні періоди гідратації та дегідратації.

**Table 1.** Weight changes of embryonic axis in different periods of hydration and dehydration.

Етапи гідратації/дегідратації	Маса зародкової осі, мг
Сухе насіння	4.1±0.3
Після 6 год. гідратації	11.2±0.6
Після 1 год. дегідратації	5.7±0.4
Після 2 год. дегідратації	4.2±0.2
Після 3 год. дегідратації	4.1±0.3
Після 4 год. дегідратації	4.0±0.3



**Рис. 1.** Ультраструктура клітин зародкової осі сухого насіння квасолі: БТ – білкове тіло; ЛК – ліпідні краплі; КЗ – крохмальне зерно; Я – ядро; ЯД – ядерце (×2000 збільшення).

**Fig. 1.** Ultrastructure of embryonic axes cells of dry *Phaseolus vulgaris* seeds: БТ – protein body; ЛК – lipid drops; КЗ – starch granules; Я – cell nucleus; ЯД – nucleolus (×2000 magnification).

тому цей фітогормон може бути фактором, необхідним для нормального проходження ростових процесів. Метою нашого дослідження було вивчення ультраструктури клітин ізольованої зародкової осі насінин квасолі *Phaseolus vulgaris* L. у стійку та чутливу до зневоднення фази проростання, а також при екзогенній обробці абсцизовою кислотою в чутливій до зневоднення фази.

### Матеріали і методи досліджень

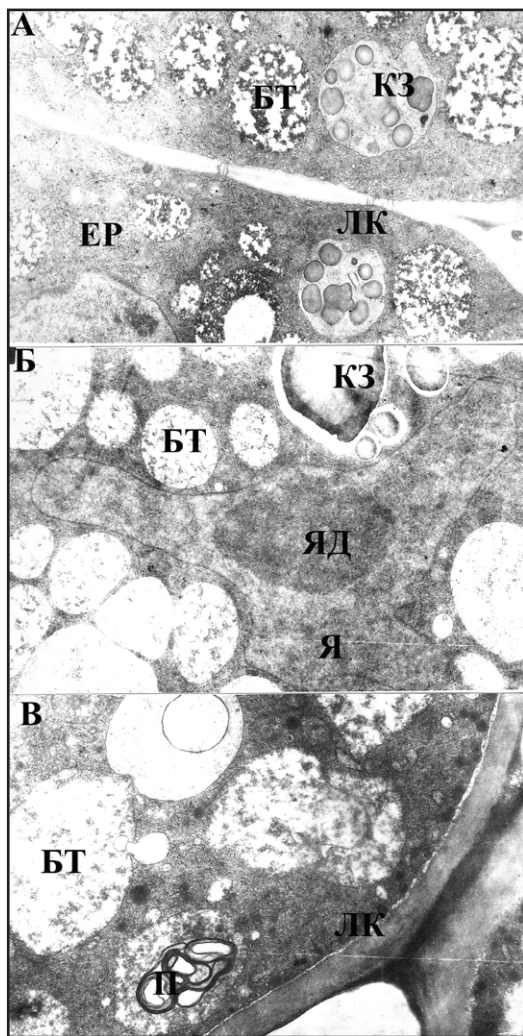
Дослідження проводили на насінні низькорослої білої спаржевої квасолі *P. vulgaris* сорту 'Білозерна'. В експериментах

використовували однорідне за розмірами і масою неушкоджене насіння. Відпрепаровані зародкові осі розкладали в чашки Петрі – по 30 шт., зволожували 10 мл води чи розчином АБК  $10^{-4}$ М і витримували у термостаті, при температурі 25°C, за умов постійної темряви. Осі зневоднювали в ексикаторі над  $\text{CaCl}_2$  при 25°C. Швидкість зневоднення визначали за зміною їх маси (Табл. 1), життєздатність – повторним пророщуванням. Для дослідження ультраструктури клітин матеріал відбирали: після 6 год. гідратації, 4 год. дегідратації й 4 год. гідратації (стійка до зневоднення фаза); через 12 год. гідратації, 4 год. дегідратації й 4 год. гідратації (чутлива до зневоднення фаза); через 12 год. гідратації (на розчині АБК,  $10^{-4}$ М), 4 год. дегідратації й 4 год. гідратації на воді (чутлива до зневоднення фаза). Для дослідження ультраструктури зародкові осі розділяли на сегменти завдовжки 1-2 мм, які фіксували розчином 3% глутарового альдегіду і 1%  $\text{OsO}_4$ , потім зневоднювали в серії розчинів етилового спирту зростаючої концентрації і переносили їх у суміш епоксидних смол епон-аралдит. Ультратонкі зрізи готували на мікротомі та аналізували на мікроскопі JEM 1200 EX (Японія). В досліджах використовували (±) цис-транс-абсцизову кислоту (Sigma, США). Усі дослідження проводили в 2 біологічних та 3 аналітичних повторях.

### Результати та їх обговорення

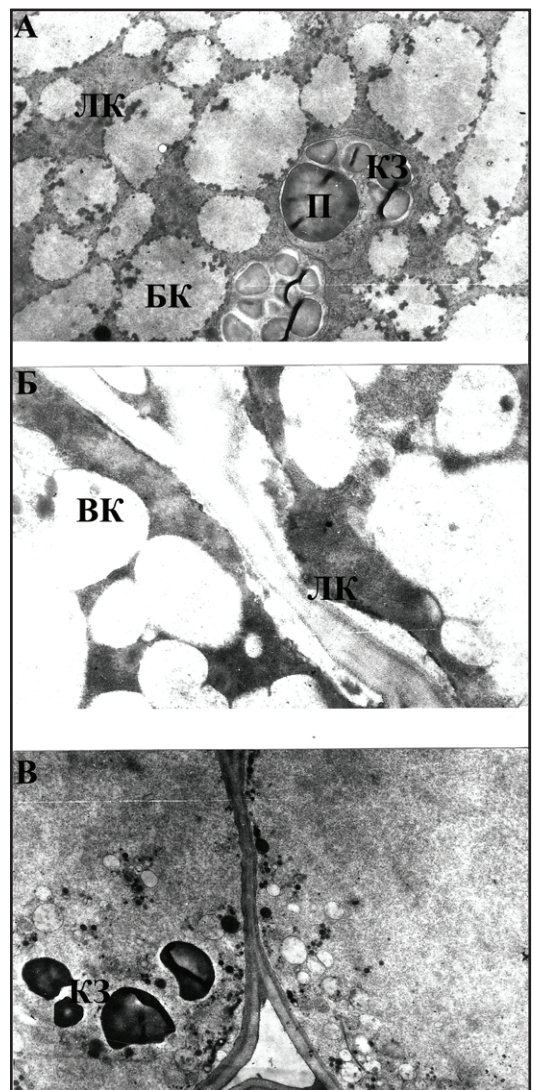
Проведені раніше дослідження показали, що ізольовані зародкові осі насінин квасолі протягом перших 6 год. після проростання інтенсивно поглинають воду, внаслідок чого їх розміри швидко збільшуються. В наступні 4 год. вологість осі практично не змінюється і лише через 10 год. знову підвищується (Бабенко та ін. 2003, 2005). Повторне зростання обводнення зумовлене початком вакуолізації клітин і їхнім переходом до росту розтягненням.

Аналіз препаратів зародкової осі сухих насінин показав, що її клітини мають чітко окреслену плазматичну мембрану. Цитоплазма містить багато білкових



**Рис. 2.** Ультраструктура клітин ізольованої зародкової осі насіння квасолі в різні періоди: 6 год. гідратації на воді (А); 4 год. дегідратації (Б); 4 год. регідратації (В): БТ – білкове тіло; ЛК – ліпідні краплі; КЗ – крохмальне зерно; Я – ядро; ЯД – ядерце; ЕР – ендоплазматичний ретикулум; П – пластида (×4000 збільшення).

**Fig. 2.** Ultrastructure of isolated embryonic axes of *Phaseolus vulgaris* seeds on different stages: 6 hours hydration in water (А); 4 hours dehydration (Б); 4 hours rehydration (В): БТ – protein body; ЛК – lipid drops; КЗ – starch granules; Я – cell nucleus; ЯД – nucleolus; ЕР – endoplasmic reticulum; П – plastid (×4000 magnification).



**Рис. 3.** Ультраструктура клітин ізольованої зародкової осі насіння квасолі в різні періоди: 12 год. гідратації на воді (А); 4 год. дегідратації (Б); 4 год. регідратації (В): БТ – білкове тіло; ЛК – ліпідні краплі; КЗ – крохмальне зерно; ВК – вакуоля; П – пластида (×4000 збільшення).

**Fig. 3.** Ultrastructure of isolated embryonic axes cells of *Phaseolus vulgaris* seeds on different stages: 12 hours hydration in water (А); 4 hours dehydration (Б); 4 hours rehydration (В): БТ – protein body; ЛК – lipid drops; КЗ – starch granules; ВК – vacuole; П – plastid (×4000 magnification).

тіл простої будови, ядро розміщується у центральній частині клітини, містить ядрце і має виражену лопатеву форму. Пластиди типової форми містили невеликі крохмальні зерна. Із внутрішнього боку плазмалеми, у безпосередній близькості від неї, розміщуються запасні ліпіди у вигляді ліпідних крапель. Вони утворюють на периферії цитоплазми своєрідний досить щільний ліпідний шар. В цитоплазмі були відсутні елементи ЕР, апарату Гольджі, полірибосом (Рис. 1).

Після 6 год. гідратації у структурі клітин зародкової осі відбулися певні зміни: міграція ліпідних крапель від плазмалеми, зменшення їх розмірів, що свідчить про активний ліполітичний процес. Вздовж клітинної оболонки формувалася гранулярний ЕР у вигляді довгих тяжів, візуалізувались диктіосоми. В цитоплазмі та на мембранах ЕР були наявні полірибосоми. Ядро набуває кулястої форми, в ньому досить чітко видно ядрце. В пластидах спостерігається ріст крохмальних зерен. Білкові тіла дещо збільшуються у розмірах, а їх вміст набуває дрібно гранулярної структури (Рис. 2 А).

Дегідратація зародкових осей після 6 год. перебування у воді викликала часткову міграцію ліпідних крапель до плазмалеми, розпад мембран ЕР, полірибосом і диктіосом (Рис. 2 Б). Висушування зародкових осей до повітряно-сухого стану не вплинуло на їх життєздатність і при повторній гідратації вони відновлювали ріст. На даному етапі проростання зазначені структурні зміни, очевидно, не є вирішальними у втраті стійкості клітин зародкової осі до зневоднення.

Після наступних 4 год. регідратації в клітинах зародкової осі відновилася структурна перебудова цитоплазми, спрямована на активування метаболізму й утилізацію запасних речовин. У клітинах активувалось формування полірибосом, мембран ЕР і диктіосом (Рис. 2 В).

Отже, дослідження ультраструктури клітин зародкової осі насінин квасолі після висушування і повторного обводнення показало, що в стійкій до зневоднення фазі хоча й відбувались зміни в ультраструктурі

при висушуванні, однак за повторної гідратації структура клітин відновлюється.

При дослідженні ультраструктури клітин зародкової осі після 12 год. інкубації у воді відмічені подальші зміни в їхній будові, пов'язані з переходом клітин у функціонально активний стан. У цитоплазмі ще помітні окремі ліпідні краплі, хоча переважна більшість їх вже гідролізувалась (Рис. 3 А). У клітинах добре розвинена система ЕР і апарату Гольджі. Мітохондрії переходять у конденсований стан з високою щільністю матриксу і розширеними кристами, пластиди диференціюються в амілопласти з багатьма крохмальними зернами. Внаслідок гідролізу білкових тіл відновлюється функція вакуолярної системи. У разі зневоднення зародкових осей після 12 год. гідратації спостерігається розпад ЕР, диктіосом і полірибосом. Відбувається плазмоліз клітин і руйнування їх мембранних компонентів (Рис. 3 Б). Повторна гідратація зародкових осей спричинювала розпад цитоплазматичних структур. У цитоплазмі клітин утворювались згустки, в яких можна було ідентифікувати лише крохмальні зерна (Рис. 3 В).

При дослідженні ультраструктури клітин після 12 год. інкубації на розчині АБК 10<sup>-4</sup>М було показано, що цей фітогормон блокує процеси гідролізу ліпідних крапель і білкових тіл, що, в свою чергу, перешкоджає відновленню в клітинах вакуолярної системи, формуванню ЕР, диктіосом. Фактично, обробка АБК уповільнювала процеси субструктурних змін, що відбувались в лаг-фазі, збільшуючи її тривалість (Рис. 3 А). Дегідратація зародкових осей після 12 год. інкубації на розчині АБК 10<sup>-4</sup>М викликала часткову міграцію ліпідних крапель до плазмалеми, розпад мембран ЕР, полірибосом і диктіосом, ядро набувало вираженої лопатевої форми (Рис. 2 Б). Загалом, ультраструктура цитоплазми клітин практично не відрізнялась від такої у клітин сухої зародкової осі. Повторна гідратація зародкових осей сприяла відновленню мембранної структури клітин, у цитоплазмі ще були помітні окремі ліпідні краплі вздовж плазмалеми. Висушування зародкових осей

до повітряно-сухого, після 12 год. інкубації на розчині АБК  $10^{-4}M$  не вплинуло на їх життєздатність і при повторній гідратації вони відновлювали ріст.

### Висновки

Отже, якщо зневоднення зародкової осі відбувалося під час чутливої фази, в клітинах настають такі структурні зміни, після яких наявні репараційні процеси неспроможні відновити мембранну структуру клітин. Незворотні зміни метаболізму поряд з ушкодженням мембран призводять до загибелі клітин. Обробка АБК уповільнювала процеси субструктурних змін, збільшуючи тривалість лаг-фази. В той же час, АБК виступала протектором дегідратації на чутливій до зневоднення стадії. У формуванні стійкості зародкової осі до зневоднення важлива роль належить запасним ліпідам. Міграція ліпідних крапель до плазмалеми в стійкій до зневоднення стадії свідчить про участь ліпідів у процесах репарації мембран і може розглядатись як захисна реакція на водний дефіцит.

### Використані джерела

- БАБЕНКО Л.М., МАРТИН Г.І., МУСАТЕНКО А.І. та ін. 2003. Структурно-функціональні особливості проростання насіння квасолі. *Фізіологія і біохімія культ. растений* 35: 138–143.
- БАБЕНКО Л.М., МАРТИН Г.І., КОСАКІВСЬКА І.В. та ін. 2005. Вплив зневоднення на ліпоксигеназну активність та ультраструктуру клітин зародкової осі під час проростання насіння квасолі. *Фізіологія і біохімія культ. растений* 37: 305–312.
- КАН А.А. 1982. Покой семян: семена концепции и теории. В кн: Кан А.А. (ред.). *Физиология и биохимия покоя и прорастания семян*: 47–71. Колос, Москва
- МАРТИН Г.І., ГЕНЕРАЛОВА В.Н., СИТНИК К.М. 1995. Вплив абсцизової та індолицтової кислот на ріст та ультраструктуру клітин ізольованої зародкової осі насіння *Phaseolus vulgaris* L. *Укр. ботан. журн.* 52: 445–452.
- МУСАТЕНКО А.І., МАРТИН Г.І., СИТНИК К.М. 1982. Деякі структурно-функціональні особливості росту організмів зародка квасолі. *Укр. ботан. журн.* 38: 49–53.
- НИКОЛАЕВА М.Г., РАЗУМОВА М.В., ГЛАДКОВА В.Н. 1985. Справочник по проращиванию покоящихся семян. Наука, Ленинград.

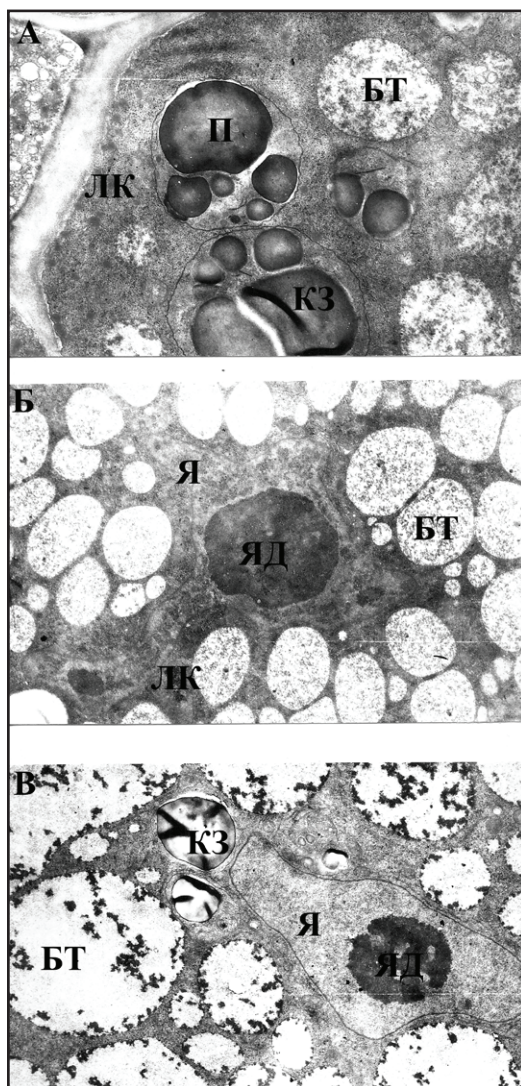


Рис. 4. Ультраструктура клітин ізольованої зародкової осі насіння квасолі в різні періоди: 12 год. гідратації на розчині АБК  $10^{-4}M$  (А); 4 год. дегідратації (Б); 4 год. регідратації на воді (В): БТ – білкове тіло; ЛК – ліпідні краплі; КЗ – крохмальне зерно; П – пластида; Я – ядро; ЯД – ядерце ( $\times 4000$  збільшення).

Fig. 4. Ultrastructure of isolated embryonic axes cells of *Phaseolus vulgaris* seeds on different stages: 12 hours hydration in abscisic acid  $10^{-4}M$  (A); 4 hours dehydration (B); 4 hours rehydration in water (V): БТ – protein body; ЛК – lipid drops; КЗ – starch granules; П – plastid; Я – cell nucleus; ЯД – nucleolus ( $\times 4000$  magnification).

- Ситник К.М., Васюк В.А., Мартин Г.Г. та ін. 2003. Гормональний комплекс рослин і грибів. Академперіодика НАН України, Київ.
- Bewley J., Black M. 1985. Seed: Physiology of development and germination. Plenum Press, New York, London.

**THE INFLUENCE OF WATER DEFICIT AND ABSCISIC ACID ON THE CELLS' ULTRASTRUCTURE OF ISOLATED EMBRYONIC AXES OF *PHASEOLUS VULGARIS* L.**

LYDIA BABENKO

**Abstract.** The influence of dehydration and rehydration processes on the cells structure of isolated embryonic axes on different germination stage of kidney bean (*Phaseolus vulgaris*) was investigated. It was found that polysomes, endoplasmic reticulum and dictyosomes are sensitive to these processes. They formed in hydration and disappeared in dehydration phase. Dehydration of embryonic axes in sensitive phase caused cells plasmolysis and irreversible destruction of their membrane compartments. Abscisic acid ( $10^{-4}$  M) treatment delays the cell structure changes related to active growth phase but does not cause influence on vital functions and acts as dehydration protector on the dehydration sensitive phase.

**Key words:** *Phaseolus vulgaris*, seeds, embryonic axes, abscisic acid, cells infrastructure

M.G. Kholodny Institute of Botany National Academy of Science of Ukraine, 2 Tereschenkivska str., Kiev, MSP-1, 0160, Ukraine; lilia.babenko@gmail.com