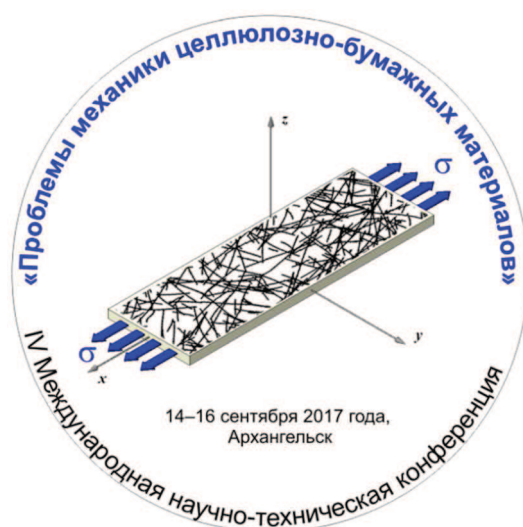




Министерство образования и науки Российской Федерации
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования
«Северный (Арктический) федеральный университет имени М.В. Ломоносова»

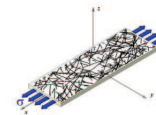
ПРОБЛЕМЫ МЕХАНИКИ ЦЕЛЛЮЛОЗНО-БУМАЖНЫХ МАТЕРИАЛОВ



МАТЕРИАЛЫ IV МЕЖДУНАРОДНОЙ НАУЧНО-ТЕХНИЧЕСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ ПОСВЯЩЕННОЙ ПАМЯТИ ПРОФЕССОРА В.И. КОМАРОВА

14–16 сентября 2017 г.

Архангельск
2017



НОВЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О ФОРМИРОВАНИИ ВОЛОКОН ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЙ

Е.В. Новожилов, Д.Г. Чухчин, К.С. Болотова

*Северный (Арктический) федеральный университет имени М.В. Ломоносова,
г. Архангельск, Россия*

Наша гипотеза предполагает, что камбий состоит из изодиаметрических клеток, которые локализованы на внешней границе вторичной флоэмы. Камбий производит структурные элементы флоэмы, которые трансформируются в анатомические элементы ксилемы. Предложена новая последовательность стадий формирования волокон. Одно волокно формируется из десятков клеток, построенных в ряды внутри общей оболочки.

NEW ASPECTS OF WOODY PLANT FIBRE FORMATION

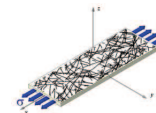
E.V. Novozhilov, D.G. Chukhchin, K.S. Bolotova

Northern (Arctic) Federal University named after M.V. Lomonosov, Arkhangelsk, Russia

Our hypothesis supposes that the vascular cambium consists of isodiametric meristematic cells. These cells are localized on the external border of the secondary phloem. The cambium produces only secondary phloem structural elements that are transformed into xylem anatomic elements. A new sequence of the stages of xylary fiber formation is proposed. One fiber is formed from dozens of isodiametric cells incorporated in a strand inside the common envelope.

Представление о том, что растительные волокна образуются из веретенообразных камбиальных инициалей, возникло еще в середине XIX века и, начиная с 20-х годов XX века, стало общепринятым. Считается, что эти инициали вместе с лучевыми инициалами входят в состав сосудистого камбия, который расположен между лубом (вторичной флоэмой) и древесиной (вторичной ксилемой). Такая локализация камбия предполагает, что рост анатомических элементов флоэмы и ксилемы идет раздельно. При этом фундаментальные знания об образовании растительных волокон являются ограниченными [1, 2].

На основании проведенных нами исследований предложены новые гипотезы локализации камбия и формирования древесных волокон. Инициалами при образовании волокон являются изодиаметрические меристематические клетки камбия, локализованные на внешней (ближней к корке) границе вторичной флоэмы. На рис. 1 в соответствии с новой гипотезой камбий показан между первичной флоэмой и вторичной флоэмой. С деле-



ния клеток камбия (клетки зеленого цвета, рис. 1) начинается процесс биосинтеза новых клеток. Вновь сформированные клетки участвуют в формировании всех анатомических элементов флоэмы.

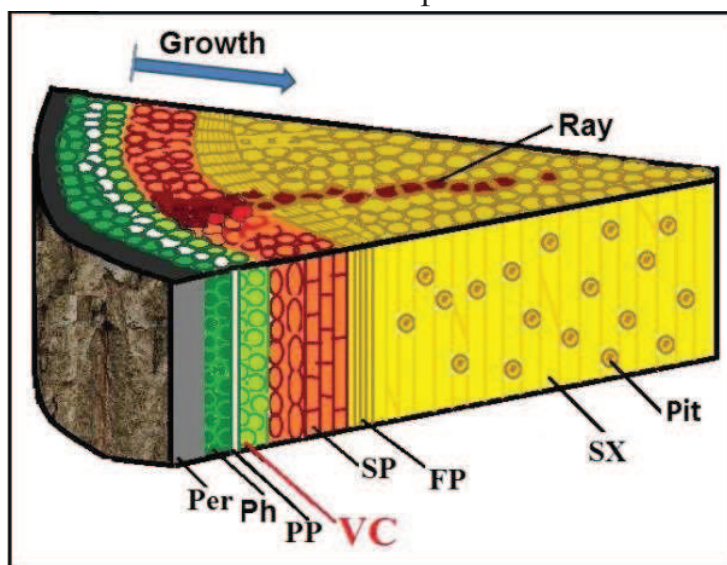


Рис. 1. Анатомические элементы и ткани ствола дерева (новая гипотеза): Per (periderm) – перидерма (корка); Ph (phellogen) – феллоген (корковый камбий); PP – первичная флоэма; VC – сосудистый камбий; SP – вторичная флоэма; FP – волокна с первичными стенками; SX – вторичная ксилема; Pit – пора; Ray – луч

Для подтверждения предложенной гипотезы были проведены исследования микроструктуры вторичной флоэмы и примыкающей к ней части ксилемы на примере березы (*Betula pubescens*) и ели (*Picea abies*). Подготовку образцов проводили путем криомеханической деструкции. После обработки жидким азотом ($-196\text{ }^{\circ}\text{C}$) готовили сколы образцов. Снимки делали на сканирующем электронном микроскопе ZEISS «SIGMA VP». Образцы покрывали слоем платино-палладиевого 80:20 сплава толщиной до 5 нм с помощью напылительной установки Q150T ES (Quorum).

Предлагаемая нами новая последовательность стадий формирования волокон показана на рис. 2. Одно волокно формируется из десятков клеток, построенных в ряды внутри общей оболочки.

Процессы образования древесного волокна начинаются на внешней границе флоэмы. На радиальных сколах образцов древесины березы представлены клетки камбиальной зоны (рис. 3, а). Они имеют округлую форму или слегка вытянутую форму, их размер варьируется от 10 до 30 мкм.

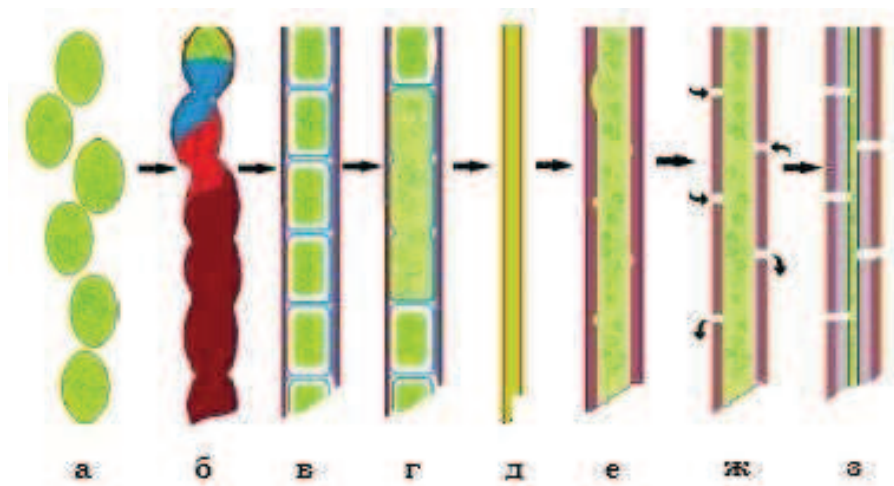
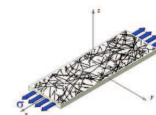


Рис. 2. Общая схема формирования структуры древесного волокна: *а* – образование новых клеток при делении стенок камбия; *б* – формирование аксиальных рядов клеток с общей оболочкой (первичной стенкой P волокон); *в* – образование аксиальной паренхимы; *г* – формирование перегородчатых волокон при разрушении септ; *д* – образование P -волокон; *е* – формирование структуры волокна со слоем S_1 , начальная стадия формирования пор; *ж* – завершение образования пор, начало отложения среднего слоя S_2 ; *з* – завершение образования структуры волокна

Новые клетки сразу после деления обладают достаточно толстой клеточной стенкой, ее общая толщина составляет 0,5–0,7 мкм. Видны два слоя, разных по составу, строению и расположению целлюлозных микрофибрилл (рис. 3, *б* и *в*). Мы назвали наружный слой первичным слоем клеточной стенки, а внутренний слой – ламеллярным слоем клеточной стенки. Поверхность стенки клетки закрыта аморфным веществом.

Показан начальный этап формирования структуры волокна из рядов клеток, окруженных общей оболочкой (будущей первичной стенкой волокна) (рис. 3, *з*). Видны 10 клеток ряда, расположенного вдоль ранее образованного фрагмента волокна. Далее формирование волокон идет с участием в качестве промежуточных структур аксиальной паренхимы (АР, рис. 2, этап *в*) и перегородчатых волокон (рис. 2, этап *г*). Септы (перегородки) в АР образованы стенками соседних клеток (рис. 4А). Показан протопласт внутри фрагмента перегородчатого волокна. Формирование общей оболочки ряда клеток, будущей первичной стенки P волокон ксилемы, происходит с участием первичных слоев всего ряда клеток (Рис. 4Б). Видны ламеллярные слои стенок клеток.

Следующий этап формирования структуры волокна связан с ферментативным разрушением септ между клетками АР (рис. 2, этап *г*).

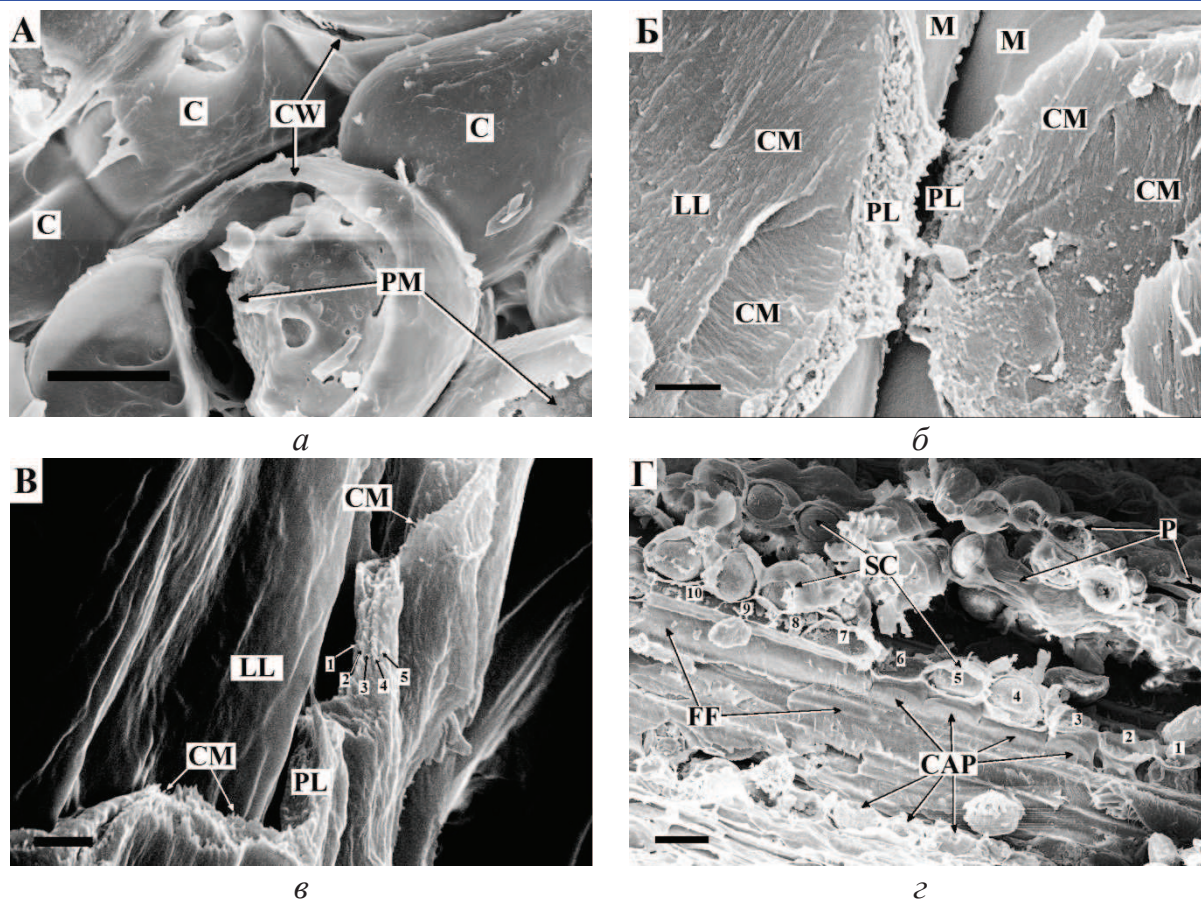
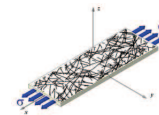


Рис. 3. Строение клеток камбиальной зоны и образование из рядов клеток: С – клетки камбиальной зоны, CAP – клетки аксиальной паренхимы; CM – микрофибриллы целлюлозы; CW – стенка клетки; FF – фрагмент волокна; LL – ламеллярный слой клеточной стенки; М – аморфный матрикс; Р – первичная стенка волокон; PL – первичный слой клеточной стенки; PM – плазматическая мембрана; PR – протопласт; SC – ряды клеток; масштабная линейка: а – 10 мкм; б – 500 нм; в – 500 нм; г – 20 мкм

На поверхности септы были обнаружены объекты диаметром около 100 нм (рис. 4, в). Такие объекты относятся к внеклеточным везикулам (экзосомам) [3]. Ферменты, содержащиеся в экзосомах, участвуют в гидролизе септ (рис. 4, в) и ламеллярных слоев стенок клеток (рис. 4, г). Первичная стенка *P* сохраняется, так как обладает очень высокой стойкостью к действию целлюлаз. Сетка микрофибрилл целлюлозы защищена матриксом, состоящим из пектинов, гемицеллюлоз и структурных белков [1]. При разрушении септ между клетками образуются перегородчатые волокна (рис. 2, этап г). Ферментативный гидролиз септ приводит к слиянию протопластов всех клеток внутри общей оболочки (первичной стенки волокна). Образующаяся при гидролизе целлюлозы глюкоза депонируется в крахмале, тургор внутри волокна снижается.

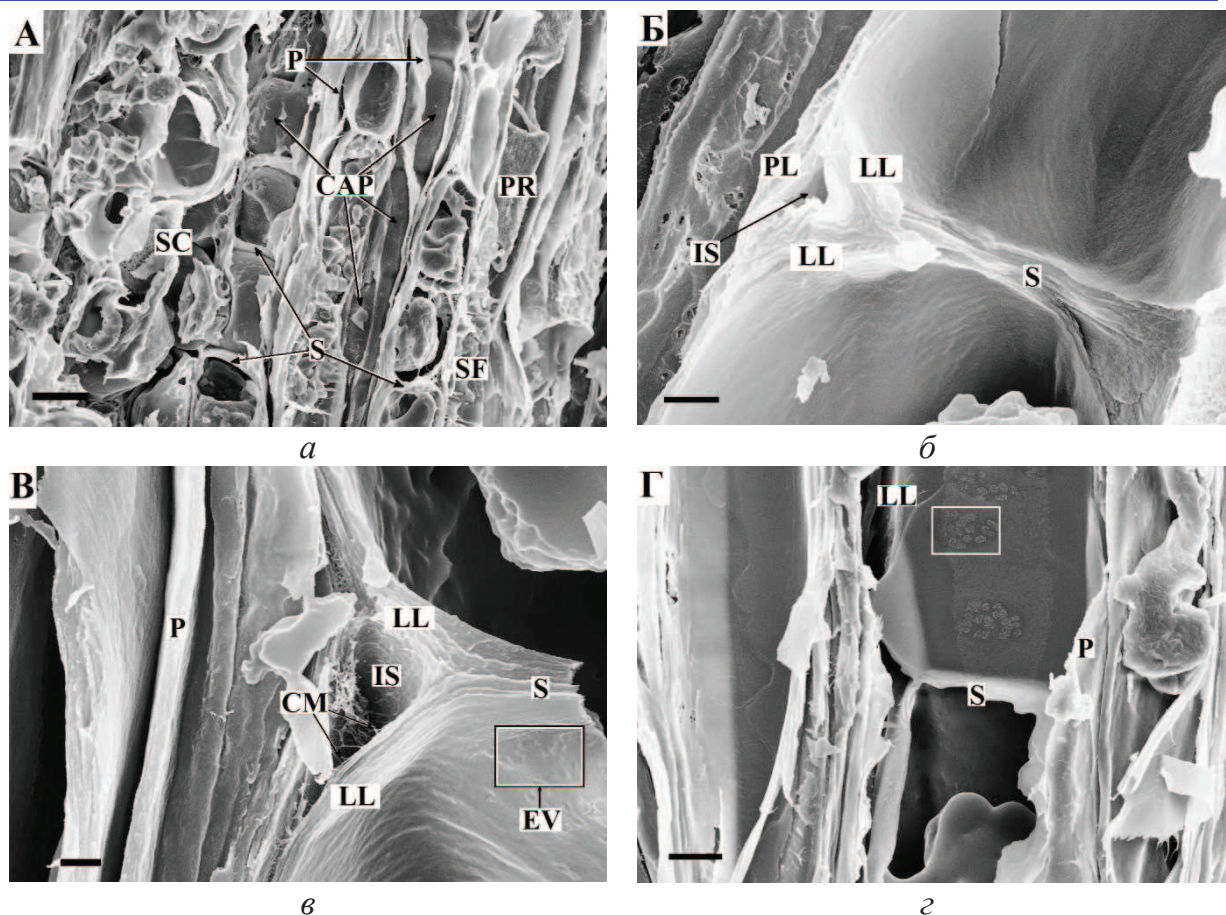
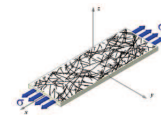


Рис. 4. Этапы формирования волокон с участием в качестве промежуточных структур аксиальной паренхимы и перегородчатых волокон: CAP – клетки аксиальной паренхимы; CM – микрофибриллы целлюлозы; IS – межклеточное пространство; LL – ламеллярный слой клеточной стенки; P – первичная стенка волокон; PL – первичный слой клеточной стенки; PR – протопласт; S – септа, SC – ряды клеток; SF – перегородчатое волокно; масштабная линейка: *a* – 20 мкм; *б* – 10 мкм; *в* – 500 нм; *г* – 1 мкм

После удаления септ и разрушения ламеллярного слоя волокна имеют только тонкую первичную стенку *P* без пор. Эти волокна были названы нами *P*-волокнами. Слой таких волокон (5-10 волокон) расположен между лубом и древесиной (рис. 5, *a*). Они сильно сжаты в радиальном направлении (рис. 2, этап д). Их ширина в 3-4 раза меньше, чем ширина соседних флоэмных или ксилемных волокон. Радиальные стенки в *P*-волокнах образуют складки и выглядят более толстыми, чем тангенциальные стенки (рис. 5, *б*). На внутренней поверхности *P*-волокна (рис. 5, *в* и *г*) видна сетка целлюлозных микрофибрилл, характерных для первичной стенки ксилемных волокон.

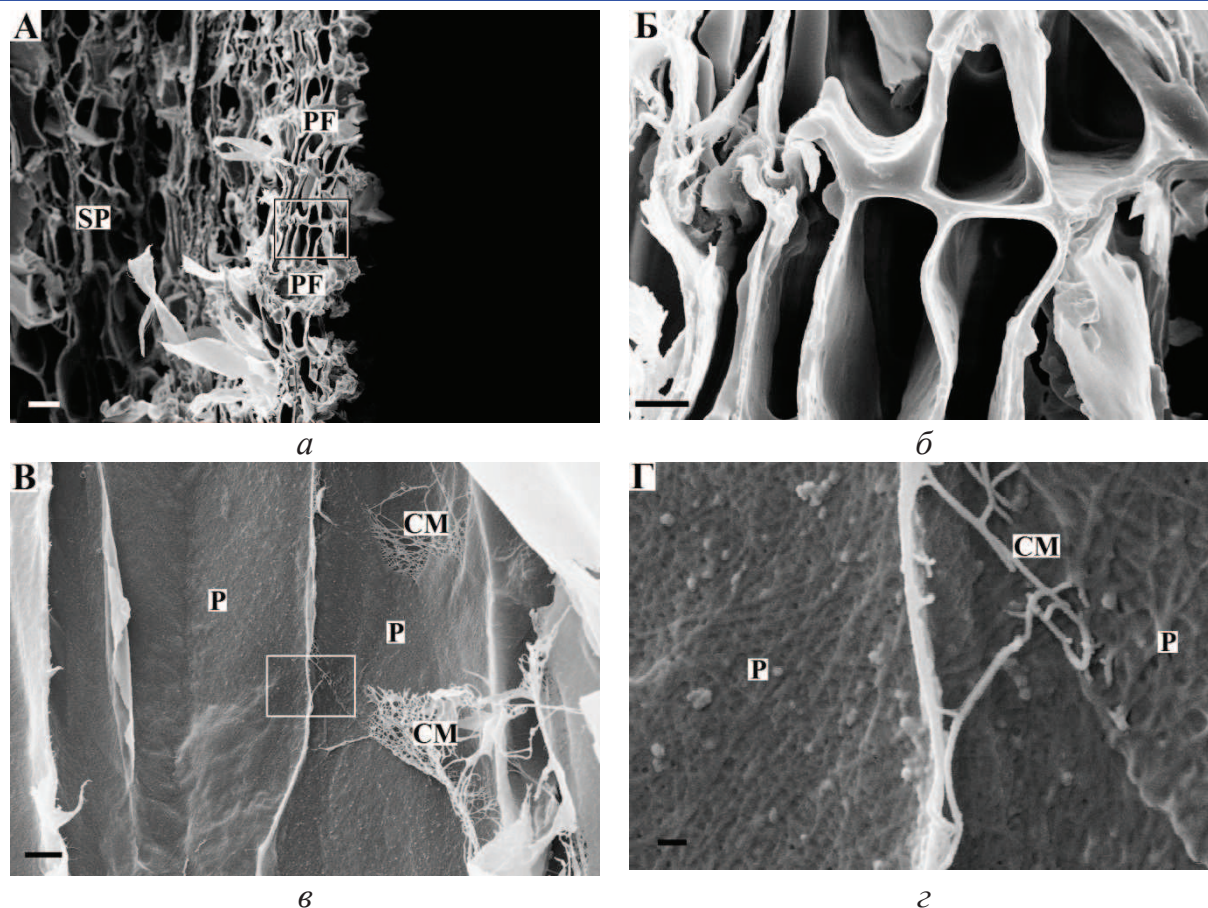
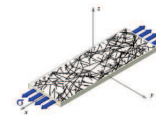
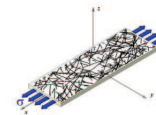


Рис. 5. Строение P -волокон, расположенных между флоэмой и ксилемой (a и $б$ – поперечный скол, $в$ и $г$ – радиальный); CM – микрофибриллы целлюлозы; P – первичная стенка волокон; PF – P -волокна; SP – вторичная флоэма; масштабная линейка: a – 10 мкм; $б$ – 2 мкм; $в$ – 1 мкм; $г$ – 100 нм

Внутри образующихся волокон периодически происходит переключение реакций биосинтеза и гидролитических процессов [4]. Глюкоза, содержащаяся в крахмале, накопленном в P -волокнах, используется для биосинтеза вторичной стенки волокна. Ее количества достаточно только для формирования наружного слоя S_1 (рис. 2, этап e). Образование пор начинается после строительства слоя S_1 . Участие экзосом в формировании пор впервые было представлено в наших исследованиях. Ферменты-гидролазы, доставленные экзосомами, разрушают полисахариды слоя S_1 в местах образования пор.

На рис. 6 слева направо показана последовательность формирования структуры волокон либриформа (A) и трахеид (B) с участием аксиальной паренхимы, перегородчатых волокон и P -волокон. Видны места формирования будущих пор в волокнах со слоем S_1 . После образования отверстия поры и поступления нового субстрата (сахарозы) происходит формирова-



ние среднего слоя S_2 и внутреннего слоя S_3 волокон либриформа и трахеид (рис. 2, этапы ж и з).

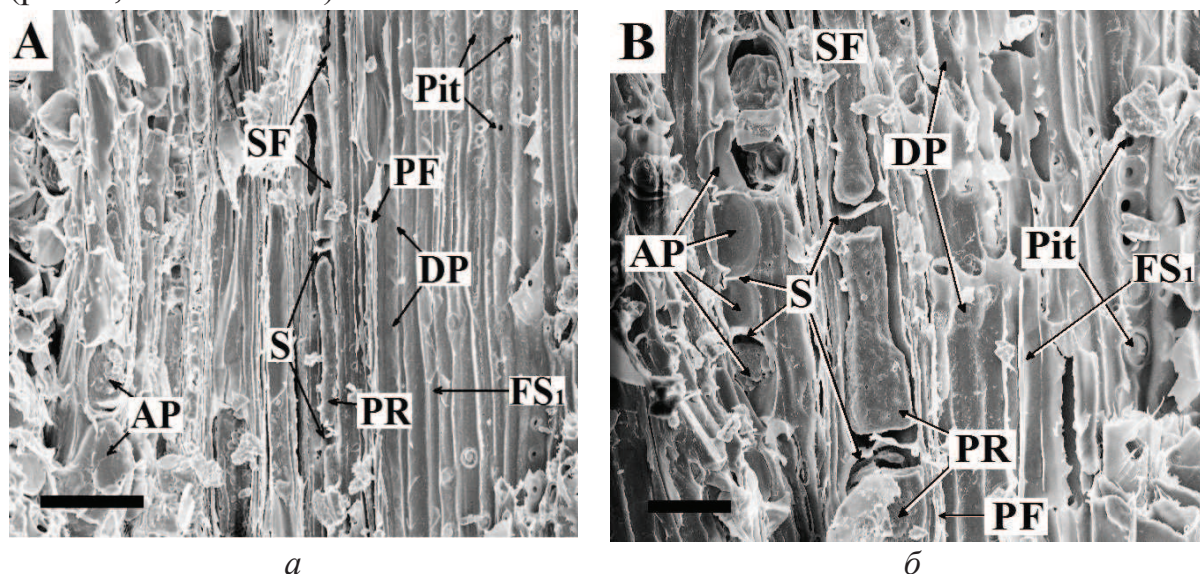


Рис. 6. Последовательность формирования структуры ксилемных волокон: радиальные сколы: *а* – ветка березы *Betula pubescens*; *б* – ветка ели *Picea abies*; AP – аксиальная паренхима; DP – развивающаяся пора; FS₁ – волокна со слоем S₁; PF – P-волокно; PR –протопласт; Pit – пора; S – септа; SF – перегородчатое волокно; масштабная линейка: *а* – 50 мкм, *б* – 20 мкм

Таким образом, каждое волокно древесины образуется за счет соединения между собой десятков камбиальных клеток внутри общей первичной стенки P , а не по причине «роста растяжением» одной камбиальной клетки. Такая модель функционирования сосудистого камбия согласуется с фундаментальными представлениями о том, что органы многоклеточных организмов формируются из стволовых клеток небольшого размера после их дифференциации.

Список литературы

1. Evert R. Esau's Plant anatomy: meristems, cells, and tissues of the plant body: their structure, function, and development. 3rd ed. Wiley-Interscience. 2006. 601 p
2. Gorshkova T., Brutch N., Chabbert B. et al. Plant Fiber Formation: State of the Art, Recent and Expected Progress, and Open Questions. Critical Reviews in Plant Sciences. 2012. V. 31. N 3. P. 201–228.
3. Kalra H, Drummen G, Mathivanan S. Focus on extracellular vesicles: introducing the next small big thing //International J. Molecular Sciences. 2016. V. 17. N 2. P.170.
4. Wang H-Z., Dixon R. On-off switches for secondary cell wall biosynthesis. // Molecular Plant. 2012. V. 5. N 2. P. 297–303.