

ВПЛИВ КЛІНОСТАТУВАННЯ ТА МІКРОГРАВІТАЦІЇ НА УЛЬТРАСТРУКТУРУ ТА ФУНКЦІЇ ЯДЕРЕЦЬ РОСЛИННИХ КЛІТИН

© М. А. Соболев

Інститут ботаніки ім. М. Г. Холодного НАН України, Київ

Вивчено вплив кліностатування на вирощування рослин крес-салату (*Lepidium sativum*) протягом 2 діб. Показано, що змінена сила тяжіння викликає на організмовому рівні аномальний ріст рослин, а на субклітинному — певні ультраструктурні зміни ядерців меристематичних клітин коренів. Припускається, що змінена гравітація спричинює зниження функціональної активності ядерців в кореневих клітинах на різних рівнях, що може бути викликано загальними змінами клітинного метаболізму в умовах кліностатування, зокрема відбуватися завдяки дії зміненої гравітації на білок-синтезуючий апарат і на ядрець як його найважливішу ланку.

ВСТУП

Сучасний розвиток космічних наук та технологій сприяє поглибленню досліджень в галузі космічної фітобіології, адже рослини є необхідним елементом системи життєзабезпечення людини поза Землею як в орбітальних польотах, так і в майбутніх довготривалих експедиціях.

Ядрець є динамічною частиною ядра, яка відповідає за синтез та процесинг рРНК. Як найбільш лабільна органела ядрець є дуже чутливим індикатором рівня клітинного метаболізму при дії різноманітних факторів, зокрема мікрогравітації. Дослідження впливу реальної мікрогравітації в космічному польоті та кліностатування на структуру і функціонування ядрця розпочалися понад тридцять років тому, але робіт, присвячених особливостям ядерців в умовах зміненої сили тяжіння, зовсім небагато [9]. Існуючі дані щодо змін морфології та функціональної активності ядрця під впливом високої та низької температур, гіпоксії та УФ-мікроопромінення [1, 5—11] дозволили нам звернутися до вивчення реакцій ядрця на кліностатування. Тому метою нашої роботи було дослідження ультраструктурної організації та функціональної активності ядерців клітин коренів проростків крес-салату (*Lepidium sativum*) в умовах кліностатування, щоб зрозуміти, як ядрець реагує на гравітацію.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Насінини крес-салату пророщували на 1 % агаровому середовищі в пробірках ($d = 30$ мм, $H = 100$ мм) на повільному горизонтальному кліно-

статі (2 об/хв). Цей прилад застосовується для імітації деяких біологічних ефектів мікрогравітації, адже в земних умовах позбутися скалярного впливу сили тяжіння неможливо. Проростки крес-салату кліностатували у темряві протягом 2 діб. Корені фіксували для світлової мікроскопії та електронної мікроскопії у відповідності з традиційними методами. Специфічні ядрцеві аргентофільні білки виявляли за допомогою цитохімічного методу, модифікованого нами [2]. Давлені препарати корневих зон меристеми, розтягу та диференціювання були імпрегновані сумішшю 50 % водного AgNO_3 та 2 % желатини в 1 % мурашиній кислоті у співвідношенні 1:1 при 58 °C протягом 10 хв. Ультратонкі зрізи кореневої меристеми виготовляли на ультрамикротомі (LKB), контрастували цитратом свинцю та досліджували за допомогою електронного мікроскопа JEM 1200EX. Аналізували клітини 2-4 шарів периферії на рівні 2-3-шарового чохла. До результатів морфометричного аналізу був застосований стандартний комп'ютерний пакет статистичної обробки.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ВИСНОВКИ

На відміну від проростків, що росли при нормальній гравітації, корені проростків крес-салату, які вирости на кліностаті, вигиналися, скручувалися та росли у напрямку, протилежному до поверхні субстрату (рис. 1). Подібне явище спостерігали в умовах космічного польоту на однодобових проростках крес-салату [4].

В контролі, за даними електронної мікроскопії, клітини кореневої меристеми містили центральне ядро круглої або овальної форми, наповнене дифуз-

Таблиця 1. Результати морфометричного аналізу ядерця та ядерцевих компонентів меристематичних клітин коренів крес-салату в контрольних умовах та при кліностатуванні

Компонент	Параметр	Контроль	Дослід
Ядерце	Середній об'єм, мкм ³	34.41 ± 3.67	39.27 ± 4.05
ФЦ	Відносний об'єм, %	7.80 ± 0.80	22.18 ± 3.28*
	Середня кількість на ядерце	55 ± 6	173 ± 22*
	Середній об'єм одного ФЦ, мкм ³	0.048 ± 0.0034	0.048 ± 0.0040
ЩФК	Відносний об'єм, %	34.80 ± 3.01	15.36 ± 2.98*
ГК	Відносний об'єм, %	46.77 ± 2.74	47.76 ± 2.59
ЯВ	Відносний об'єм, %	10.63 ± 1.05	14.7 ± 2.46*

* $p < 0.05$

ним хроматином. Деякі блоки конденсованого хроматину спостерігали біля ядерної оболонки або в каріоплазмі. Ультраструктура меристематичних клітин коренів крес-салату була характерною для клітин цього типу. Середній об'єм ядра дорівнював 165.34 ± 14.40 мкм³. Одиноке велике ядерце круглої або злегка овальної форми було розташовано в центрі ядра. Його середній об'єм складав 34.41 ± 3.67 мкм³; відношення об'ємів ядерце — ядро дорівнювало 0.22 ± 0.012 . Згідно з прийнятою морфо-функціональною класифікацією [3] ядерця, що аналізувалися, можуть бути віднесені до нуклеолонемного типу або нуклеолонемно-вакуолізованого типу, для яких характерний високий або помірно високий рівень функціональної активності. Фібрилярні центри (ФЦ) розміщувалися по всьому ядерцевому об'єму. Їхній відносний об'єм, кількість на ядерце, середній об'єм одного ФЦ відносні об'єми всіх ядерцевих компонентів подані в табл. 1.

Щільний фібрилярний компонент (ЩФК) розміщувався навколо фібрилярних центрів або між ними. Гранулярний компонент (ГК) був розташований у вигляді широкого пухкого шару на ядерцевій периферії та навколо вакуолей. Тим самим ядерце набувало нечітких контурів, що непрямо свідчить про інтенсивний транспорт рибосомних субодиниць з ядерця в каріоплазму і потім в цитоплазму. Деякі кластери ГК виявлялися в тілі ядерця. Ядерцеві вакуолі (ЯВ) різних розмірів розміщувалися по всьому ядерцевому об'єму, мали нечіткі контури та нуклеоплазмо-подібний вміст. Маленькі фібрилярно-гранулярні блоки спостерігали всередині деяких великих вакуолей. Іноді ЯВ межували з ФЦ (рис. 2, а).

В умовах кліностатування ядра та ядерця не відрізнялися від контролю за формою та положенням. Середній об'єм ядра дорівнював 177.72 ± 17.36 мкм³. Ядерця були віднесені до тих самих морфо-функціональних типів, що і контрольні. Се-

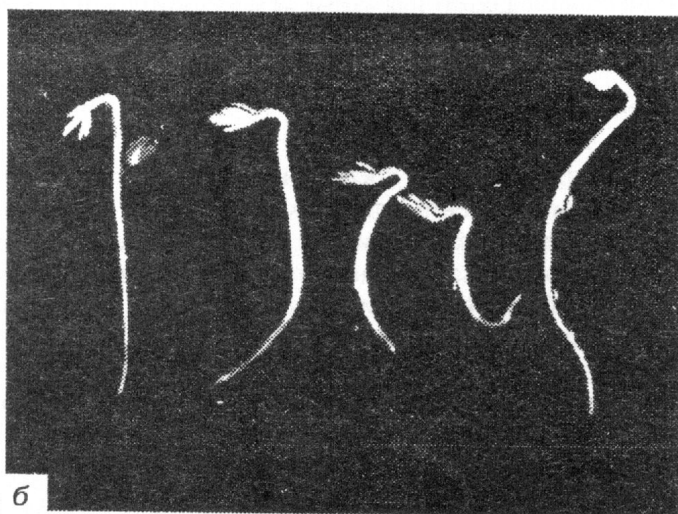
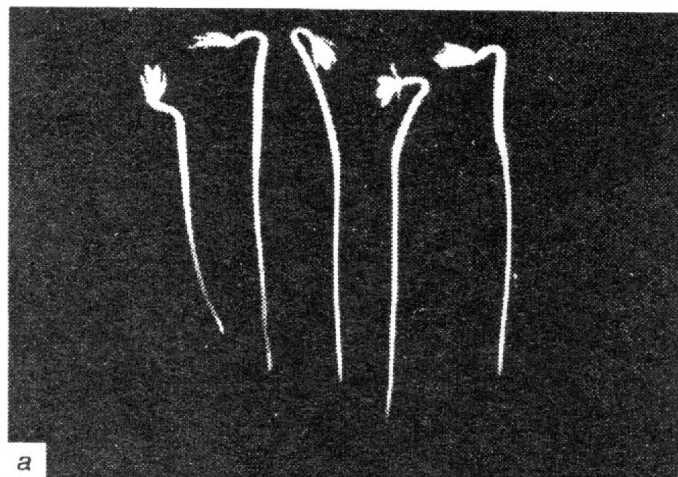


Рис. 1. Дводобові проростки крес-салату: а — контроль, б — експеримент

редній об'єм одного ФЦ не відрізнявся від контролю. На відміну від контролю, більші блоки конденсованого хроматину були виявлені в каріоплазмі. Ядерця характеризувалися щільнішим пакуванням компонентів. Ядерцевий середній об'єм складав 39.27 ± 4.05 мкм³. Відношення об'ємів ядерця та ядра дорівнювало 0.23 ± 0.016 . Цікаво, що відносний об'єм ФЦ (22.18 ± 3.28 %) і кількість ФЦ на ядерце (173 ± 22) перевищують контрольні показники втричі, при цьому середні об'єми одного ФЦ у контролі та експерименті однакові. В той же час відносний об'єм ЩФК (15.36 ± 2.98 %) був удвічі меншим, ніж у контролі. Гранулярний компонент займав ядерцеву периферію у вигляді щільного шару, що надавало ядерцю гладких контурів. Ядерцеві вакуолі були чітко окреслені і мали електронно-прозорий внутрішній матеріал. Більші за розміром ЯВ розташовувалися в центральній частині

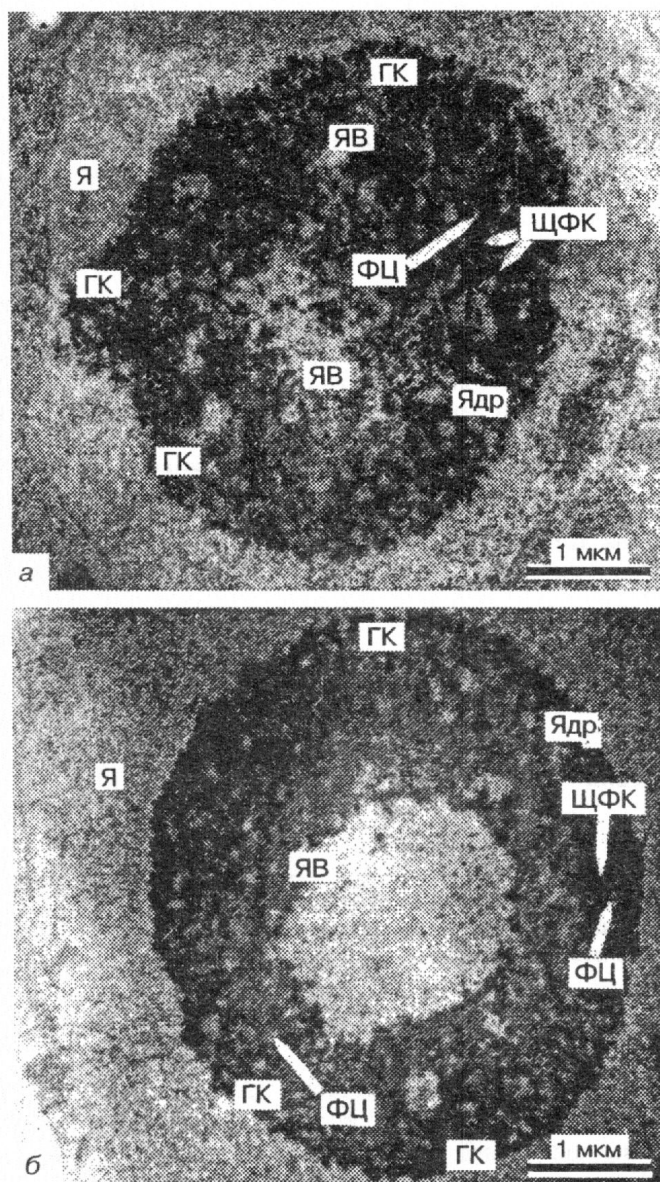


Рис. 2. Електронні мікрофотографії ядерців меристематичних клітин коренів проростків крес-салату: а — контроль, б — експеримент; а, б $\times 14820$. Відрізок дорівнює 1 мкм. Умовні позначення: Я — ядро, Ядр — ядерце, ФЦ — фібрилярний центр, ЩФК — щільний фібрилярний компонент, ГК — гранулярний компонент, ЯВ — ядерцева вакуоль

ядерця. Їхній максимальний об'єм досягав 14.38 мкм^3 (рис. 2, б).

Дані щодо об'єму аргентофільних білків в ядерцях різних зон кореня наведені в табл. 2.

Було показано, що в умовах зміненої гравітації тільки в клітинах зони розтягу об'єм аргентофільних білків в ядерцях зменшувався на 20 % і становив $145.41 \pm 5.95 \text{ мкм}^3$. В каріоплазмі був виявлений аргентофільний матеріал, рівномірно розташований в інтерхроматинових зонах.

Таблиця 2. Об'єм V , мкм^3 аргентофільних білків в ядерцях різних корневих зон проростків крес-салату в умовах кліностакування та при 1g

	Контроль	Дослід
Зона меристеми	219.55 ± 5.12	225.82 ± 7.86
Зона розтягу	177.90 ± 6.39	$145.41 \pm 5.95^*$
Зона диференціювання	29.06 ± 2.58	35.18 ± 2.29

* $p < 0.05$

Попри загальну схожість клітин кореневої меристеми у контролі та в умовах кліностакування, між ними існують цікаві розбіжності на субклітинному рівні: 1) збільшення відносних об'ємів фібрилярних центрів та ядерцевих вакуолей; 2) збільшення кількості ФЦ при сталості середнього об'єму одного ФЦ; 3) зменшення відносного об'єму щільного фібрилярного компонента; 4) зменшення об'єму аргентофільних білків в ядерцях зони розтягу та поява аргентофільного матеріалу в каріоплазмі. Згідно із сучасними даними [10] аргентофільні білки є специфічними маркерами транскрибованих та потенційно-активних генів рРНК і беруть участь у процесах транскрипції рДНК, процесингу та транспортування рРНК. Припускається, що змієна гравітація спричинює зниження функціональної активності ядерців в корневих клітинах на різних рівнях. Це може бути зменшення кількості експресованих локусів р-генів; зниження рівня транскрипції рДНК; зниження рівня процесингу та транспортування рРНК; уповільнення виходу рибосомних субодиниць, що дозрівають. Всі ці події можуть бути викликані загальними змінами клітинного метаболізму в умовах кліностакування, зокрема відбуватися завдяки дії зміненої гравітації на білок-синтезуючий апарат і на ядерце як його найважливішу ланку. З'ясування механізмів цих процесів потребує подальших досліджень з використанням молекулярно-біологічних підходів та досягнень в електронній цитохімії, імунофлюоресцентній та імунозолотій електронній мікроскопії.

1. Зацепина О. В., Воронкова Л. Н., Сахаров В. Н., Ченцов Ю. С. Ультраструктура интерфазных ядрышек клеток СПЭВ при их компенсаторной гипертрофии и деградации, вызываемых локальным УФ-микрооблучением // Цитология. — 1988. — 30, № 7. — С. 787—794.
2. Соболев М. А. Структурно-функціональні особливості ядерців клітин кореня *Lepidium sativum* L. (Brassicaceae Burnett) в умовах зміненої сили тяжіння // Укр. бот. журн. — 1999. — 56, № 4. — С. 358—364.
3. Челидзе П. В., Зацепина О. В. Морфофункціональна класифікація ядрышек // Усп. совр. биол. — 1988. — 105. — С. 252—268.
4. Antonsen F., Johnsson A. Effects of microgravity on the growth of *Lepidium* roots // J. Grav. Physiol. — 1998. — 5, N 2. — P. 31—21.

5. Jordan E. G., Cooper P. J., Martini G., Bennett M. D., Flavell R. B. The effect of temperature and aging on root apical meristems during seedling growth of *Triticum aestivum* L.: a specific effect of the nucleoli // Plant Cell Environ.—1985.—8.—P. 325—331.
6. Neumann D., Nover L. Heat shock-induced changes in cell ultrastructure // Heat shock response. — Boca Raton: CRC Press, 1991.—P. 282—298.
7. Sato S., Kurihara M. Argyrophilic nucleolus-associated chromatin in epidermal cells of *Vicia faba* induced by cold treatment // Protoplasma.—1986.—133.—P. 73—82.
8. Sato S., Yamada M. Effect of hypoxia on nucleoli in excised root tips of *Vicia faba* // Cytologia.—1996.—61.—P. 209—214.
9. Shen-Miller J., Hinchman R. R. Nucleolar transformation in plants grown on clinostats // Protoplasma.—1995.—185.—P. 194—204.
10. Yamada M., Sato S. Effect of hypoxia on nucleoli in excised root tips of *Vicia faba*: immunoelectron microscopy using anti-DNA antibodies // Cytologia.—1996.—61.—P. 403—410.
11. Yano H., Sato S. Alterations of the intranucleolar DNA

localization caused by hypoxic conditions in excised root tips of *Allium cepa* // J. Electron. Microsc.—1999.—48, N 6.—P. 947—955.

INFLUENCE OF CLINOROTATION AND MICROGRAVITY ON ULTRASTRUCTURE AND FUNCTIONS OF PLANT CELL NUCLEOLI

M. A. Sobol'

Influence of the clinorotation on the growing of *Lepidium sativum* plants during two days has been studied. It has been shown that altered gravity causes irregular growth of the plants at organism level and certain ultrastructural alterations of root meristem cell nucleoli at subcellular level. It has been suggested that altered gravity causes decrease of nucleolus functional activity in root cells on different levels. This decrease can be excited with general alterations of cell metabolism under clinorotation, in particular, happen due to altered gravity effect on the protein-synthesizing apparatus and on the nucleolus as its most important link.

УДК 159.9:62 (ББК 30.17)

ПРОГНОЗУВАННЯ НАУКОВОГО РОЗВИТКУ ЕРГОНОМІКИ КОСМОСУ

© О. В. Шевяков

Дніпропетровський державний університет

Наведено дані про становлення та розвиток відносно нового та перспективного напрямку науки і техніки — космічної ергономіки, проаналізовано її сучасні завдання, окреслені перспективи, що відповідають рівневі сучасних досягнень. Розкривається сутність ергономічного забезпечення розробки та експлуатації складних людино-машинних систем.

Одним із головних завдань космічної ергономіки є збереження здоров'я та підвищення працездатності космонавтів, інших членів екіпажів космічних апаратів, фахівців наземних систем управління польотами та обслуговування космічної техніки [1].

Традиційний шлях вирішення цих завдань полягає у дотриманні гігієнічних умов праці, нормуванні космічного навантаження, у створенні засобів захисту від шкідливих впливів, у проведенні оздоровчих заходів. Але існує інший шлях, що полягає у впливі безпосередньо на процес діяльності, — на психічні та фізіологічні функції, на яких ґрунтується цілеспрямована переробка інформації та витрати енергії людиною, а також на раціональну побудову технічних засобів. Цей шлях реалізується інженерами при створенні космічних апаратів, інструкторами та методистами космічної підготовки у процесі навчання та тренувань. При цьому далеко не завжди використовуються отримані в психології та фізіології дані про характеристики людини [2].

В останні роки з'явилась реальна можливість та практична необхідність об'єднання цих двох шля-

хів, для того щоб комплексно забезпечувати високоефективну діяльність космічних фахівців, починаючи від стадії замовлення космічної техніки і закінчуючи періодом її експлуатації у народному господарстві. В цьому і полягає сутність космічного напрямку ергономіки як науково-практичної дисципліни, що має метою підвищення ефективності космонавтики, безпеки та регулярності польотів за умов збереження здоров'я членів екіпажів та фахівців, що забезпечують польоти [3].

Існує два різних розуміння ергономіки. Перше — формально-організаційне. Ергономіка з цього боку є роботою з об'єднання та спільного використання на практиці сукупності різноманітних рекомендацій та методів (гігієнічних, фізіологічних, системно-технічних, соціологічних, психологічних, техніко-естетичних тощо). Друге — змістовно-специфічне. Ергономіка з цього боку є спеціальною науково-практичною дисципліною зі своїм предметом, методами та самостійними завданнями.

Предметом ергономіки як науки є вивчення системних закономірностей взаємодії людини або гру-