

УДК 58.031:581.4

<https://doi.org/10.15407/knit2024.06.052>

Г. В. ШЕВЧЕНКО, старш. наук. співроб., д-р біол. наук

ORCID: 0000-0001-5826-025X

E-mail: galli.shevchenko@gmail.com

Інститут ботаніки ім. М. Г. Холодного Національної академії наук України

вул. Терещенківська 2, Київ, Україна, 01024

ВПЛИВ МОДЕЛЬОВАНОЇ МІКРОГРАВІТАЦІЇ НА ОРГАНІЗАЦІЮ ЦИТОСКЕЛЕТА КОРЕНІВ РОСЛИН *ARABIDOPSIS THALIANA*

Планування пілотованих космічних місій потребує тривалого вирощування різних видів рослин, і це робить необхідним виявлення впливу мікрогравітації на клітини коренів, оскільки від стану кореневої системи залежить живлення та орієнтація рослини. Аналіз функціонування білків цитоскелета в умовах модельованої мікрогравітації є суттєвим для розуміння механізмів швидкої системи реагування клітин на зовнішні стимули, яка притаманна рослинам. Досліджували організацію тубулінового компонента цитоскелета та механізми його регуляції асоційованими білками в умовах горизонтального кліностатування, яке змінює полярність клітин, усуває спрямовуючий вплив та мінімізує дію сили тяжіння. Експерименти показали, що повільне кліностатування здатне викликати механічний стрес, пов'язаний із значним зменшенням гравітаційного навантаження на бокові клітинні стінки. Це позначається на організації тубулінового цитоскелета — складної системи полімерних білків, функціями якої є забезпечення форми клітини, її сигнальних та ростових реакцій. А саме, виявлено часткове відхилення мікротрубочок від поперечної орієнтації у кортикальній площині клітин зони розтягу коренів *A.thaliana*. Вищевказане може бути результатом зниження експресії гена TUA6, який кодує структурну субодиницю полімерів мікротрубочок та гена CLASP, білок якого регулює організацію тубулінової мережі. Зниження експресії генів призводить до порушення як полімеризації мікротрубочок, так і їхнього з'єднання із цитоплазматичною мембраною, що візуально проявляється у частковій дезорієнтації окремих мікротрубочок в епідермальних клітинах та клітинах кори. Таким чином, зменшення гравітаційного навантаження від кліностатування на клітину усуває потребу у жорсткій мережі кортикального цитоскелета, та позначається на його частковій дезорганізації, яка, у свою чергу, призводить до дискоординації росту коренів рослин. Дослідження впливу цитоскелета на ростові особливості рослин в умовах мікрогравітації є внеском у розроблення технологій вирощування рослин для довготривалих космічних польотів.

Ключові слова: модельована мікрогравітація, цитоскелет, механічний стрес, кортикальні мікротрубочки, *Arabidopsis*.

ВСТУП

Сприйняття та реакція на зовнішні стимули вимагають від рослин швидкої перебудови клітинного метаболізму, спрямованої на підтримання росту та життєдіяльності у змінених умовах. Дослідження сигнальних шляхів та їхньої регуляції є вагомим внеском у розуміння механізмів пристосування рослинної клітини до варіабельності

навколишнього середовища. Одним із компонентів клітини, який опосередковує сприйняття рослинами навколишніх умов, є цитоскелет, складовою якого є мікротрубочки (МТ) — внутрішньо порожнисті трубки завтовшки 24 нм, сформовані полімерами з α - та δ -субодиниць тубуліну [4]. Специфічна для рослин надзвичайна динамічність цитоскелета визначається як

Цитування: Шевченко Г. В. Вплив модельованої мікрогравітації на організацію цитоскелета коренів рослин *Arabidopsis thaliana*. Космічна наука і технологія. 2024. 30, № 6 (151). С. 52—58. <https://doi.org/10.15407/knit2024.06.052>

© Видавець ВД «Академперіодика» НАН України, 2024. Стаття опублікована за умовами відкритого доступу за ліцензією CC BY-NC-ND license (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>)

будовою самих МТ, так і активністю численних асоційованих білків, які регулюють просторове формування мережі цитоскелета, її сполучення із цитоплазматичною мембраною (ЦМ) та клітинною стінкою (КС) а також залучення у життєдіяльність клітини [10, 17], її поділ, ростові процеси, підтримання форми та сигнальні реакції від біотичних та абіотичних чинників [13]. Незважаючи на поширені дослідження цитоскелета рослин, пізнання його організації та регуляції потребує подальшого вивчення, що спонукає застосовувати нові методи і розробляти нові експериментальні підходи. Оскільки цитоскелет еволюційно сформувався у полі постійного гравітаційного впливу (1g) і виступає індикатором реакції рослинних клітин на зміну як полярності, так і сили тяжіння [1], широко досліджується організація та динаміка МТ у полі зміненої сили тяжіння — реальної мікрогравітації космічного польоту та модельованої в наземних експериментах [9, 18]. Незважаючи на виявлені зміни організації цитоскелета та його транскриптому, які пов'язують із пристосувальними реакціями рослин до мікрогравітації [12], багато питань впливу цього стимулу на цитоскелет залишаються дискусійними, наприклад полімеризація мікротрубочок. Відносно мало відомо про профайли генної експресії, пов'язаної із реорганізацією цитоскелета при мікрогравітації. Фармацевтичний підхід (використання інгібіторів полімеризації складових цитоскелета) дозволяє точніше виявити будову МТ а також їхню роль у ростових реакціях коренів на стрес. Окрім того, дія інгібіторів частково моделює зміну динаміки полімерів цитоскелета (переважання деполімеризації над полімеризацією).

Метою нашого дослідження було виявити зміни організації мікротрубочок кортикального шару клітин кореня та їхню регуляцію в умовах модельованої мікрогравітації. Для цього в умовах повільного клиностатування досліджували ріст коренів проростків *Arabidopsis thaliana* та транскрипцію генів, які кодують один із ізотипів глобулярного тубуліну — білок TUA6, а також білок CLASP, який декорує кінці МТ, сприяє їхній організації та регулює просторове розташування у кортикальній площині клітини.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

1. Матеріали. Об'єкт — 3-4-добові проростки *Arabidopsis thaliana* (лабораторна модельна рослина) клиностатували (1D-клиностат з періодом 2 об/хв) впродовж двох діб при фотоперіоді 8/16 год та температурі 25 °C.

2. Інгібітор полімеризації цитоскелета. У ролі дезорганізатора мережі МТ застосовували оризалін (OR) (3,5-динітро-N4,N4-дипропіл-бензенсульфамід) — динітроаніліновий гербіцид, який зв'язується із тубуліном, упереджує полімеризацію МТ і перешкоджає полімеризації нових МТ на всіх стадіях мітотичного циклу. Оризалін використовували у концентрації 5 мкМ, при якій частково руйнувалася мережа МТ і пригнічувався ріст проростків *Arabidopsis*.

3. Дослідження організації тубулінових мікротрубочок. Для уточнення топографії МТ використовували трансформовані лінії *A. thaliana* (L.) Heynh екотипу Columbia-GFP-MAP4 (продукт злиття гена тубуліну, асоційованого із доменом гена тваринного білка MAP4, який зв'язується із мікротрубочками і гена зеленого флуоресцентного білка GFP (Green fluorescent protein). Корені 6-7-денних проростків аналізували на конфокальному лазерному сканувальному мікроскопі LSM5 Pascal (Zeiss, Німеччина) з числовою апертурою 20×, 40× і 60× і лінзами 1.25. Барвник FITC збуджували лазером 488 нм, а флуоресцентні зображення аналізували у довжинах хвиль 500...600 нм. Фотографували за допомогою програми конфокального мікроскопа та обробляли у програмі Image Browser LSM5 Pascal. Знімки переводили у формат png, jpg або tiff з роздільністю 300 пкл на дюйм.

4. Експресія генів цитоскелета TUA6 та CLASP. Близько близько 100 мкг коренів різних проростків подрібнювали у рідкому азоті та виділяли загальну РНК (~1 мкг), яку транскрибували у кодувальну ДНК. Експресію генів аналізували за допомогою кількісної полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) у реальному часі (RT-qPCR) з використанням термоциклера Biometra (Analytik Jena, Йена, Німеччина) у таких умовах: 15 с при 95 °C, 35 циклів по 1 хв при 94 °C, 1 хв при 58 °C і 1.5 хв при 72 °C, після чого 20 хв — при 72 °C. Реакції містили SYBR Green Master Mix (Roche

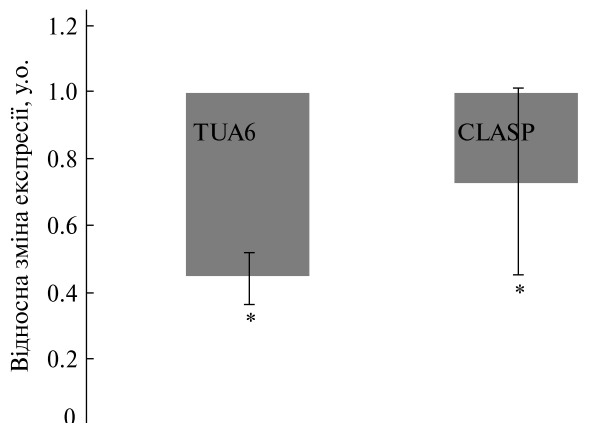


Рис. 1. Експресія генів *TUA6* та *CLASP* у клиноставованих проростках *Arabidopsis thaliana* (* — різниця між контрольними і експериментальними вибірками суттєва на рівні значущості $p < 0.05$)

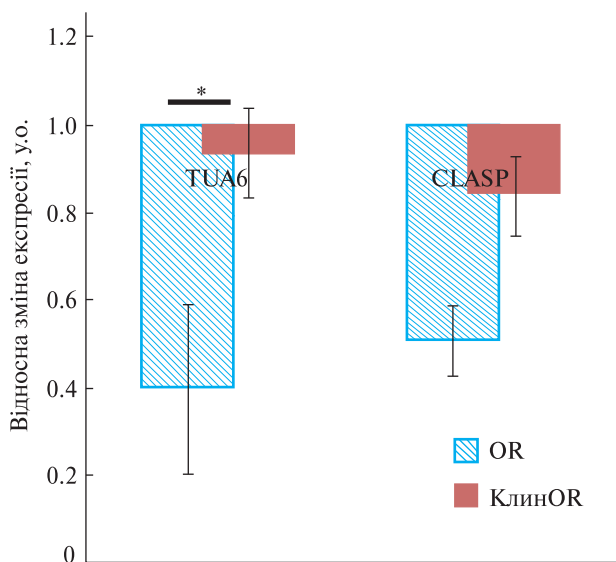


Рис. 2. Відносна зміна експресії генів *TUA6* та *CLASP* у не/клиноставованих проростках *Arabidopsis thaliana*, оброблених оризаліном, (* — різниця між контрольними і експериментальними вибірками суттєва на рівні значущості $p < 0.05$)

Diagnostics Corporation). Досліджували та аналізували експресію генів *TUA6* (AT4G14960; прямий праймер: GTTCTGGTTCAGCCTGATGG; зворотний праймер: CCAGTCCGTACCTCGTCAAT) та *CLASP* (AT2G20190; прямий: CTGTTGAAAGGCTGCATCAA; зворотний: CGACAA-

CAGCAGGAACAAGA). Гени *SAND* (AT2G28390; прямий: AACTCTATGCAGCATTTGATCCACT; зворотний: TGATTGCATATCTTTATCGCCATC) та *S18* (AT2G03810 pre-ribosomal assembly protein; прямий: ATTCCTGGTCGGCATCGTTTA; зворотний: GCGAAAGCATTTGCCAAGG) використовували як внутрішній стандарт ДНК для нормалізації. Експресію для кожної проби розраховували на основі трьох технічних повторень через стандартну криву (яка враховує ефективність праймера). Розрахунок $2^{-\Delta\Delta C_T}$, згідно з роботою [11], використовували для визначення відносного рівня мРНК.

Для оцінки різниці між кожним набором заходів для кожного гена використовували тест непараметричної статистики Wilcoxon rank test (статистична програма PSPP (www.gnu.org)). В експериментах із обробкою зразків оризаліном експресію генів порівнювали з експресією у контролі та при клиноставуванні. Відносна експресія генів вважалася зниженою/підвищеною, якщо вона відрізнялася щонайменше удвічі від такої у контролі.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Дослідження експресії *TUA6* у клиноставованих рослин *A.thaliana* показали її зниження (рис. 1).

Слід зазначити, що ген *TUA6* кодує alpha-ізоформу тубуліну (TUBULIN ALPHA-6), яка експресується у вегетативних тканинах і піддається змінам у реальній мікрогравітації космічного польоту [8]. Зниження рівня експресії *TUA6* при клиноставуванні свідчить про зменшення кількості білкових складових даного ізо типу тубуліну, що може позначатися на полімеризації мікротрубочок. Встановлено, що МТ є полярними структурами, утвореними альфа-субодиницею тубуліну на повільно зростаючому мінус-кінці та бета-тубуліном на швидко зростаючому плюс-кінці полімеру. Мікротрубочки можуть самостійно виконувати сенсорну функцію, і їхні мономери тубуліну здатні спонтанно полімеризуватися *in vitro*, а подовження або вкорочення МТ залежить від реакції на різноманітні внутрішньоклітинні та зовнішні стимули [5, 7].

Експерименти показали, що експресія гена *CLASP* також знижується (рис. 1). Асоційований з

мікротрубочками білок CLASP (cytoplasmic linker associated protein), як відомо, регулює їхню динаміку, стабілізуючи швидкоростучі плюс-кінці, що сприяє організації мережі кортикальних МТ та підтриманню сталої форми клітини [3]. Не виключено, що зниження експресії *CLASP* є наслідком порушення полімеризації МТ, оскільки при цьому знижується потреба у функціональній взаємодії білка CLASP із мікротрубочками.

Той факт, що порушення полімеризації МТ може впливати як на експресію *TUA6*, так і *CLASP*, свідчать експерименти із оризаліном (OR) (рис. 2).

При застосуванні цього інгібітора полімеризації у цитоплазмі клітини з'являється певна кількість вільних глобулярних ізотипів тубуліну. Не виключено, що кількість глобулярного тубуліну у цитоплазмі може зворотно впливати на експресію як *TUA6*, так і *CLASP*.

Проте слід відмітити, що при клиноостатуванні застосування OR не впливало на експресію *TUA6* та *CLASP* (рис. 2), що вказує на те, що взаємозв'язок між станом МТ та експресією вказаних генів залежить від зниження гравітаційного навантаження. Точний механізм такої взаємодії залишається невідомим, але, вочевидь, зв'язок між організацією МТ та експресією *TUA6* та *CLASP* при клиноостатуванні регулюється відмінно від стаціонарного контролю.

Порушення полімеризації МТ при клиноостатуванні впливає на організацію кортикальної мережі МТ, спричиняючи її часткову дезорганізацію. Це доводять візуальні спостереження, які виявили дезорієнтацію окремих кМТ, а саме, їхнє відхилення від нормальної поперечної організації на кут, близький до 45°, приблизно у 10 % клітин коренів клиноостатованих проростків *A. thaliana* [16] на рівні меристеми та зони розтягу коренів (рис. 3). Не виключено, що рандомізація кМТ внаслідок порушення полімеризації призводить до появи окремих вільних МТ і роз'єднання пучків МТ. Все це розріджує мережу кМТ.

У свою чергу, спотворення мережі кМТ при клиноостатуванні призводить до зниження ростових параметрів коренів *A. thaliana*, які дорівнювали 75.4 ± 17.4 % [14, 15]. Це узгоджується із нашими спостереженням зміни темпів росту та

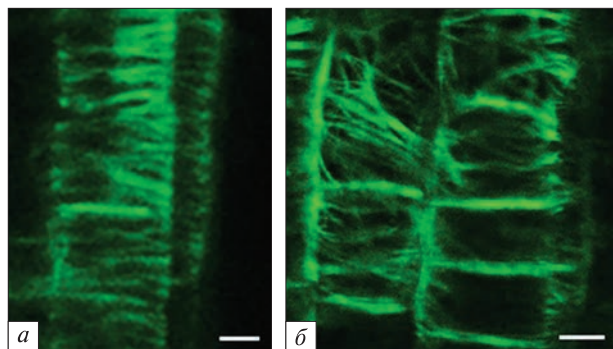


Рис. 3. Відхилення мікротрубочок від поперечної організації у клітинах кори пізньої меристеми коренів проростків *Arabidopsis thaliana* - GFP-MAP4 при клиноостатуванні (а — контроль, б — клиноостатування). Масштаб 10 мкм



Рис. 4. Схематичне зображення зменшеного навантаження на кортикальну область клітини і цитоскелет при клиноостатуванні (а — контроль, б — клиноостатування)

наявності рандомізованих кМТ у клітинах зони розтягу *Beta vulgaris* (червоний буряк) [2] та *Zea mays* (кукурудза).

Слід зазначити, що при застосованому типі горизонтального клиноостатування (1D) відбувається як переорієнтація самих рослин і клітин коренів, так і зняття спрямованого впливу гравітації. В результаті тиск протопласта (тургор) на цитоплазматичну мембрану і клітинну стінку мінімізується і гомогенізується (рис. 4).

Логічно припустити, що даний тип механічного стресу, який виникає від зменшеного навантаження на кортикальну область клітини [6], відчувається на рівні експресії генів — регуляторів організації кортикальної мережі МТ, яка

протидіє навантаженню. Зниження експресії генів структурних і асоційованих білків МТ, таких як TUA6 та CLASP, зменшує кількість відповідних білків, а отже, призводить до порушення полімеризації окремих мікротрубочок. Часткова дезорганізація мережі МТ, яка відбувається при цьому, пов'язана із зниженням потреби у жорсткому каркасі клітини. Оскільки одна із основних функцій цитоскелета — це забезпечення

ростових процесів, такі його перебудови призводять до зміни темпів росту кореня у цілому.

Аналіз реакції елементів цитоскелета на модельовану мікрогравітацію надає можливості визначити стресові умови росту для рослин і розробити заходи їхнього поліпшення, що є актуальним для створення біореєнеративних систем життєзабезпечення космонавтів у довгострокових космічних місіях та колонізації інших планет.

ЛІТЕРАТУРА

1. Кордюм Е. Л., Шевченко Г. В. Роль цитоскелета в гравичувствительности растительной клетки: экспериментальные данные и гипотезы. *Цитология и генетика*. 2003. **37**, № 2. С. 56—68.
2. Шевченко Г. В. Порівняльна організація тубулінових мікротрубочок у клітинах коренів *Zea mays* (Poaceae) та *Beta vulgaris* (Chenopodiaceae s. str. Amaranthaceae s. l.) під впливом клинотатування. *Укр. бот. журн.* 2021. **78**, № 6. С. 426—433. DOI.org/10.15407/ukrbotj78.06.426
3. Ambrose J. C., Shoji T., Kotzer A. M., Pighin J. A., Wasteneys G. O. The *Arabidopsis* CLASP gene encodes a microtubule-associated protein involved in cell expansion and division. *Plant Cell*. 2007. **19**. P. 2763—2775.
4. Brouhard G. J., Rice L. M. Microtubule dynamics: an interplay of biochemistry and mechanics. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 2018. **19**, № 7. P. 451—463. DOI: 10.1038/s41580-018-0009-y
5. Elliott A., Shaw S. L. Update: plant cortical microtubule arrays. *Plant Physiol.* 2018. **176**. P. 94—105.
6. Ferranti F., DelBianco M., Pacelli C. Advantages and limitations of current microgravity platforms for space biology research. *Appl. Sci.* 2021. **11**, № 1. P. 68. DOI: 10.3390/app11010068
7. Hsiao A-S., Huang J-Y. Microtubule regulation in plants: from morphological development to stress adaptation. *Biomolecules*. 2023. **13**. P. 627. DOI:10.3390
8. Kato S., Murakami M., Saika R., Soga K., Wakabayashi K., Hashimoto H., Yano S., Matsumoto S., Kasahara H., Kamada M., Shimazu N., Hashimoto T., Hoson T. Suppression of cortical microtubule reorientation and stimulation of cell elongation in *Arabidopsis* hypocotyls under microgravity conditions in space. *Plants*. 2022. **11**, № 465. P. 1—12. DOI: 10.3390/plants11030465
9. Kiss J. Z., Wolverton Ch., Wyatt S. E., Hasenstein K. H., van Loon J. W. A. Comparison of microgravity analogs to spaceflight in studies of plant growth and development. *Front Plant Sci.* 2019. **10**, № 1577. DOI: 10.3389/fpls.2019.01577
10. Krtková J., Benáková M., Schwarzerová K. Multifunctional microtubule-associated proteins in plants. *Front Plant Sci.* 2016. **7**, № 474. DOI: 10.3389/fpls.2016.00474
11. Livak K. J., Schmittgen T. D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2DDCT method. *Methods*. 2001. **25**. P. 402—408. DOI:10.1006/meth.2001.1262
12. Manzano A. I., Carnero-Díaz E., Herranz R., Medina F-J. Recent transcriptomic studies to elucidate the plant adaptive response to spaceflight and to simulated space environments. *Science*. 2022. **25**: 1046872022.104687. DOI: 10.1016/j.isci
13. Pleskot R., Pejchar P., Staiger C. J., Potocký M. When fat is not bad: the regulation of actin dynamics by phospholipid signaling molecules. *Front Plant Sci.* 2014. **5**. DOI:10.3389/fpls.2014.00005
14. Shevchenko G., Kalinina Ya. M., Kordyum E. L. Interrelation between microtubules and microfilaments in the elongation zone of *Arabidopsis* root under clinorotation. *Adv. Space Res.* 2007. **39**. P. 1171—1175.
15. Shevchenko G., Kalinina Ya. M., Kordyum E. L. Role of cytoskeleton in gravisensing of the root elongation zone in *Arabidopsis thaliana* plants. *Cell. Biol. Int.* 2008. **32**. P. 560—562.
16. Shevchenko G., Krutovsky K. Mechanical stress effects on transcriptional regulation of genes encoding microtubule- and actin-associated proteins. *Physiol. Mol. Biol. Plants*. 2022. **28**, № 1. P. 17—30. DOI: 10.1007/s12298-021-01123-x
17. Struk S., Dhonukshe P. MAPs: cellular navigators for microtubule array orientations in *Arabidopsis*. *Plant Cell. Rep.* 2014. **33**. P. 1—21. DOI: 10.1007/s00299-013-1486-2
18. Wang H., Li X., Krause L., Gorog M., Schuler O., Hauslage J., Hemmersbach R., Kircher S., Lasok H., Haser T., Rapp K., Schmidt J., Yu X., Pasternak T., Aubry-Hivet D., Tietz O., Dovzhenko A., Palme K., Dittengou F. A. 2-D clinostat for simulated microgravity experiments with *Arabidopsis* seedlings. *Micrograv. Sci. Tech.* 2015. DOI: 10.1007/s12217-015-9478-1

REFERENCES

1. Kordyum E. L., Shevchenko G. V. (2003). A role of cytoskeleton in gravisensitivity of a plant cell: experimental data and hypotheses. *Cytology and genetics*, **37**, № 2, 56—68.
2. Shevchenko G. V. (2021). Comparative organization of tubulin microtubules in root cells of *Zea mays* (Poaceae) and *Beta vulgaris* (Chenopodiaceae s. str. / Amaranthaceae s. l.) under the influence of clinorotation. *Ukr. Bot. J.*, **78**, № 6, 426—433. DOI.org/10.15407/ukrbotj78.06.426
3. Ambrose J. C., Shoji T., Kotzer A. M., Pighin J. A., Wasteneys G. O. (2007). The *Arabidopsis CLASP* gene encodes a microtubule-associated protein involved in cell expansion and division. *Plant Cell*, **19**, 2763—2775.
4. Brouhard G. J., Rice L. M. (2018). Microtubule dynamics: an interplay of biochemistry and mechanics. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.*, **19**, № 7, 451—463. DOI: 10.1038/s41580-018-0009-y
5. Elliott A., Shaw S. L. (2018). Update: plant cortical microtubule arrays. *Plant Physiol.*, **176**, 94—105.
6. Ferranti F., DelBianco M., Pacelli C. (2021). Advantages and limitations of current microgravity platforms for space biology research. *Appl. Sci.*, **11**, № 1, 68. DOI: 10.3390/app11010068
7. Hsiao A-S., Huang J-Y. (2023). Microtubule regulation in plants: from morphological development to stress adaptation. *Biomolecules*, **13**, 627. DOI:10.3390
8. Kato S., Murakami M., Saika R., Soga K., Wakabayashi K., Hashimoto H., Yano S., Matsumoto S., Kasahara H., Kamada M., Shimazu N., Hashimoto T., Hoson T. (2022). Suppression of cortical microtubule reorientation and stimulation of cell elongation in *Arabidopsis* hypocotyls under microgravity conditions in space. *Plants*, **11**, № 465, 1—12. DOI: 10.3390/plants11030465
9. Kiss J. Z., Wolverton Ch., Wyatt S. E., Hasenstein K. H., van Loon J. W. A. (2019). Comparison of microgravity analogs to spaceflight in studies of plant growth and development. *Front Plant Sci.*, **10**, № 1577. DOI: 10.3389/fpls.2019.01577
10. Krtková J., Benáková M., Schwarzerová K. (2016). Multifunctional microtubule-associated proteins in plants. *Front Plant Sci.*, **7**, № 474. DOI: 10.3389/fpls.2016.00474.
11. Livak K. J., Schmittgen T. D. (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2DDCT method. *Methods*, **25**, 402—408. DOI:10.1006/meth.2001.1262
12. Manzano A. I., Carnero-Diaz E., Herranz R., Medina F-J. (2022). Recent transcriptomic studies to elucidate the plant adaptive response to spaceflight and to simulated space environments. *Science*, **25**: 1046872022.104687. DOI: 10.1016/j.isci
13. Pleskot R., Pejchar P., Staiger C. J., Potocký M. (2014). When fat is not bad: the regulation of actin dynamics by phospholipid signaling molecules. *Front Plant Sci.*, **5**: 5. DOI:10.3389/fpls.2014.00005
14. Shevchenko G., Kalinina Ya. M., Kordyum E. L. (2007). Interrelation between microtubules and microfilaments in the elongation zone of *Arabidopsis* root under clinorotation. *Adv. Space Res.*, **39**, 1171—1175.
15. Shevchenko G., Kalinina Ya. M., Kordyum E. L. (2008). Role of cytoskeleton in gravisensing of the root elongation zone in *Arabidopsis thaliana* plants. *Cell. Biol. Int.*, **32**, 560—562.
16. Shevchenko G., Krutovsky K. (2022). Mechanical stress effects on transcriptional regulation of genes encoding microtubule- and actin-associated proteins. *Physiol. Mol. Biol. Plants*, **28**, № 1, 17—30. DOI: 10.1007/s12298-021-01123-x
17. Struk S. and Dhonukshe P. (2014). MAPs: cellular navigators for microtubule array orientations in *Arabidopsis*. *Plant Cell. Rep.*, **33**, 1—21. DOI: 10.1007/s00299-013-1486-2
18. Wang H., Li X., Krause L., Gorog M., Schuler O., Hauslage J., Hemmersbach R., Kircher S., Lasok H., Haser T., Rapp K., Schmidt J., Yu X., Pasternak T., Aubry-Hivet D., Tietz O., Dovzhenko A., Palme K., Ditegou F. A. (2015). 2-D clinostat for simulated microgravity experiments with *Arabidopsis* seedlings. *Micrograv. Sci. Tech.* DOI: 10.1007/s12217-015-9478-1

Стаття надійшла до редакції 19.06.2024

Після доопрацювання 23.07.2024

Прийнято до друку 23.07.2024

Received 19.06.2024

Revised 23.07.2024

Accepted 23.07.2024

G. Shevchenko, Senior Scientific Researcher, Doctor of Biological Sciences

ORCID:0000-0001-5826-025X

E-mail: galli.shevchenko@gmail.com

M. G. Kholodny Institute of Botany, National Academy of Sciences of Ukraine

2, Tereshchenkivska Str., Kyiv, 01024 Ukraine

MODELED MICROGRAVITY IMPACT ON THE CYTOSKELETON ORGANIZATION IN *ARABIDOPSIS THALIANA* ROOT CELLS

Planning manned space missions requires long-term cultivation of various types of plants, and this necessitates the detection of microgravity's impact on root cells since the nutrition and orientation of plants depend upon the state of the root system. Analysis of how cytoskeleton proteins function in simulated microgravity is essential for understanding the mechanisms of rapid cell response to external stimuli, which is inherent in plants. The organization of the tubulin component of the cytoskeleton and the mechanisms of its regulation by associated proteins were studied under the conditions of horizontal clinorotation, which changes cell polarity, eliminates directional influence, and minimizes the gravity effect. Experiments have shown that slow clinorotation causes mechanical stress associated with a significant decrease in the gravitational load on the side cell walls. This affects the organization of the tubulin cytoskeleton — a complex system of polymeric proteins whose functions are to ensure the shape of the cell, cell signaling and growth. Namely, a partial deviation of cortical microtubules from the transverse orientation in the cell of the *A.thaliana* root elongation zone was revealed. The above may be the result of a decrease in the expression of the *TUA6* gene, which encodes the structural subunit of microtubule polymers, and the *CLASP* gene, whose protein regulates the organization of the microtubule network. A decrease in gene expression leads to the alteration of both the polymerization of microtubules and their connection with the cytoplasmic membrane, which is visually manifested in partial disorientation of individual microtubules in epidermal and cortical cells. Thus, the reduction of the gravitational load from clinorotation on the cell eliminates the need for a rigid network of the cortical cytoskeleton and affects its partial disorganization, which, in turn, leads to the discoordination of plant root growth. Investigation of the cytoskeleton influence on the growth characteristics of plants in microgravity essentially contributes to the development of plant growth technologies for long-term space flights.

Keywords: modeled microgravity, cytoskeleton, mechanical stress, cortical microtubules, *Arabidopsis*.