

УДК 575 : 581.144.2 : 581.133.8 : 582.683.2

© С. Г. Хаблак, Я. А. Абдуллаева

**СТРОЕНИЕ КОРНЕВОЙ СИСТЕМЫ У МУТАНТНОЙ ЛИНИИ
WOODEN LEG-1 (WOL-1) ARABIDOPSIS THALIANA (L.) HEYNH.**

Луганский национальный аграрный университет; 91008, г. Луганск

e-mail: serhab_211981@rambler.ru

Хаблак С. Г., Абдуллаева Я. А. Строение корневой системы у мутантной линии wooden leg-1 (wol-1) Arabidopsis thaliana (L.) Heynh. – Изучены особенности строения корневой системы у растений мутантной линии wol-1 Arabidopsis thaliana. Установлено, что у растений линии wol-1 формируется мочковатая корневая система, у которой основную массу корней составляют придаточные корни.

Ключевые слова: Arabidopsis thaliana, корневая система, дикий тип, мутантная линия.

Введение

Выяснение принципов, лежащих в основе образования специфической формы каждого растения и его частей, – наиболее трудная и еще мало изученная проблема биологии. Морфогенез, то есть формообразование у растений, включает в себя процессы заложения, роста и развития клеток (цитогенез), тканей (гистогенез) и органов (органогенез), которые генетически запрограммированы и скоординированы между собой [1].

Центральная роль в морфогенезе органов растений принадлежит образовательным тканям, которые называются меристемами. Специфическая особенность меристемы заключается в том, что ее клетки быстро делятся и дифференцируются в постоянные ткани органов растений [2]. Апоикальные меристемы побега и корня являются главными координирующими (доминирующими) центрами, влияющими на морфогенетические процессы в целом растении. Они представляют собой зоны ткане- и органообразования, из которых формируется весь растительный организм [3, 4]. Изучение механизмов, поддерживающих инициальные клетки меристем на эмбриональной стадии развития в течение всей жизни растения, и исследования регулирования дифференцирования инициальных клеток в различные постоянные ткани органов растения является одной из актуальных проблем современной биологии.

Arabidopsis thaliana (L.) Heynh. (резушка Таля) – перспективное модельное растение для исследования этой проблемы. К настоящему времени генетические исследования выявили целый ряд генов у арабидопсиса, регулирующих функционирование апоикальных меристем побега и корня. К генам, контролирующим меристематическую активность инициальных клеток апоикальной меристемы корня, относятся *SHORT-ROOT (SHR1)* [5], *SCARECROW1 (SCR1)* [6] и *WOODEN LEG1 (WOL1)* [7]. В частности, ген *WOL1*, известный также как *CRE1*, или *АНК4*, кодирует мембранный белок-рецептор гистидин киназу *CRE1/WOL1/АНК4*, передающий цитокининовый сигнал через плазматическую мембрану к эффекторным белкам (факторам транскрипции), ответственным за регуляцию экспрессии генов в двухкомпонентных сигнальных системах [8].

Мутация гена *WOL1* вызывает у растений потерю функций мембранного рецептора гистидин киназы *CRE1/WOL1/АНК4*, воспринимающего внешний сигнал по отношению к клетке гормона, который участвует в активации ядерных генов цитокинином. В результате клетки на кончике корня в зоне деления теряют чувствительность к цитокинину, который осуществляет индукцию клеточного деления, активизирует рост клеток в длину, способствует их дифференцировке. Поэтому в апоикальной меристеме корня не происходит периклинального деления клеток, то есть деления клеток параллельно поверхности корня (осевой стороне), из которых образуется центральная ось корня и его коровая часть. Это вызывает у мутантных растений *wol-1* тяжелые дефекты в развитии сосудистых тканей корня [9, 10].

Поскольку до сих пор не проводились исследования влияния рецессивного аллеля гена *WOL-1* на строение корневой системы, то целью настоящей работы было изучить морфологию корневой системы у растений мутантной линии *wol-1*.

Материал и методы исследования

Материалом для исследований служили растения *A. thaliana* экотипа Columbia – Col-0 (дикий тип) и мутантной линии *wol-1* (*wooden leg-1*), семена которых были получены из Ноттингемского центра образцов арабидопсиса (Nottingham Arabidopsis Stock Centre (NASC), UK). Растения выращивали в лаборатории в асептической пробирочной культуре на агаризованной питательной среде Кнопа, обогащенной микроэлементами [11].

Семена к посеву готовили путем яровизации в течение 5 суток при температуре 4-6°C и последующего односуточного проращивания при комнатной температуре. Пробирки для предохранения от нагревания и попадания света на корни растений обертывали двумя слоями бумаги. Растения культивировали при температуре 18-20°C, освещенность круглосуточная в пределах 4000-7000 лк.

Методы исследований – вегетационный, сравнительно-морфологический. Изображения корневых систем растений получали с помощью цифрового фотоаппарата Benq DC C1220.

Результаты и обсуждение

На протяжении около ста лет особенности индивидуального развития *Arabidopsis thaliana* (L.) Heunh. исследовались морфологами, эмбриологами, физиологами и генетиками. Однако онтогенез растений до конца не изучен. Общие закономерности развития корней и корневых систем у *A. thaliana* менее исследованы, чем надземных органов как в отношении морфологических, так и физиологических признаков. Считалось, что для *A. thaliana* характерна стержневая корневая система [12]. Однако недавно было установлено, что у растений *A. thaliana* дикого типа (WT – wild type) образуется корневая система смешанного типа, объединяющая в себе систему главного корня и систему придаточных корней [13].

На рис. 1 (1) представлена смешанная корневая система дикого типа Col-0 с главным корнем, максимально ветвящимся в верхней и средней части. Главный корень характеризуется хорошим ростом и резко отличается от боковых корней по толщине и длине. Он с боковыми корнями образует систему главного корня. Придаточные корни развиваются на гипокотиле. Они обозначены на рисунке стрелкой. Придаточные корни тоже разветвляются и образуют боковые корни. В ходе ветвления из корней, берущих начало от стебля, формируется система придаточных корней.

Граница между гипокотилем и главным корнем (корневая шейка) часто бывает трудно отличима, и лишь характер эпидермиса (с устьицами на гипокотиле и без устьиц на главном корне) служит целям маркировки придаточных корней и дает возможность четко отграничить придаточные корни от боковых корней главного корня. По всей видимости, эти затруднения в разграничении придаточных корней от остальных корней корневой системы и послужили причиной представления о том, что у растений арабидопсиса формируется стержневая корневая система.

У мутантной линии *wol-1* корневая система внешне принципиально отличаются от корневой системы дикого типа. С морфологической точки зрения корни у растений мутантной линии *wol-1* в совокупности представляют собой мочковатую корневую систему, состоящую из придаточных и боковых корней различных порядков. Главный корень соответственно в корневой системе не выражен. Он закладывается в зародыше семени в виде первичного корешка. Спустя некоторое время из корешка зародыша развивается корень проростка, который обычно имеет узкоцилиндрическую или нитевидную форму. Как правило, он тоньше, чем стебель, поэтому обладает довольно резко выраженным переходом корня в стебель (корневой шейкой).

Корень проростка в результате нарушения нормального хода деления клеток апикальной меристемы кончика корня приостанавливает свой рост. Вместо этого на гипокотиле образуется большое количество придаточных корней, которые составляют основную массу корневой системы. Закладываются придаточные корни в онтогенезе растений рано, еще во внутренних тканях стебелька зародыша и развиваются при прорастании семени почти синхронно с корнем проростка. Они обладают способностью

ветвиться. При дальнейшем росте растения у придаточных корней появляются боковые корни. В совокупности придаточные и боковые корни, развиваясь, образуют мочковатую корневую систему.

На рис. 1 (2) изображена корневая система растений мутантной линии *wol-1*. Как видно из рисунка, корневая система у растений линии *wol-1* имеет абсолютно иное строение, чем у дикого типа. У нее хорошо видны придаточные корни, на которых формируются боковые корни. Главный корень развит слабо и не выделяется среди придаточных корней. В результате корневая система образуется в основном из придаточных корней, формирующихся у основания стебля. Более или менее одинаково развитые придаточные корни и их боковые корни в совокупности образуют мочковатую корневую систему. Этот тип корневой системы характерен, главным образом, для большинства представителей однодольных растений, например, для злаков, осок, лилейных и многих других, а не для двудольных растений, к которому относится вид *A. thaliana*, за исключением некоторых представителей (лютик, подорожник).

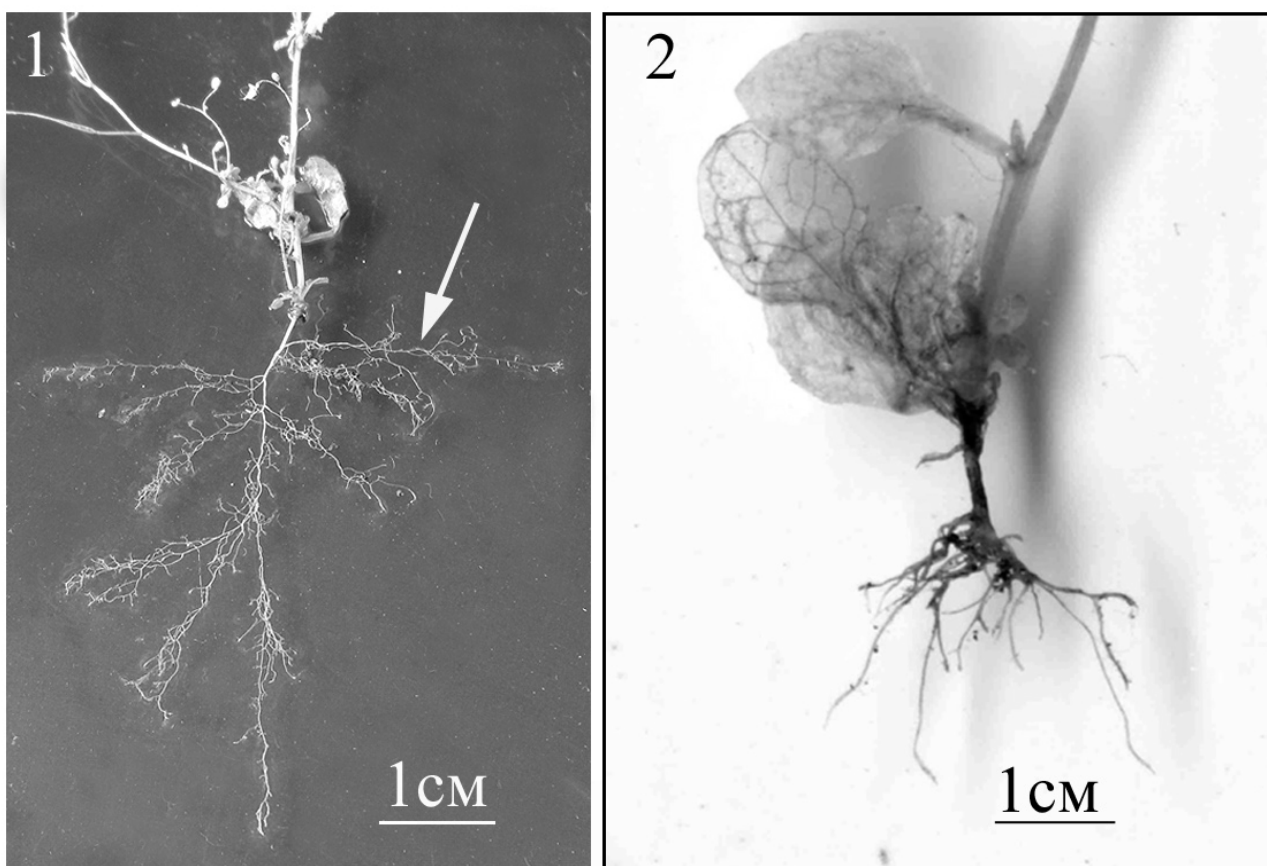


Рис. 1. Строение корневых систем у растений экотипа Col-O (дикий тип) и мутантной линии *wol-1* в фазе цветения: 1 – общий вид корневой системы экотипа Col-O (стрелкой на рисунке обозначены придаточные корни); 2 – корневая система мутантной линии *wol-1*.

Сравнение корневых систем по числу корней и по их длине у дикого типа и мутантной линии в фазе цветения показало, что в составе корневой системы растений линии *wol-1* господствуют придаточные корни: по числу корней они занимают 49,1% (17,0 из 34,6 шт.) всех корней, а по длине – 65,2% (21,2 из 32,5 мм). В то время как в составе корневой системы WT по длине корней преобладает главный корень и занимает 51,4% (57,7 из 112,3 мм) всех корней, а по числу корней доминируют боковые корни 2-го порядка ветвления главного корня, которые имеют 38,6% (41,7 из 108,1 шт.) (табл. 1).

Сравнение средних значений признаков корневых систем у экотипа Col-O (дикий тип) и мутантной линии *wol-1* в фазе цветения

Обозначение линии и название статистики	Признаки		Наименование корней							Всего корней	
			Главный корень	Боковые корни главного корня			Придаточные корни	Боковые корни придаточных корней			
				1-го порядка ветвления	2-го порядка ветвления	3-го порядка ветвления		1-го порядка ветвления	2-го порядка ветвления		3-го порядка ветвления
Col-O	число корней	шт.	1,0	21,1	41,7	9,0	2,0	10,1	16,8	6,4	108,1
		%	0,9	19,5	38,6	8,3	1,9	9,3	15,6	5,9	100
	длина корней	мм	57,7	17,8	6,1	3,7	12,4	6,6	5,1	2,9	112,3
		%	51,4	15,9	5,4	3,3	11,0	5,9	4,5	2,6	100
<i>wol-1</i>	число корней	шт.	0	0	0	0	17,0	11,2	6,4	0	34,6
		%	0	0	0	0	49,1	32,4	18,5	0	100
	длина корней	мм	0	0	0	0	21,2	7,2	4,1	0	32,5
		%	0	0	0	0	65,2	22,2	12,6	0	100
t-критерий Стьюдента	число корней		1,7***	28,1***	30,3***	7,9***	26,9***	1,4	4,0***	5,4***	12,5***
	длина корней		41,5***	10,6***	25,6***	15,7***	7,2***	1,1	1,7	8,6***	23,4***

Примечание. Достоверно при парном сравнении признаков с контролем: различия максимально значимы *** – $p < 0,001$.

В области функциональной генетики арабидопсиса в настоящее время решается амбициозная задача выяснения функций всех его 25000 генов во всем многообразии их проявлений и на всех уровнях организации живого. Познание функций генов *A. thaliana* – важный шаг к выяснению того, как функционируют сходные гены у родственных организмов. В настоящее время вопросы генетики морфогенеза корневой системы у растений практически не изучены. Несмотря на то, что проблемами генетики развития растений давно занимаются во всем мире, большая часть работ посвящена изучению развития побега, листа, цветка и соцветия. Для этих органов уже разработаны примерные программы развития, однако для корня модели генетической регуляции онтогенеза только

начинают создаваться. Имея данные по регуляции онтогенеза отдельных органов, можно создать модель управления растительным организмом на генном уровне. В этой связи подробное описание плейотропного эффекта гена *WOL1* на признак «тип корневой системы», широко используемый таксономистами, представляет несомненный интерес.

Выводы

На основании изучения строения корневой системы у растений мутантной линии *wol-1* нами было установлено, что детерминирование роста главного корня в результате дефектов в делении и дифференцировании инициальных клеток апикальной меристемы обуславливает изменение типа корневой системы. В результате этого мутантный ген *wol-1* приводит к образованию у растений мочковатой корневой системы, которая не имеет ясно выраженного главного корня и состоит преимущественно из большого количества придаточных корней. Этот факт указывает на то, что ген *WOL1* играет ключевую роль в формировании строения корневой системы у *Arabidopsis thaliana*.

Список литературы

1. Полевой В. В. Физиология растений: [учеб. для биол. спец. вузов] / В. В. Полевой. – М.: Высш. шк., 2006. – 464 с.
2. Хржановский В. Г. Курс общей ботаники (цитология, гистология, органография, размножение): [учеб. для сельхозвузов] / В. Г. Хржановский. – М.: Высш. шк., 1982. – 384 с.
3. Jiang K. Regulation of root apical meristem development / K. Jiang, L. J. Feldman // Annu. Rev. Cell Dev. Biol. – 2005. – Vol. 21, № 3. – P. 485–509.
4. Perilli S. Analysis of root meristem size development / S. Perilli, S. Sabatini // Methods Mol. Biol. – 2010. – Vol. 655, №2. – P. 177–187.
5. Benfey P. N. Root development in *Arabidopsis*: four mutants with dramatically altered root morphogenesis / P. N. Benfey, P. J. Linstead, K. Roberts, J. W. Schiefelbein, M.-T. Hauser, R. A. Aeschbacher // Development. – 1993. – Vol. 119, №5. – P. 57–70.
6. Sabatini S. SCARECROW is involved in positioning the stem cell niche in the Arabidopsis root meristem / S. Sabatini, R. Heidstra, M. Wildwater, B. Scheres // Genes Dev. – 2003. – Vol. 17, № 3. – P. 354–358.
7. Inoue T. Identification of *CRE1* as a cytokinin receptor from Arabidopsis / T. Inoue, M. Higuchi, Y. Hashimoto, M. Seki, M. Kobayashi, T. Kato, S. Tabata, K. Shinozaki, T. Kakimoto // Nature. – 2001. – Vol. 409, № 3. – P. 1060–1063.
8. Kakimoto T. Perception and signal transduction of cytokinins / T. Kakimoto // Annu Rev Plant Biol. – 2003. – Vol. 54, № 2. – P. 605–627.
9. Nishimura C. Histidine kinase homologs that act as cytokinin receptors possess overlapping functions in the regulation of shoot and root growth in *Arabidopsis* / C. Nishimura, Y. Ohashi, S. Sato, T. Kato, S. Tabata, C. Ueguchi // Plant Cell. – 2004. – Vol. 16, № 6 – P. 1365–1377.
10. Kuroha T. Cytokinin receptors are required for normal development of auxin-transporting vascular tissues in the hypocotyl but not in adventitious roots / T. Kuroha, C. Ueguchi, H. Sakakibara, S. Satoh // Plant Cell. Physiol. – 2006. – Vol. 47, № 2. – P. 234–243.
11. Большой практикум по физиологии растений: учебн. пособие для студентов биол. спец. вузов / [Б. А. Рубина, И. А. Чернавина, Н. Г. Потапов и др.]. – М.: Высш. шк., 1978. – 408 с.
12. Кондратьева-Мельвиль Е. А. Морфологическое и анатомическое строение *Arabidopsis thaliana* (Brassicaceae) в онтогенезе / Е. А. Кондратьева-Мельвиль, Л. Е. Водолазский // Ботан. журн. – 1982. – Т. 67, № 8. – С. 1060–1069.
13. Хаблак С. Г. Корневая система *Arabidopsis thaliana* (L.) Heunh. дикого типа расы Landsberg / С. Г. Хаблак, Я. А. Абдуллаева // Экосистемы, их оптимизация и охрана. – 2010. – Вып. 2 (21). – С. 92–98.

Хаблак С. Р., Абдуллаєва Я. А. Будова кореневої системи у мутантної лінії *wooden leg-1 (wol-1)* *Arabidopsis thaliana* (L.) **Heynh.** – Вивчено особливості будови кореневої системи у рослин мутантної лінії *wol-1 Arabidopsis thaliana*. Встановлено, що у рослин лінії *wol-1* формується мичкувата коренева система, у якій основну масу коріння складає додаткове коріння.

Ключові слова: *Arabidopsis thaliana*, коренева система, дикий тип, лінія мутанта.

Hablak S. G., Abdullaeva J. A. Structure of root system in the mutant lines *wooden leg-1 (wol-1)* *Arabidopsis thaliana* (L.) **Heynh.** – The features of the structure of the root system of plants mutant lines of *wol-1 Arabidopsis thaliana*. It was established that plant lines *wol-1* formed a fibrous root system, in which the bulk of the roots are adventitious roots.

Key words: *Arabidopsis thaliana*, root system, wild type, mutant line.