

ФІЗІОЛОГІЯ І БІОХІМІЯ РОСЛИН

УДК 581.432.35:57.085.23

ГРАВІЧУТЛИВІСТЬ КОРЕНІВ, УТВОРЕНИХ З ЛИСТКОВИХ ЕКСПЛАНТІВ *ARABIDOPSIS THALIANA* В КУЛЬТУРІ *IN VITRO*

© 2015 р. І. В. Булавін

Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного
Національної академії наук України
(Київ, Україна)

Наведено результати порівняльних досліджень анатомічної структури, орієнтації кортикальних мікротрубочок і розподілу ауксину в зародкових коренях *Arabidopsis thaliana* та коренях, утворених в культурі *in vitro* з листкових експлантів. Показано подібність будови власне коренів та кореневих чохлаків *in vivo* та *in vitro* в контролі і при кліноостатуванні. Чохлики коренів, утворених *in vitro*, як і зародкових коренів, містили гравірецепторні клітини типової будови – статоцити, амілопласти-статоліти яких в умовах кліноостатування не осідали у напрямку гравітаційного вектора. Орієнтація кортикальних мікротрубочок в дистальній зоні розтягання власне коренів трансгенних рослин *A. thaliana* GFP-MAP4, утворених *de novo*, при кліноостатуванні також змінювалася подібно до такої у зародкових коренів. Полярний перерозподіл ауксину при гравістимуляції коренів трансгенних рослин *A. thaliana* DR5rev::GFP, утворених *de novo*, відбувався без суттєвих відмінностей порівняно з коренями *in vivo*. Отримані дані демонструють гравічутливість коренів, утворених на листкових експлантах *in vitro*, що дає підстави рекомендувати модель ризогенезу *in vitro* для експериментів у галузі гравітаційної та космічної біології.

Ключові слова: *Arabidopsis thaliana*, зародковий корінь, ризогенез *in vitro*, анатомія, цитоскелет, кліноостатування, гравітропічна реакція

Дослідження механізмів гравітропізму та росту вищих рослин – один із напрямів сучасної космічної біології, експериментальною основою якого є космічні та наземні модельні експерименти щодо створення умов зміненої гравітації за допомогою різного типу кліноостатів і центрифуг (Kittang et al., 2014; Kordyum, 2014). Найпоширеніший об'єкт такого роду досліджень – зародковий (головний) корінь проростків, оскільки він є зручною моделлю для демонстрації просторової послідовності ростових зон і, таким чином, для ідентифікації клітин, що досліджуються. Диференціювання меристематичних клітин відбувається в двох напрямках: до базальної частини власне кореня – дистальна та центральна зони розтягання та зона диференціювання, до апікальної частини – зона клітин, що диференціюються, центральна статенхіма та секреторні клітини кореневого

чохлака. Ці два напрямки диференціювання клітин кореня чітко демонструються ультраструктурною організацією і топографією клітинних органел у різних тканинах кореня відповідно до їхніх основних функцій.

Дані численних космічних і модельних експериментів щодо гравічутливості клітин, спеціалізованих і не спеціалізованих до сприйняття гравітаційного стимулу, одержані на зародкових коренях, що сформувалися в насінні в гравітаційному полі при 1 g. Для уникнення дії гравітації на перші поділи клітин при утворенні зачатків коренів було запропоновано модель ризогенезу в культурі *in vitro* для досліджень впливу реальної та симульованої мікрогравітації на морфогенез, диференціацію клітин та генну експресію (Кордюм та ін., 2009). В нашій роботі ми використали модель ризогенезу *in vitro* з метою дослідити процеси диференціювання клітин кореневого чохлака, які є гравірецепторними, ростових зон власне кореня, а також визначити їх чутливість до дії гравітації та кліноостатування.

ГРАВІЧУТЛИВІСТЬ КОРЕНІВ

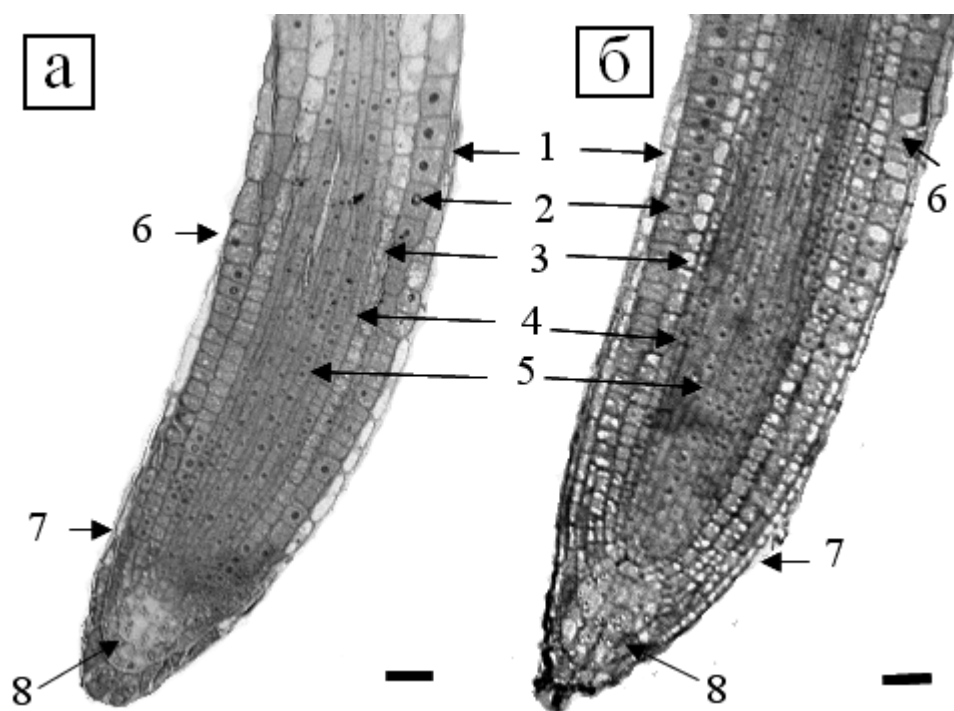


Рис. 1. Анатомія коренів *A. thaliana* *in vivo* (а) та *in vitro* (б).

1 – периферійні клітини, 2 – епідерма, 3 – паренхіма, 4 – ендодерма, 5 – центральний циліндр, 6 – дистальна зона розтягу, 7 – меристема, 8 – кореневий чохлак. Штрих – 20 мкм.

МЕТОДИКА

Як матеріал використовували рослини *Arabidopsis thaliana* дикого типу (Columbia) та трансгенних ліній – GFP-MAP4 та DR5rev::GFP. Насіння вирощували на середовищі МС без регуляторів росту. Для індукції ризогенезу листові експланти переносили у скляні чашки Петрі на модифіковане середовище 1/10 МС без вітамінів та гормонів (Kordyum et al., 2008). Корені *A. thaliana* дикого типу, отримані з насіння та в культурі *in vitro* з листових експлантів, фіксували у розчинах 2,5% глютарового альдегіду та 1% OsO₄ на какодилатному буфері (рН 7,2), зневоднювали у спиртах висхідної концентрації та ацетоні, заливали в суміш епон-аралдит. Напівтонкі зрізи (0,5-1 мкм) отримували на ультрамікромомі RMC MT-XL (США), забарвлювали 0,12% розчином толуїдинового синього та вивчали під мікроскопом Axioscope (Carl Zeiss, Німеччина) з цифровою фотокамерою Canon Power Shot A 480.

Гравітропічну реакцію коренів індукували, переміщуючи чашки Петрі на 90° відносно вектора гравітації. Для створення умов моделюваної мікрогравітації використовували повільний горизонтальний кліностаг (2 об./хв).

Прижиттєві дослідження тубулінового цитоскелету в коренях трансгенних рослин

A.thaliana GFP-MAP4 та ауксину у DR5rev::GFP здійснювали за допомогою лазерного конфокального мікроскопа LSM5 Pascal (Zeiss, Німеччина) з об'єктивами Plan Neofluar та збудженням флюоресценції в області 488 нм, емісією – в 500-600 нм. Досліджували розподіл ауксинзалежного репортерного білка у зародкових коренях і коренях, утворених *de novo* з листових експлантів. Для цього на предметне скло намотували дві стрічки парафілму шириною 3-5 мм, які виконували роль спейсерів. Між стрічками наносили краплю дистильованої води, в яку поміщали корені. Матеріал накривали покривним склом та вивчали під конфокальним мікроскопом.

Отримані дані обробляли статистично, використовуючи програмне забезпечення Statistica 7.0.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Встановлено, що в тканинах черешка листових експлантів зачатки коренів формувалися з клітин морфогенного осередка, який виникав за рахунок поділу клітин камбію провідного пучка (Булавін, 2014). В контролі корені, сформовані в культурі *in vitro*, мали структуру, подібну до такої зародкових коренів *in vivo* (рис. 1). На поздовжніх зрізах виявлено одношарову епідерму, у двохшаровій корі розрізня-

Таблиця 1. Ростові показники зон коренів *A. thaliana*

Параметри	Кореневий чохлак		Меристема		Дистальна зона розтягу	
	<i>in vivo</i>	<i>in vitro</i>	<i>in vivo</i>	<i>in vitro</i>	<i>in vivo</i>	<i>in vitro</i>
Довжина	66,21 ±4,23	92,94 ±3,47*	144,78 ±17,21	223,95 ±18,42*	104,34 ±3,37	101,89 ±2,38
Ширина	76,25 ±2,18	118,92 ±3,48*	107,06 ±2,17	158,11 ±9,45*	110,68 ±3,61	167,38 ±9,77*
Кількість клітин	5,67 ±0,21	5,67 ±0,21	20,5 ±1,96	27,67 ±2,26*	8,67 ±0,42	7,67 ±0,8

Примітка: * – статистично достовірні відмінності між значеннями однакових параметрів *in vivo* та *in vitro* при $p=0,05$.
M ± m; n=6.

Таблиця 2. Розміри клітин ростових зон коренів *A. thaliana*

Клітина	Меристема				Дистальна зона розтягу			
	Епідерма		Паренхіма кори		Епідерма		Паренхіма кори	
	<i>in vivo</i>	<i>in vitro</i>	<i>in vivo</i>	<i>in vitro</i>	<i>in vivo</i>	<i>in vitro</i>	<i>in vivo</i>	<i>in vitro</i>
Довжина	7,41 ±0,43	7,98 ±0,56	6,59 ±0,27	7,61 ±0,31*	11,97 ±0,43	15,45 ±0,67*	10,6 ±0,61	10,04 ±0,28
Ширина	9,08 ±0,31	13,78 ±0,5*	7,34 ±0,25	8,81 ±0,35*	13,81 ±0,4	19,85 ±0,47*	9,53 ±0,32	14,3 ±0,67*

Примітка: * – статистично достовірні відмінності між значеннями однакових параметрів *in vivo* та *in vitro* при $p \leq 0,05$.
M±m; n=30.

лися клітини паренхіми та ендодерми. Центральний циліндр складався з перициклу та провідної тканини. Морфологічно виділялися кореневий чохлак, зона меристеми, дистальна та центральна зони розтягу та зона диференціювання. Встановлено певні статистично достовірні відмінності анатомічних кількісних ознак між коренями *in vivo* та *in vitro*. У останніх відзначено збільшення довжини та ширини кореневого чохлака, меристеми та кількості її клітин, дистальної зони розтягу (ДЗР) (табл. 1), клітин епідерми та паренхіми ростових зон власне кореня (табл. 2).

Відомо, що довжина кореневого чохлака визначається кількістю та розміром клітин колумели (Кордюм и др., 2008). Оскільки кількість її шарів в коренях, утворених *in vivo* та *in vitro*, статистично не відрізнялася, можна припустити, що виявлене нами збільшення довжини та ширини кореневого чохлака зумовлено особливостями росту його клітин. Збільшення діаметра меристематичної зони та ДЗР відбувається через зміни у довжині та ширині клітин епідерми та паренхіми. Ймовірно, в культурі *in vitro* відбувається підвищення проліферативної активності клітин меристеми. Відомо, що ауксин регулює поділ клітин та їх розтяг (Chapman, Estelle, 2009), за низької його концентрації втрачається регенераційна здатність (Chen et al., 2014). Показано, що морфогенез коренів на листових експлантах пов'язаний з накопиченням ауксину у базальній частині че-

решка (Dong et al., 2012). Ймовірно, що певна концентрація ендogenous ауксину в експлантах, яка є необхідною для органогенезу, модифікує активність поділу клітин та призводить до збільшення їхніх розмірів.

Проте зміни ростових показників коренів *A. thaliana* дикого типу *in vitro* суттєво не впливали на структуру та функції клітин. У контролі амілопласти розташовуються у дистальній частині статоцитів, а ядро – у проксимальній (рис. 2, а). При гравістимуляції коренів амілопласти переміщувалися з дистальної частини на фізично нижній бік клітин (рис. 2, б), в той час як у умовах кліностакування спостерігалось їхнє розташування по всьому об'єму клітин (рис. 2, в).

Відомо, що при вертикальному положенні кореня статоцити характеризуються полярністю: ядро розташовується у проксимальній частині, ендоплазматичний ретикулум та амілопласти – у дистальній (Chen et al., 1999; MacCleery, Kiss, 1999). При перпендикулярній орієнтації коренів відносно вектора гравітації – гравістимуляції – відбувається переміщення амілопластів, результатом чого є активація механочутливих іонних каналів та виведення у цитозоль статоцитів кальцію, який у стаціонарному стані, насамперед, депонується в ендоплазматичному ретикулумі. Ca^{2+} , як вторинний месенджер, передає сприйнятий гравітаційний сигнал до зони розтягання, що призводить до перерозподілу ауксину та вигину кореня (Poovai-ah, Reddy, 1995; Perrin et al., 2005; Tatsumi et al.,

ГРАВІЧУТЛИВІСТЬ КОРЕНІВ

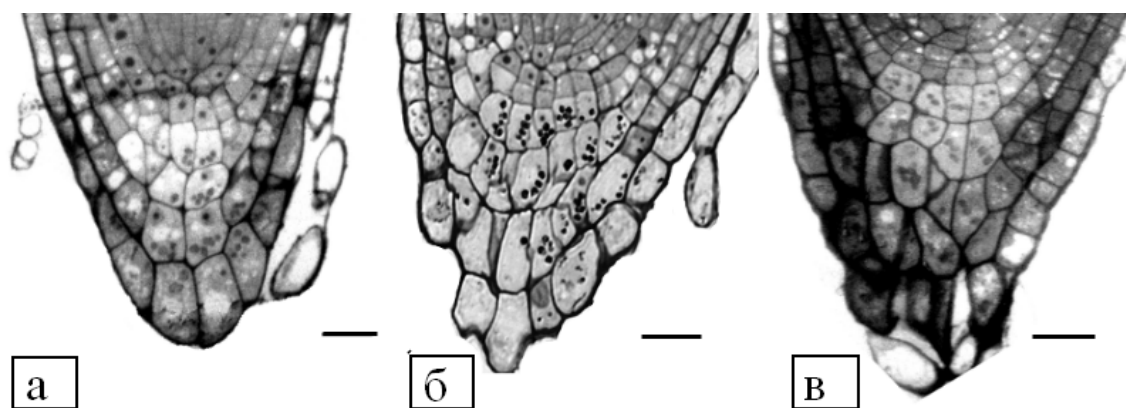


Рис. 2. Розташування амілопластів-статолітів в статочитах коренів, сформованих *in vitro*. а – контроль, б – гравістимуляція, в – кліностакування. Штрих – 20 мкм.

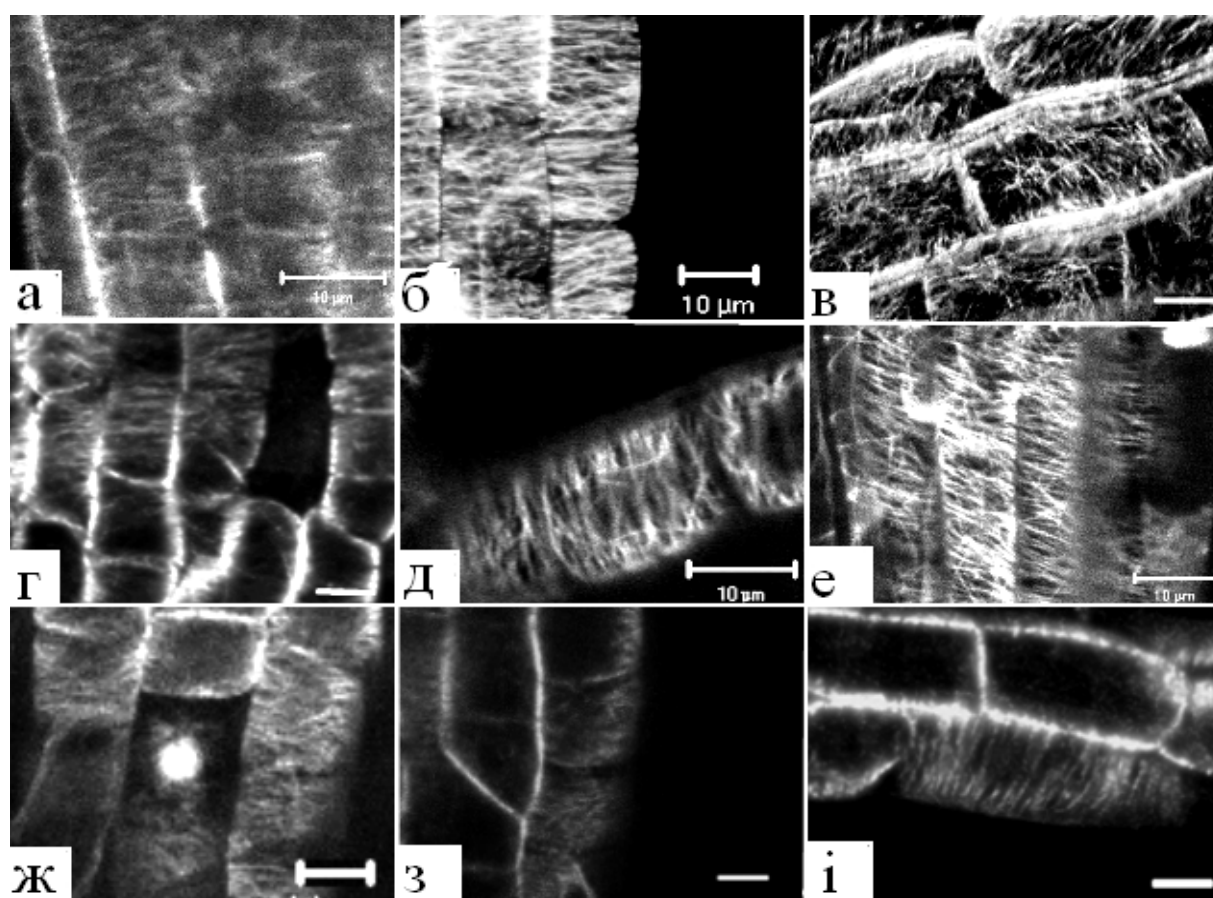


Рис. 3. Орієнтація кортикальних мікротрубочок в клітинах ростових зон коренів *in vivo* (а-в) та *in vitro* (г-і).

а, г, ж – меристема; б, д, з – дистальна зона розтягу; в, е, і – центральна зона розтягу; а-е – контроль; ж-і – кліностакування. Штрих – 10 мкм.

2014). Багаторічними кліностакувальними та космічними експериментами доведено формування гравірецепторних клітин кореневого чохла, проте зазначено, що амілопласти в них не виконують своєї статолітної функції (Білявська, 1983; Perbal, Driss-Ecole, 1989; Lorenzi, Perbal, 1990; Kordyum, 1997). Отже, проведені нами

експерименти з гравістимуляції засвідчили, що корені, сформовані *in vitro*, сприймають гравітаційний сигнал. Кліностакування запобігає гравірецепції, про що свідчить розповсюдження амілопластів в усьому об'ємі клітин.

Вважається, що клітини, не спеціалізовані до сприйняття вектора гравітації, здатні під-

тримувати стабільність структури та метаболізму в гравітаційному полі, та змінювати свою структуру в умовах космічного польоту. Наприклад, показано, що процеси полімеризації мікрофіламентів і мікротрубочок, а також їхня орієнтація у різних типах клітин, тією чи іншою мірою, є гравічутливими (Skagen, 1998; Paraseit et al., 2000; Kalinina et al., 2009; Pozhvanov et al., 2013). Тому нами досліджено орієнтацію кортикальних мікротрубочок (КМт) в епідермальних клітинах різних ростових зон коренів *in vivo* та *in vitro*.

Показано, що КМт в клітинах меристеми зародкових коренів *A. thaliana* GFP-MAP4 мали переважно перпендикулярне розташування відносно поздовжньої осі кореня (рис. 3, а). У ДЗР їхнє просторове розміщення залишалось подібним до такого клітин меристеми (рис. 3, б). У центральній зоні розтягу (ЦЗР) відбувалася поступова зміна їх орієнтації: в кінці зони виявлялися косо розташовані КМт (рис. 3, в). КМт в клітинах ростових зон коренів, отриманих з листкових експлантів трансгенних рослин *A. thaliana* GFP-MAP4, мали подібну орієнтацію (рис. 3, г-е). При клінонотуванні в клітинах меристеми залишалась поздовжня орієнтація мікротрубочок, в ЦЗР – коса (рис. 3, ж, і). В

ДЗР поряд з типовою організацією мікротрубочок, виявлено клітини, в яких КМт були орієнтовані хаотично (рис. 3, з).

Дані літератури свідчать про те, що поперечна орієнтація кортикальних мікротрубочок в клітинах меристеми та ДЗР, а також коса в ЦЗР характерна не тільки для коренів *A. thaliana*. Подібне розміщення елементів тубулінового цитоскелету виявлено у ростових зонах коренів *Zea mays* L. (Baluska, Hasenstein, 1997) та *Beta vulgaris* L. (Shevchenko, Kordyum, 2005). Зазначається, що така орієнтація КМт в епідермальних клітинах та клітинах кори є специфічною для коренів (Емец и др., 2009), що забезпечує нормальну форму клітини. Вважається, що мікротрубочки підтримують полярність клітин, в той час як актинові мікрофіламенти транспортують до специфічних сайтів матеріал, необхідний для росту (Mathur, Hulskamp, 2002). Підтвердженням першої частини цієї тези можуть бути дані Я.М. Калініної (2006) про пригнічення анізотропного росту клітин ЦЗР при дезорганізації КМт в ДЗР при клінонотуванні. Отримані нами дані стосовно розміщення кортикальних елементів тубулінового цитоскелету в клітинах коренів *in vivo* та *in vitro* дозволяють зробити висновок про подібність їхньої орієн-

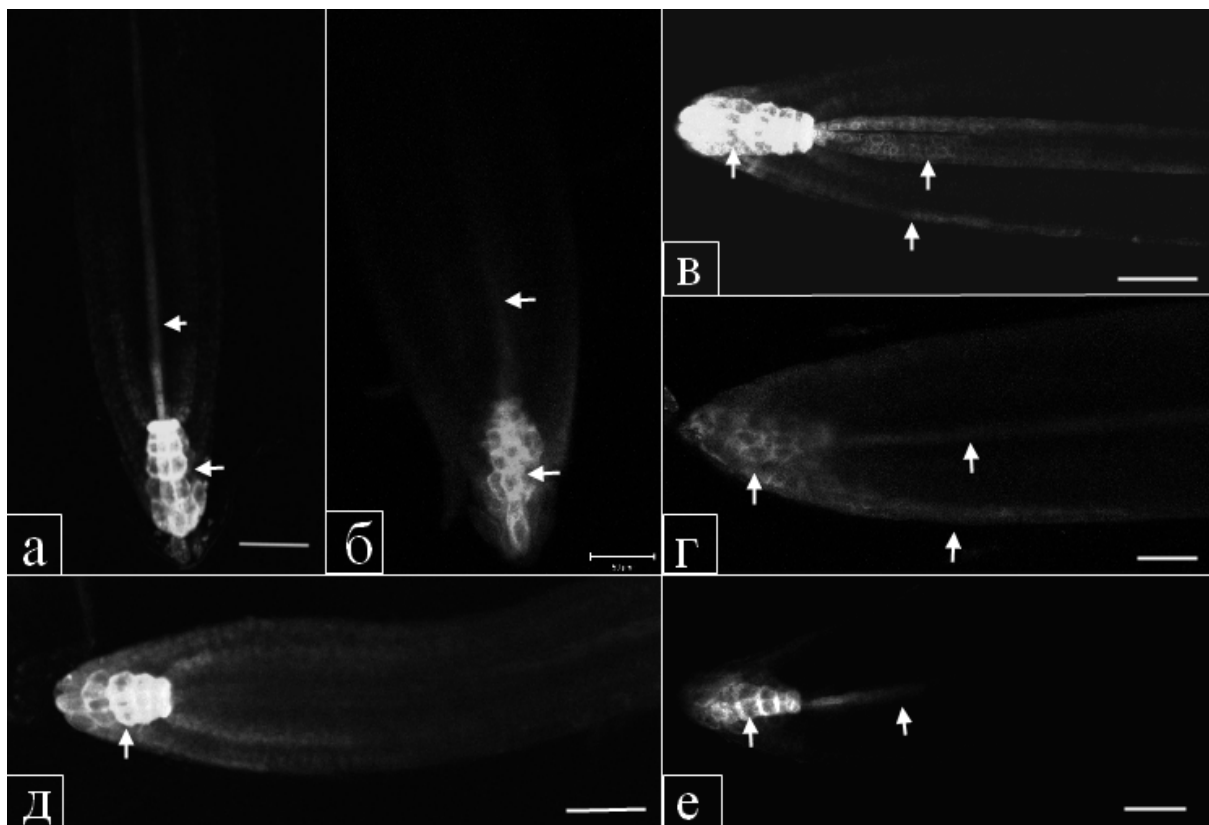


Рис. 4. Локалізація (вказано стрілочкам) ауксин-залежного репортерного білка DR5rev::GFP в корнях *A. thaliana*, утворених з насіння (а, в, д) та в культурі *in vitro* (б, г, е). а, б – контроль, в, г – дві години гравістимуляції; д, е – клінонотування. Штрих – 50 мкм.

ГРАВІЧУТЛИВІСТЬ КОРЕНІВ

тації, що підтверджує результати анатомічних досліджень і свідчить на користь подібності процесів морфогенезу клітин цих органів. Зміна орієнтації кортикальних мікротрубочок в ДЗР коренів *in vitro* при кліноостатуванні свідчить про їхню гравічутливість, яка, ймовірно, пов'язана із специфічними властивостями цих клітин (Ishikawa, Evans, 1995).

Вважається, що ауксин контролює процеси елонгації, галуження та розвитку органів рослин, а також асиметричного росту – тропізму (Muday, Rahman, 2008). Використовуючи трансгенні рослини DR5rev::GFP, ми дослідили розподіл ауксин-залежного репортерного білка в зародкових коренях і коренях, утворених *de novo* з листових експлантів. Показано, що в контролі при вертикальному рості коренів сигнал спостерігався в центральному циліндрі та кореновому чохлаку (рис. 4, а, б). Після 2-х годин гравістимуляції флуоресценція DR5rev::GFP спостерігалася на фізично нижньому боці коренів (рис. 4, в, г). В умовах кліноостатування репортерний білок виявлявся лише в центральному циліндрі та кореновому чохлаку (рис. 4, д, е).

У коренях, що ростуть вертикально, ауксин транспортується акропетально по центральному циліндру до клітин коренового чохлака, в яких відбувається його поділ на два потоки, що йдуть базипетально зовнішніми шарами клітин кори. При гравістимуляції відбувається полярний транспорт ауксину. Згідно з теорією Холодного-Вента, накопичення фітогормону на фізично нижньому боці коренів у більшій концентрації інгібує розтяг клітин, через що відбувається вигин кореня донизу (Dolan, 1998; Geisler et al., 2014). Інгібування перерозподілу ауксину при кліноостатуванні можна пояснити нездатністю амілопластів виконувати статолітну функцію, тобто сприймати гравітаційний сигнал при постійному обертанні.

Таким чином, можна зробити висновок, що унікальна властивість рослинних клітин – тотипотентність, забезпечує утворення коренів на листових експлантах в культурі *in vitro*, які за даними наших експериментальних досліджень дії гравістимуляції та модельованої мікрогравітації є гравічутливими. Ми рекомендуємо модель ризогенезу *in vitro*, що дає можливість вивчати дію різних величин гравітації або її відсутності з перших поділів клітин майбутніх органів, для космічних експериментів з метою з'ясування значення скалярної величини гравітації у диференціюванні клітин і морфогенезу.

Автор висловлює вдячність м.н.с. відділу клітинної біології та анатомії Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України Ю.В. Овчаренко за допомогу при отриманні поздовжніх зрізів коренів *A. thaliana* для проведення морфометричного аналізу.

ЛІТЕРАТУРА

- Білявська Н.О. Цитологічні аспекти впливу гіпогравітації на гравічутливі клітини кореня // Укр. бот. журн. – 1983. – Т. 40, № 3. – С. 61-66.
- Булавін І.В. Ризогенез у культурі *in vitro Arabidopsis thaliana* дикого типу та *scr* мутанта // Укр. бот. журн. – 2014. – Т. 71, № 1. – С. 78-82.
- Емец А.И., Красиленко Ю.А., Шеремет Я.А., Блюм Я.Б. Реорганизация микротрубочек как ответ на реализацию сигнальных каскадов оксида азота (N₂) в растительной клетке // Цитология и генетика. – 2009. – Т. 43, № 2. – С. 3-10.
- Калініна Я.М. Мікротрубочки в клітинах епідермісу та кори кореня *Brassica rapa* за умов кліноостатування // Цитология и генетика – 2006. – Т. 40, № 5. – С. 21-27.
- Кордюм Е.Л. Мартын Г.И., Овчаренко Ю.В. Рост и дифференцировка клеток колумеллы корневого чехлика и собственно корня в стационарных условиях и при клиноостатировании // Цитология и генетика. – 2008. – Т. 42, № 1. – С. 3-12.
- Кордюм Е.Л. Талалаев О.С., Сарнацька В.В. Космічна фітобіологія: актуальні напрямки та нові моделі // Екологія на ноосферологія. – 2009. – Т. 20, № 3-4. – С. 7-14.
- Baluska F. Hasenstein K.H. Root cytoskeleton: its role in perception of and response to gravity // Planta. – 1997. – V. 203. – P. 69-78.
- Chapman E. Estelle M. Cytokinin and auxin intersection in root meristem [Electronic resource] // Genome Biology. – 2009. – V. 10, № 2. – Access : <http://genomebiology.com/content/pdf/gb-2009-10-2-210.pdf>
- Chen R., Rosen E., Masson P. H. Gravitropism in higher plants // Plant Physiol. – 1999. – V. 120. – P. 343-350.
- Chen X., Qu Y., Sheng L., Liu J., Huang H., Xu L. A simple method suitable to study *de novo* root organogenesis [Electronic resource] // Front. Plant. Sci. – 2014. – V. 5. – Access : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24860589>
- Dolan L. Pointing roots in the right direction: the role of auxin transport in response to gravity // Genes Dev. – 1998. – V. 12, № 14. – P. 2091-2095.
- Dong N., Pei D., Yin W. Tissue-specific localization and dynamic changes of endogenous IAA during poplar leaf rhizogenesis revealed by *in situ* immunohistochemistry // Plant Biotechnol. Rep. – 2012. – V. 6, № 2. – P. 165-174.

БҮЛҮҮБІІ

- Geisler M., Wang B., Zhu J. Auxin transport during root gravitropism: transporters and techniques // *Plant Biol.* – 2014. – V. 16 (Suppl. 1). – P. 50-57.
- Ishikawa H., Evans M.L. Specialized zones of development in roots // *Plant Physiol.* – 1995. – V. 109. – P. 725-727.
- Kalinina I., Shevchenko G., Kordyum E. Tubulin cytoskeleton in *Arabidopsis thaliana* root cells under clinorotation // *Microgravity Sci. Technol.* – 2009. – 21, № 1-2. – P. 187-190.
- Kittang A.I., Iversen T.H., Fossum K.R., Mazars C., Carnero-Diaz E., Boucheron-Dubuisson E., Disquet I. Le, Legue V., Herranz R., Pereda-Loth V., Medina F. J. Exploration of plant growth and development using the European Modular Cultivation System facility on the International Space Station // *Plant Biol.* – 2014. – V. 16, № 3. – P. 528-538.
- Kordyum E.L. Biology of plant cells in microgravity and under clinostating // *Int. Rev. Cyt.* – 1997. – V. 171. – P. 1-78.
- Kordyum E.L. Plant cell gravisensitivity and adaptation to microgravity // *Plant Biol.* – 2014. – V. 16 (Suppl. 1). – P. 79-90.
- Kordyum E.L., Sarnatska V.V., Talalaiev A.S., Ovcharenko Yu.V. In vitro root development in *Arabidopsis thaliana* wild type and *scr* mutants under clinorotation // *J. Gravit. Physiol.* – 2008. – V. 15, № 1. – P. 165-166.
- Lorenzi G., Perbal G. Root growth and statocyte polarity in lentil seedling roots grown in microgravity or slowly rotating clinostat // *Physiol. Plant.* – 1990. – V. 78. – P. 532-537.
- MacCleery S. A., Kiss J.Z. Plastid sedimentation kinetics in roots of wild-type and starch-deficient mutants of *Arabidopsis* // *Plant Physiol.* – 1999. – V. 120. – P. 183-192.
- Mathur J., Hulskamp M. Microtubules and microfilaments in cell morphogenesis in higher plants // *Curr. Biol.* – 2002. – V. 19, № 12. – P. 669-676.
- Muday G.K., Rahman A. Auxin transport and the integration of gravitropic growth // *Plant tropisms* / Eds S. Gilroy, P. Masson. – Blackwell Publishing, 2007. – P. 47-78.
- Papaseit C., Pochon N., Tabony J. Microtubule self-organization is gravity-dependent // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2000. – V. 97. – P. 8364-8368.
- Perbal G., Driss-Ecole D. Polarity of statocytes in lentil seedlings roots grown in space (Spacelab D1 Mission) // *Physiol. Plant.* – 1989. – V. 75, № 4. – P. 518-524.
- Perrin R. M., Young L-S., Murthy N.U.M., Harrison B.R., Wang Y., Will J. L. Masson P.H. Gravity signal transduction in primary roots // *Ann. Bot.* – 2005. – V. 96. – P. 737-743.
- Poovaiah B.W., Reddy A.S.N. Calcium and gravitropism // *Plant Roots*, Marcel Dekker Inc., 1995. – P. 307-321.
- Pozhvanov G. A., Suslov D. V., Medvedev S. S. Actin cytoskeleton rearrangements during the gravitropic response of *Arabidopsis* roots // *Cell Tissue Biol.* – 2013. – V. 7, № 2. – P. 185-191.
- Skagen E.B. Cortical microtubule reorganization in protoplasts isolated from *Brassica napus* hypocotyl is affected by gravity // *J. Gravit. Physiol.* – 1998. – V. 5, № 1. – P. 117-120.
- Shevchenko G.V., Kordyum E.L. Organization of cytoskeleton during differentiation of gravisensitive root sites under clinorotation // *Adv. Space Res.* – 2005. – V. 35, № 2. – P. 289-295.
- Tatsumi H., Furuichi T., Nakano M., Toyota M., Hayakawa K., Sokabe M., Iida H. Mechanosensitive channels are activated by stress in the actin stress fiber, and could be involved in gravity sensing in plant // *Plant Biol.* – 2014. – V. 16 (Suppl. 1). – P. 18-22.

Надійшла до редакції
03.02.2015 p.

GRAVISENSITIVITY OF ROOTS OF *ARABIDOPSIS THALIANA* FORMED *IN VITRO* FROM LEAF EXPLANTS

I. V. Bulavin

*M.G. Kholodny Institute of Botany
National Academy of Sciences of Ukraine
(Kyiv, Ukraine)
e-mail: iliyabulavin@rambler.ru*

The article presents data from comparative studies of the anatomical structure, the orientation of cortical microtubules and auxin distribution in *Arabidopsis thaliana* embryonic roots and roots formed *in vitro* from leaf explants. The similarity of a root proper structure and a root cap *in vivo* and *in vitro* in control and under clinorotation was shown. Root caps both in embryonic and *in vitro* roots contained graviperceptive cells – statocytes, amyloplasts of which did not sediment on a cell

ГРАВІЧУТЛИВІСТЬ КОРЕНІВ

bottom under clinorotation. Cortical microtubules' orientation in the distal elongation zone of *A. thaliana* GFP-MAP4 roots formed *de novo* was also changed under clinorotation similarly that in embryonic roots. Redistribution of auxin in roots of DR5rev::GFP transgenic plants formed *in vivo* and *in vitro* occurred without significant differences. Obtained data demonstrate gravisensitivity of roots formed *de novo* from leaf explants, so investigated model of rhizogenesis is recommended for experiments in gravitational and space biology.

Key words: *Arabidopsis thaliana*, roots *in vivo*, rhizogenesis *in vitro*, anatomy, cytoskeleton, clinorotation, gravitropic reaction

ГРАВИЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ КОРНЕЙ, ОБРАЗОВАННЫХ ИЗ ЛИСТОВЫХ ЭКСПЛАНТОВ *ARABIDOPSIS THALIANA* В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO*

И. В. Булавин

*Институт ботаники им. Н.Г. Холодного
Национальной академии наук Украины
(Киев, Украина)
e-mail: iliyabulavin@rambler.ru*

Представлены данные сравнительных исследований анатомической структуры, ориентации кортикальных микротрубочек и распределения ауксина в зародышевых корнях *Arabidopsis thaliana* и корнях, образованных в культуре *in vitro* из листовых эксплантов. Показано сходство строения корней, корневых чехликов *in vivo* и *in vitro* в контроле и при клиноостатировании. Чехлики корней, образованных *in vitro*, как и зародышевых корней, содержали гравирецепторные клетки – статоциты типичного строения, амилопласты-статолиты которых в условиях клиноостатирования не оседали по направлению действия вектора гравитации. Ориентация кортикальных микротрубочек в дистальной зоне растяжения корней трансгенных растений *A. thaliana* GFP-MAP4 и образованных *de novo* при клиноостатировании также менялась подобно таковой у зародышевых корней. Перераспределение ауксина при гравистимуляции корней, образованных *de novo*, трансгенных растений *A. thaliana* DR5rev::GFP проходило без существенных отличий по сравнению с корнями *in vivo*. Полученные данные демонстрируют гравичувствительность корней, образованных из листовых эксплантов, что позволяет рекомендовать модель ризогенеза *in vitro* для экспериментов в области гравитационной и космической биологии.

Ключевые слова: *Arabidopsis thaliana*, корни *in vivo*, ризогенез *in vitro*, анатомия, цитоскелет, клиноостатирование, гравитропическая реакция