

Ю. В. Гамалей, С. Н. Шереметьев, М. В. Пахомова, К. Е. Чеботарева

Подвижность углеводного пищевого тракта растений: уроки и перспективы микроскопической техники наблюдений

Yu. V. Gamalei, S. N. Sheremetiev, M. V. Pakhomova, K. E. Chebotareva

Mobility of carbohydrate trophic tract in plants: lessons
and prospects for microscopic technique of observation

Ботанический институт им. В. Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург
ygamalei@mail.ru

Проанализированы этапы развития микроскопической техники и ее роль в становлении взглядов на структурную специфику клеточных систем высших растений. Особое внимание обращено на конфликтные ситуации, возникавшие при попытках совмещения результатов наблюдений прижизненных (световая и конфокальная микроскопия) и фиксированных (электронная микроскопия) препаратов. На основании исследований подвижности углеводного пищевого тракта предложена клеточно-сетевая модель организации сосудистых растений, непротиворечиво объединяющая данные электронной и конфокальной микроскопии. Обсуждаются аналогии клеточных систем и межклеточных водных сред растений и животных, их роли в развитии и старении организмов.

Ключевые слова: клеточные системы, межклеточная среда, транспорт фотосинтатов, стромулы, плазмодесмы, эндоплазматический ретикулум, электронная микроскопия, конфокальная микроскопия.

Введение

Микроскопическая техника подарила наблюдателю новый мир, невидимый невооруженным глазом, позволила заглянуть внутрь живых организмов. Она очень широко востребована и в связи с этим стремительно развивается. Для многих ботанических дисциплин микроскопия — базовый метод. Ткани растений (древесина, кора) относятся к числу ее первых объектов. На их материале были получены данные, ставшие фундаментом клеточной теории, клеточной терминологии. Дальнейшее их развитие тоже во многом было обязано ботаническим исследованиям. Гистология, цитология, кариология, эмбриология на первых этапах успешнее развивались на материале растительных клеток и тканей по причине их более легкой доступности для микроскопических исследований.

Императорский Ботанический сад был одним из первых центров становления методов и научных школ микроскопистов в России. На невских берегах выросли и стали крупными учеными К. Е. Мерклин, А. С. Фаминцын, И. П. Бородин, С. Н. Виноградский, А. Ф. Баталин, В. И. Палладин, А. А. Заварзин, Д. Н. Насонов, В. Я. Александров, В. Г. Александров, А. А. Яценко-

Хмелевский, М. Ф. Данилова, многие другие микроскописты. Нет возможности перечислить всех, чьи имена составили славу отечественной науки. Они закладывали не только новые области знаний, но и новые исследовательские учреждения в области биологии и медицины (институты растениеводства, защиты растений, физиологии растений, микробиологии, экспериментальной медицины, лаборатории экспериментальной физиологии и экспериментальной экологии и др.). Одни из них возникали на Аптекарском острове, в ближайшем окружении Ботанического института, в результате чего здесь сформировался один из первых в стране центр академической науки и микроскопии, другие — в пригородах Петербурга, третьи — в Москве. В последнем случае географическая разобщенность тоже не препятствовала человеческим и научным связям, преемственности мировоззрения ученых этих учреждений.

Наряду с универсальностью использования в разных областях биологии, широкими возможностями и перспективностью, микроскопический метод исходно имел и слабые стороны. Его было гораздо проще применять в работе с фиксированными препаратами, чем на живом материале. В этом же состоял один из главных недостатков. Работа с тонкими срезами давала возможность получать двумерные изображения, которые исследователь в простейшем варианте сам в уме преобразовывал в трехмерные. Это качество субъективно. Необходимость препарации материала перед наблюдениями в принципе не давала возможности следить за развитием структуры. Указанные недостатки микроскопической техники так или иначе преодолевались в ходе ее совершенствования. Разрабатывались методы прижизненных наблюдений структуры растительных клеток. Создавались технические приемы автоматического перевода 2D-изображений в 3D. Микроскопические видеофильмы, ставшие реальностью последнего десятилетия, компенсировали сразу многие недостатки.

Новые материалы, полученные с применением более совершенных методов микроскопии, стимулировали развитие клеточной теории. Основные проблемы и противоречия возникали при попытках совмещения результатов наблюдений прижизненных и фиксированных препаратов. Прижизненные методы наблюдений

(световая микроскопия в XIX и конфокальная лазерная в XXI в.) демонстрировали динамичную внутриклеточную структуру растений, наблюдения на фиксированном материале (трансмиссионная электронная микроскопия в XX в.) — статичную, ведущую к артефактам и субъективным интерпретациям. Анатомические и цитологические исследования на мертвых препаратах приводили к ошибкам серьезным и длительным, перераставшим в застойные догмы. Уже сложившиеся представления трудно пересматривались, даже когда аргументы для этого уже накопились.

Для исследований общей мембранной топографии клеток методы электронной микроскопии фиксированных препаратов были вполне информативны. Для выяснения ее динамики они оказались непригодными. Методический перелом произошел с появлением конфокальной и видеомикроскопии. По сравнению с методами электронной микроскопии принципиальная новизна подхода состояла в возврате к прижизненным наблюдениям. В результате внедрения новой микроскопической техники наблюдения световых микроскопистов в XIX в., поставленные под сомнение данными электронной микроскопии в XX в., оказались реабилитированными. В качестве примера можно напомнить историю представлений об углеводном пищевом тракте высших растений, его взаимоотношениях с пластидами и митохондриями.

История исследований углеводного пищевого тракта растений

В исследования флэмного транспорта наибольший вклад внесли представители немецкой научной школы: открытие плазмодесм — Э. Тангл (Tangl, 1879) и Э. Страсбургер (Strasburger, 1882), анатомия терминальной флэмы — А. Фишер (Fischer, 1885), осмотические механизмы транспорта — Ф. Пфеффер (Pfeffer, 1877), представление о симпласте и апопласте — Э. Мюнх (Münch, 1930), биохимия флэмного эксудата — М. Циммерманн и Х. Циглер (Zimmermann, 1957; Ziegler, 1975), загрузка флэмы — В. Эшрих (Eschrich, 1970). Школы флэмного транспорта К. Эсау в США и А. Л. Курсанова в Советском Союзе базировались на достижениях немецкой школы. Представления, сформулированные Мюнхом, стали фундаментом концепции углеводного пищевого тракта сосудистых растений, эндоплазматического для деревьев и экзоплазматического (апопластного) для трав (Гамалей, 1994, 2004). Непосредственным поводом развернуть сравнительные исследования структуры и функций терминальной флэмы стали публикации сотрудников Белфастского университета (Ирландия), посвященные «transfer cells» травянистых растений (Gunning et al., 1968). Предшественники, работавшие на бобовых, нашлись и по этой теме, в том числе немецкие (Ziegler, 1965; Wark, 1965). Их публикации прошли практически незамеченными. Работы ирландских исследователей, наоборот, сразу привлекли общее внимание благодаря

тому, что в них было обращено внимание на специфичность «transfer cells» и апопластных лабиринтов для луговых трав, подсказанное флорой Ирландии, описываемой как обедненный вариант альпийской луговой флоры.

Далее в развитии сравнительных исследований флэмного транспорта заметную роль сыграла отечественная наука. Это стало следствием ряда обстоятельств, и не только научных. Во-первых, многие западные исследователи перешли на молекулярную тематику. Среди специалистов по флэме стало модным заниматься передвижением регуляторных белков. Верность углеводному транспорту сохранили единицы. Во-вторых, благодаря информационной системе, сложившейся в годы «холодной войны», отечественные научные работники имели доступ к западной литературе, их коллеги на западе о результатах советских ученых были осведомлены хуже. Например, занимаясь исследованиями терминальной флэмы деревьев, мы знали о работах проф. Ганнинга и сотрудников по луговым травам, а они о наших результатах — нет. Из-за политической ситуации в Северной Ирландии группа Ганнинга распалась, ее костяк эмигрировал в Австралию, тематика исследований сменилась. В других обстоятельствах все могло сложиться иначе.

В Ботаническом институте РАН направление сравнительных исследований флэмного транспорта, начатое немецкими и ирландскими ботаниками, было подхвачено. Фокус сместился на влияние климатических факторов на структуру флэмы и формы роста растений. Сравнение их структурно-функциональной специфики привело к обнаружению принципиальных различий углеводного пищевого тракта у древесных форм палеогена и трав неогена. Переход в олигоцене от теплого и влажного, оранжерейного для растений, климата палеогена к сезонно холодному, избыточному оледенениями климату неогена привел к замене термочувствительного эндоплазматического флэмного транспорта на свободный от температурного влияния экзоплазматический. По мере охлаждения климата древесные формы дождевого леса с эндоплазматическим экспортом углеводов уступали место луговым травам с экзоплазматическим их распределением. Чтобы убедиться в этом, потребовалось исследовать не десятки и не сотни, а тысячи видов. Результатом стала электронная база структурно-функциональных параметров флэмы, организованная по группам растительных форм. Ее анализ дал пищу для новых направлений осмысления роли климата в их эволюции. Такова краткая история исследований углеводного пищевого тракта сосудистых растений за сто с небольшим лет.

Особый интерес к плазмодесмам как к межклеточным контактам растений вспыхивал за эти годы неоднократно. Профессор Кенигсбергского университета Э. Тангл (Tangl, 1879), используя методы прижизненного окрашивания цитоплазмы реактивами JKJ и ClZnJ , обнаружил «цитоплазматические нити, связывающие протопласты соседних клеток». Аналогичные

результаты были получены московским профессором И. Н. Горожанкиным на эмбриологическом материале. Его наблюдения менее известны, поскольку, как многие русские ученые, он не спешил с публикацией своих результатов на европейских языках. Несколькими годами позже Э. Страсбургер (Strasburger, 1882) обнаружил цитоплазматические нити между протопластами соседних клеток методом плазмодиза и дал им название «Plasmodesmen» (Strasburger, 1901), прочно вошедшее в цитологическую литературу. Роль плазмодесм в качестве межклеточных транспортных коммуникаций была понята сразу и широко обсуждалась. Сравнительные исследования разных тканей показали, что они повсеместны в теле растений, но в количественном отношении распределены неравномерно. Флоэмоцентрический градиент плазмодесм был оценен как одно из свидетельств их участия в распределении фотосинтатов по телу растения (Esau, 1969; Гамалей, 2004).

Начинать описание и обсуждение экспортного пути фотосинтатов логично было бы не с плазмодесм, а со «стромул» пластид, но они были открыты и описаны на 120 лет позже плазмодесм, с появлением и внедрением в цитологическую практику конфокальной лазерной микроскопии и трансгенных флуоресцентных белков-маркеров углеводного тракта (Köhler et al., 1997). Густая сеть нитей, исходящих от пластидной оболочки, была обнаружена и описана как сеть «стромул» (Köhler, Hanson, 2000; Gray et al., 2001; Mathur et al., 2012). Авторы, предложившие этот термин, полагали, что открыта новая, не известная ранее цитологам растений структура. Они описали ее как нитевидные выросты пластид, ограниченные, как и сами пластиды, двойной мембранной оболочкой и заполненные стромой. По их мнению, все пластиды в клетке объединены ими в общий фотосинтезирующий сетевой комплекс (Mathur et al., 2013; рис. 1, *a*). По-видимому, авторов несколько не смущала парадоксальность такой интерпретации. Никаких строгих доказательств двух мембран оболочки и наполнения «стромул» стромой, как и сетевой структуры пластид, на тот момент представлено не было. Это были наиболее простые и казавшиеся логичными интерпретации данных абсолютно нового метода наблюдений. Этой же группой авторов сообщалось, что нити объединяют не только пластиды, но и митохондрии в единую внутриклеточную сеть (Gray et al., 1999, 2001), что выглядело правдоподобно, но совсем не сочеталось с интерпретацией их содержимого как стромы пластид или матрикса митохондрий. Конфокальная микроскопия не дает достаточного разрешения для возможности наблюдения двух мембран оболочки, поэтому среди исследователей сразу нашлись скептики, усомнившиеся и в наличии двойной оболочки, и в наполнении «стромул» стромой (см. Гамалей, 2006; Великанов, 2009; Schattat, Klösgen, 2011; Newell et al., 2012).

Нитевидные выросты, обнаруживаемые на базе оболочки других органелл, по аналогии со «стромулами» пластид были названы «матрикулами» митохон-

дрий, «пероксилами» пероксисом (Mathur et al., 2012). Авторы конфокальных наблюдений прижизненных структур должен был насторожить тот факт, что мембранных структур клетки, не обнаруживаемых методами электронной микроскопии, в принципе быть не может: четырехокись осмия и цитрат свинца — контрастеры, специфичные именно для мембран. Не показала им странной и весьма поверхностная аналогия между столь разными по происхождению компонентами клетки, как пластиды, митохондрии и пероксисомы. Тиражировался новый подход к клеточной номенклатуре.

Уточнения в скором времени последовали. Ни нуклеоидов, ни рибосом, свойственных строме пластид и матриксу митохондрий, в нитевидных выростах не оказалось (Newell et al., 2012). От представлений об обязательном объединении нитевидными выростами оболочки всех пластид и митохондрий клетки тоже пришлось отказаться (Schattat et al., 2012). Первоначальная интерпретация структуры и функционального статуса «новых структур», по мнению части авторов, оказалась не слишком удачной. Но термины уже успели прижиться. Инициатива их замены более точными под давлением новых фактов должна была бы исходить от тех же авторов, которые их предложили, но пока этого не произошло (Hanson, Sattarzadeh, 2008, 2011). Виной столь запутанной ситуации отчасти стало стремление авторов, описавших «стромулы» и «матрикулы» как новые прижизненные структуры, не использовать уже существовавшую к тому времени терминологию, созданную на материале электронно-микроскопических наблюдений структур фиксированной клетки.

Альтернативная модель интерпретации «стромул» и «матрикул» базировалась на представлениях о высокой подвижности межклеточной эндоплазматической сети растений и локализации пластид и митохондрий внутри нее (Гамалей, 1994; Gamalei, 2014; рис. 1, *b*). Эти представления логически вытекали из гипотезы симбиогенетического происхождения растений (Фаминцын, 1907; Margulis, 1981), согласно которой монополистами фотосинтеза являются цианобактерии (цианеи), а растения выполняют только роль их носителей (рис. 2). Инвазия цианей принесла с собой в тело эукариотных растений не только фотосинтез, но и эндоцитозную мембранную камеру, развернувшуюся по мере накопления в ней фотосинтатов в эндоплазматическую сеть. Увеличение популяции цианей внутри сети и ее рост сопровождаются делением клеток и распределением фотосинтатов по клеточной цепи с образованием трубчатых плазмодесм в местах пересечения структурами эндоплазматической сети клеточных оболочек. Двигаясь из клетки в клетку под давлением раствора фотосинтатов и сливаясь, потоки эндоплазматического ретикула образуют каналы магистрального транспорта фотосинтатов — ситовидные трубки флоэмы (рис. 2). Обязательность фотосинтеза для формирования «стромул» пластид, эндоплазматической сети, плазмодесм, ситовидных трубок подтверждается тем,

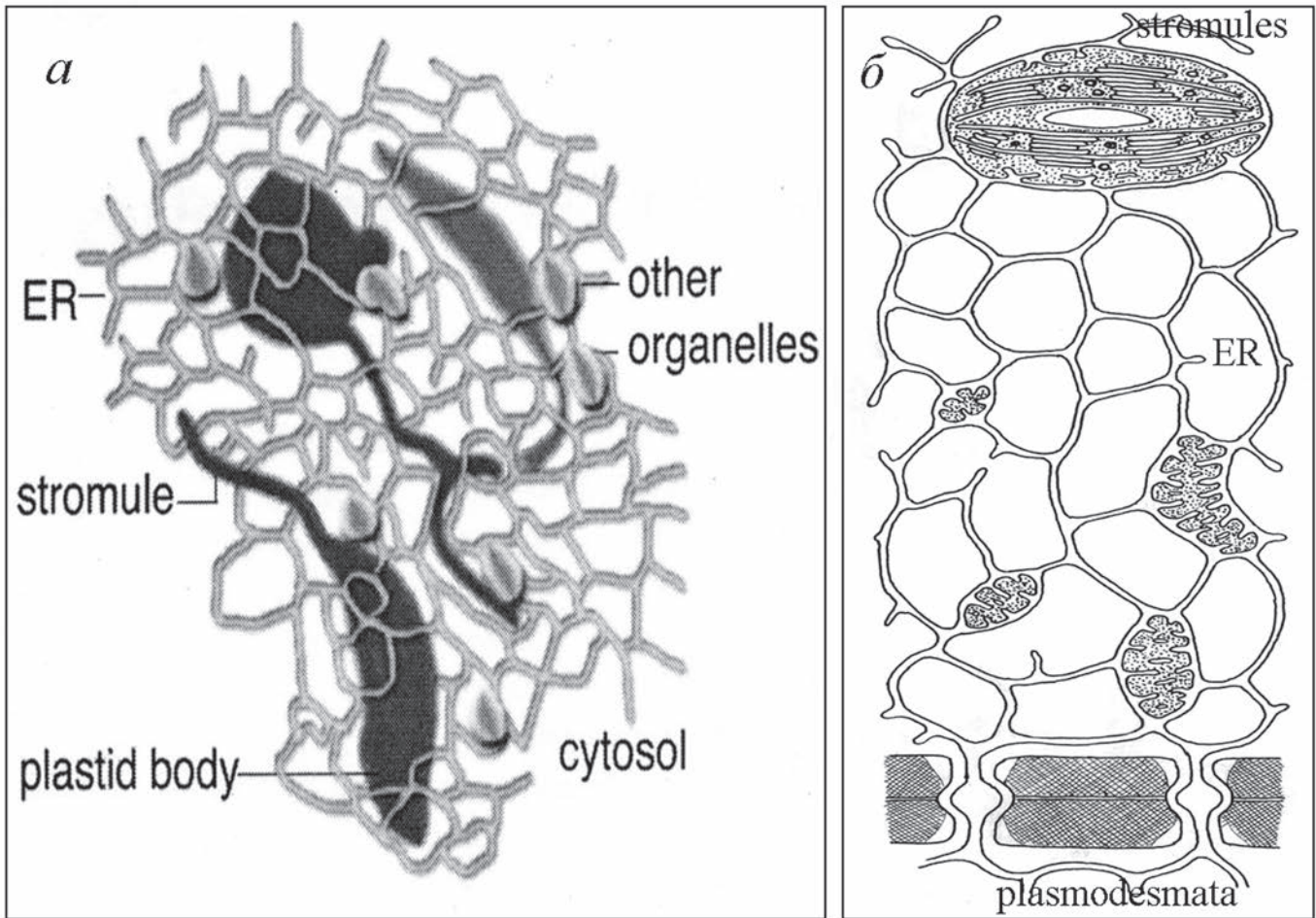


Рис. 1. Альтернативные модели интерпретации эндоплазматического ретикулума, «стромул» пластид и «матрикул» митохондрий растительной клетки:

a — как нескольких самостоятельных сетевых структур клетки (из: Mathur et al., 2013); *б* — как общей сети углеводного тракта сосудистых растений, генерируемой хлоропластами в процессе фотосинтеза (из: Gamalei, 2014).

что у растений сезонного климата все эти структуры элиминируются в паузах фотосинтеза и формируются заново на каждом очередном периоде фотосинтетической активности. Именно поэтому флоэма, в отличие от ксилемы, функционирует в течение одного вегетационного сезона.

Предложенная гипотеза предполагала, что пластиды не только источник эндоплазматической сети мембран, но и локализованы внутри нее (рис. 1, б). Первые сведения об их локализации не в цитоплазме, а внутри изолированного мембранного компартмента публиковались еще в XIX в. по материалам световой прижизненной микроскопии (Haberlandt, 1888; Senn, 1908). Аналогичные результаты были получены методами темнопольной и фазово-контрастной микроскопии (Wildman et al., 1962; Wildman, 1967). Описания эндоплазматического ретикулума, как и сам этот термин, относятся к более позднему периоду освоения цитологами трансмиссионной электронной микроскопии (Palade, 1956; Porter, 1961). Естественно, наблюдения ультратонких срезов мертвого (фиксированного четырехокисью осмия) материала не давали возможности составить представление о степени ди-

намичности внутриплазматической мембранной сети. Частично эти недостатки компенсировались методами 3D-реконструкций по серийным срезам (Atkinson et al., 1974; Гамалей, Пахомова, 1981; Gunning, Steer, 1994). По причине трудоемкости массовыми они быть не могли. Наиболее проницательные интерпретаторы электронно-микроскопических снимков предполагали локализацию пластид и митохондрий в эндоплазматической сети растительной клетки и публиковали свидетельства в пользу этой версии (McLean et al., 1988; Whatley, 1992). Но к этим наблюдениям относились с большой осторожностью. Их принятие потребовало бы отказа от представлений о двойной мембранной оболочке пластид и митохондрий, а они уже стали догмой.

Перелом во взглядах произошел с появлением методов прижизненной видеомикроскопии в сочетании с использованием трансгенных флуоресцентных белков-маркеров углеводного пищевого тракта. Новизна подхода состояла в возврате к прижизненным наблюдениям, но на гораздо более высоком, чем прежде, техническом уровне. Особенно полезными оказались прижизненные видеофильмы в реальном масштабе

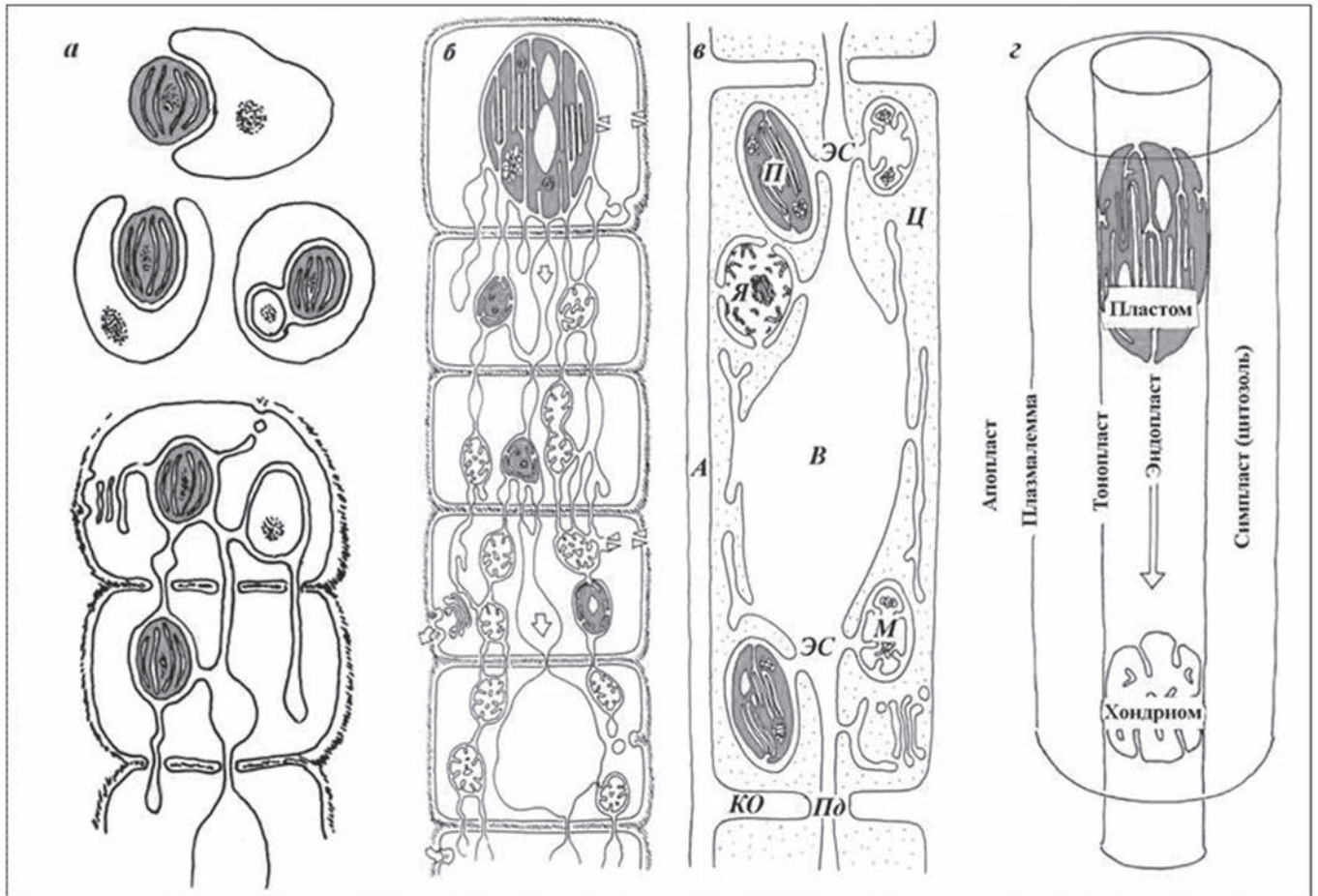


Рис. 2. Преобразование буферной зоны эндосимбиогенеза прохлорофитов и протистов в структурный ряд производных: пластиды → эндоплазматический ретикулум → плазмодесмы → межклеточный вакуум → ситовидные трубки флоэмы (а–г) (из: Гамалей, 2004).

времени (Gunning, 2005, 2007; Schattat et al., 2011b). Результат не замедлил сказаться: была подтверждена и локализация пластид внутри эндоплазматической сети, и высокая подвижность самой сети в клетке. Забытые на сто с лишним лет рисунки первых оптических исследователей прижизненной структуры (Haberlandt, 1888; Senn, 1908) стали воспроизводиться вновь в обзорных статьях по «стромулам» пластид (Gray et al., 2001; Kwok, Hanson, 2004a). С целью адаптации к уже устоявшимся представлениям о «стромулах» они интерпретируются по-новому как доказательство существования структур, связующих пластиды в пластидную сеть (Hanson, Sattarzadeh, 2008, 2011). Терминологии, созданные на основании наблюдений фиксированных и прижизненных препаратов, действительно оказываются не совсем совместимыми.

Наконец, возникает принципиальный прорыв: окраска двумя трансгенными флуоресцентными белками, специфичными для «стромул» пластид (зеленый) и для эндоплазматической сети клетки (желтый), показывает полную пространственную идентичность обеих окрашиваемых в разные цвета структур. Их внутриклеточная структура и в динамике оказывается одинаковой (Schattat et al., 2011a, 2012). Казалось бы, гипотеза тождественности «стромул» пластид элементам

эндоплазматической сети должна торжествовать. Но переломить сложившуюся догму уже непросто. Червь сомнений остается: может быть, все-таки «стромулы и эндоплазматическая сеть только структурно одинаковы, но функционально различны и существуют независимо друг от друга?» (Schattat et al., 2011b, Mathur et al., 2013; рис. 1, а). Потому что они описаны разными методами: на основании наблюдений прижизненных и фиксированных препаратов? Или потому, что это связано с отказом от представлений о двойной мембранной оболочке органелл?

Интерпретация двух мембран, ограничивающих органеллы, как их собственной оболочки была уязвима для критики и раньше. Мембраны — поверхностные структуры белкового золь, принадлежность каждой из них определяется по тому золью, на поверхности которого она находится. Внешняя мембрана органелл образуется на поверхности цитозоля, а не стромы пластид или матрикса митохондрий. Она может быть только эндоплазматической, не пластидной и не митохондриальной. Две мембраны, визуально воспринимаемые микроскопистами как «оболочка» пластид и митохондрий, имеют разные происхождение, барьерные свойства, подвижность. Их независимость демонстрируют и видеофильмы: внешняя мембрана находится в состо-

янии текучести, внутренняя — статична. Объединять их в общую структуру нет ни малейших оснований.

Тем не менее, разрешение спора отодвигается даже несмотря на то, что появляются прямые доказательства связи образования «сети стромул» с распределением фотосинтатов: образование «стромул» может быть инициировано или усилено введением экзогенных сахаров, причем эффект достигается только сахарами первичного метаболизма (сахароза, глюкоза), вторичные сахара (маннитол, сорбитол) его не вызывают (Schattat, Klösgen, 2011). И хотя гипотеза экспортной функции эндоплазматической сети в целом и «стромул» пластид в качестве ее истока представляется непротиворечивой, ее принятие исследователями, не имеющими опыта электронной микроскопии, на время откладывается.

Структура пищевого тракта

Элементы эндоплазматической сети по форме могут быть трубками, цистернами, везикулами и вакуолярными полостями в зависимости от общей топографической ситуации в клетке. Диаметр трубок, размер везикул и вакуолей растет в клетке по мере накопления в ней пула фотосинтатов, в клеточной системе — в направлении от терминальных к магистральным участкам сети. На роль истоковой структуры всех элементов эндоплазматической сети претендует «внешняя мембрана» хлоропластов. Электронная микроскопия позволяет наблюдать радиально расходящиеся от нее трубчатые каналы эндоплазматического ретикулума (рис. 1, б). При использовании конфокальной микроскопии и трансгенных флуоресцентных белков в качестве маркеров пищевого тракта ее базовость для стромул, интерпретируемых как «нитевидные выросты пластид», полностью подтверждается (Köhler et al., 1997; Gray et al., 2001; Kwok, Hanson, 2004b; Hanson, Sattarzadeh, 2008). Диаметр истекающих из нее трубок варьирует от 50 до 850 нм (0.05–0.85 мкм), что вполне соответствует диапазону разнообразия элементов эндоплазматического ретикулума, наблюдаемого методами электронной микроскопии (Гамалей, 1994; Staehelin, 1997; Griffing, 2010). Протяженность трубок от внешней мембраны плазматической оболочки может быть прослежена по распространению маркеров на значительные расстояния: от 10 мкм (диаметр одной клетки) до 400 мкм (цепь из 10–15 последовательных клеток). В последнем случае устанавливается факт их проникновения через клеточные оболочки с образованием плазмодесм (Arimura et al., 2001; Kwok, Hanson, 2004b). Трубки способны ветвиться, углы ветвления специфичны для клеток разной формы (Schattat et al., 2011b). Считается, что они контролируются цитоскелетом и повторяют форму клеток. Каждая точка роста «стромул» имеет каплевидную вершину. Диапазон варьирования скорости роста трубок — от 0.2 до 1.5 мкм/с, средняя скорость около 1 мкм/с (Gunning, 2005; Schattat et al., 2011b). Наблюдаемый импульсный

характер распространения стромул в цитозоле, возможно, связан с преодолением сопротивления цитоскелета в ходе роста.

Достигая клеточной стенки, трубки «стромул» проходят через нее с образованием плазмодесм (рис. 1, б). Ректикулярная трубка («десмотрубка») внутри плазмодесм структурно аналогична «стромулам» пластид. Независимо от образования — первичного в делящихся клетках или вторичного в интерфазных — трубка эндоплазматического ретикулума — базовая структура плазмодесм любой конфигурации. Цитоплазматическое кольцо образуется как вторичная структура. Диаметр «десмотрубки» — 20–30 нм, вместе с цитоплазматическим кольцом — 50–60 нм. Внутри цитоплазматического кольца обнаружен актомиозиновый сфинктер, состоящий из фибрилл актина, прикрепленных к эндоплазматической трубке, и моторного миозина, закоренного на плазмалемме (White, Barton, 2011). Наличие сфинктера обеспечивает движение трубки внутри кольца. Импульсный характер ее движения, как и импульсный рост стромул, очевиден: он проявляется периодическими сокращениями просвета трубки. Им соответствует выброс ретикулярных везикул в цитоплазму соседней клетки. По данным измерений электрического сопротивления, секреция растворов углеводов через плазмодесмы описывается как межклеточная пульсация ретикулума в темпе 5–6 сокращений в минуту (Holdaway-Clarke et al., 2000).

Как и стромулы пластид, плазмодесмы могут ветвиться в толще оболочки. Кустовая модификация плазмодесм производна от структуры эндоплазматического ретикулума: расходящиеся в периферической цитоплазме ветви оказываются «запечатанными» внутри клеточной стенки. Полисахариды клеточной стенки, находящиеся в контакте с плазмодесмами, окисляются активными формами кислорода, формируя каллозные чехлы вокруг цитоплазматического кольца (Fitzgibbon et al., 2010). При механических нарушениях целостности транспортных каналов отложения каллозы блокируют плазмодесмы, сохраняя герметичность эндоплазматической сети, важную для ее функционирования.

Все методические приемы визуализации структуры и динамики стромул и плазмодесм одинаковы (Fitzgibbon et al., 2010; Schattat et al., 2011a, b, 2012). Пульсирующий рост трубок и их ветвление имеют одинаковые параметры для стромул и плазмодесм. Ни по форме, ни по размеру принципиальных различий между ними нет. Взаимозависимость их развития очевидна.

Функционирование

О функциях эндоплазматической сети, стромул и плазмодесм равно мало что известно, главным образом это спекуляции (Gray et al., 2001; Kwok, Hanson, 2004a). Они подробно описаны в предыдущих обзорах (Гамалей, 2006, 2009; Gamalei, 2014). Хотя с публикации первого прошло почти 10 лет, за которые

были опубликованы десятки статей, ситуация принципиально не изменилась (см. Hanson, Sattarzadeh, 2008; Schattat et al., 2011a, b). Основной функцией эндоплазматической сети и ее межклеточных участков (плазмодесм) традиционно считалось распределение продуктов фотосинтеза (Esau, 1969; Курсанов, 1976). Длительная полемика по вопросу о конкретном канале транспорта сахаров в плазмодесмах завершилась в пользу эндоплазматической трубки, не цитоплазматического кольца (Гамалей, 1994).

По цитоплазматическому кольцу плазмодесм предполагалось распространение вирусов, белков и малых РНК регуляторного значения (Lucas et al., 1993, 1995; Kühn et al., 1997). Материалы публикаций этих авторов легли в основу гипотезы участия плазмодесм в распространении сигнальных молекул: гормонов, белков и даже нуклеиновых кислот. В следовых количествах эти соединения периодически находились во флоэмном экссудате, что позволило предполагать их участие в «дальней» сигнализации. Увлечение этими идеями со временем пошло на убыль, когда выяснилось, что продолжительность жизни молекул малых информационных РНК (1–2 часа) значительно меньше, чем длительность флоэмого транспорта от донорных к акцепторным зонам (24–36 часов). Этот аргумент не привел к исключению плазмодесменного транспорта из регуляторных процессов, но вызвал поворот внимания исследователей от надклеточной регуляции к внутриклеточной (Burch-Smith et al., 2010; Burch-Smith, Zambryski, 2012). «Ближняя» сигнализация по плазмодесмам теперь обсуждается в качестве механизма регуляторных взаимоотношений ядра, пластид и митохондрий соседних клеток. Но и здесь не все логически объяснимо. Например, в гифах грибов есть плазмодесмы нормальной структуры (с цитоплазматическим кольцом и плазмалеммой), но нет пластид. Логически рассуждая, цитоплазматическое кольцо вообще может не иметь функциональной нагрузки: оно формируется как обязательная побочная структура при пересечении трубкой ретикулума клеточной стенки. Движение по цитозолю трудно представить иным, чем диффузия с низкой скоростью и без определенного направления. Отдельные авторы резонно предлагали рассматривать цитоплазматическое кольцо как «сточную канаву», «неизбежное зло» (Oparka, Santa Cruz, 2000). «Зло» потому, что транспорт по цитоплазматическому кольцу может иметь сопутствующие отрицательные последствия: распространение вирусов и ксенобиотиков отнюдь не регуляторного свойства.

Углеводное питание относится к универсальным свойствам всех растительных клеток. Грибных тоже. Наибольшее число описаний «стромул» пластид и плазмодесм эндоплазматической сети сделано на фотосинтезирующих тканях листа, являющихся источником сахаров и истоком их транспортной системы (Gray et al., 2001; Natesan et al., 2005). В этой же зоне (граница мезофилл/терминальная флоэма) наблюдаются наиболее плотные скопления плазмодесм (Гамалей, 2004).

В осевой флоэме структуры эндоплазматической сети сменяются ее магистральными дериватами — ситовидными трубками. По трубчатой структуре и транспортной функции они не отличаются принципиально от стромул и плазмодесм периферической сети. Полость ситовидных трубок имеет значительно больший диаметр (10–20 мкм). По изображению на снимках и содержанию она аналогична вакуолям соседних паренхимных клеток, возникающим путем расширения полостей эндоплазматического ретикулума (Гамалей, Пахомова, 2002; Гамалей, 2004). Ко времени зрелости ситовидных трубок они теряют цитоплазму и ядро, но сохраняют довольно много пластид и митохондрий не совсем обычной структуры. Внешняя мембрана оболочки этих органелл частично или полностью утрачивается. Возможно, она преобразуется в мембрану, ограничивающую полость клетки. Зеркальные, т. е. вывернутые относительно друг друга, плазмалемма и тонопласт различаются по барьерным свойствам для сахаров и флуоресцентных белков-маркеров. Тонопласт для них является барьером, плазмалемма этими качествами не обладает. Результаты соответствующих тестов показывают, что транспортный канал ситовидных трубок действительно ограничен тонопластом, а их полость относится к структурному ряду ретикулярно-вакуолярных производных. Тонопласт, ограничивающий клетку, и обилие пластид и митохондрий внутри нее — очень сильный аргумент в пользу того, что не только в ситовидных трубках, но и в паренхимных клетках пластиды и митохондрии локализованы не в цитоплазме, а внутри эндоплазматического ретикулума (Гамалей, Пахомова, 2002).

Для органов потребления, где происходит запасание сахаров, стромулы и плазмодесмы не менее, а по сведениям некоторых авторов, даже более характерны, чем для тканей листа (Hanson, Sattarzadeh, 2008). Показано, что развитие симбиотического грибного партнера, питающегося сахарами в тканях корня, стимулирует формирование и стромул и плазмодесм (Fester et al., 2001; Hans et al., 2004). Судя по этим материалам, элементы эндоплазматической сети — стромулы и плазмодесмы — базовые структуры донорно-акцепторных отношений между всеми органами растения и между симбиотическими партнерами. Широко известны эффекты стимуляции фотосинтеза, роста и, соответственно, эндоплазматической подвижности формированием микоризы на корнях или частичным поеданием (потравой) животными.

Есть немало оснований считать межклеточную эндоплазматическую сеть растений аналогом кровеносной сети животных. Обе сети — пищевые тракты, носители внутриклеточной и одновременно межклеточной среды, обе осмотически гомеостатированы. Кроме трофических соединений, кровь содержит нейрогормоны, синхронизирующие внутриклеточный белковый синтез. По эндоплазматической сети растений, кроме углеводов, тоже распределяются регуляторные соединения, синхронизирующие процессы белкового син-

теза, фотосинтеза, дыхания. Недавно получены новые данные о транспорте ароматических и гормональных соединений по стромулам и плазмодесмам. По совокупности этих данных и их аналогии с клеточными системами животных есть подозрение, что и в клеточных системах растений стареют не сами клетки. Они имеют возможность обновляться неограниченно. Возможно, с возрастом ослабевает транспортная и синхронизирующая функция межклеточной сети (внутриклеточной среды). Известно, например, что с возрастом снижается сократительная способность актомиозинового аппарата, контролирующего подвижность пищевого тракта. Убывание скорости роста растений в ходе их старения, судя по возрастным изменениям ширины годичных колец деревьев, аналогично (Шереметьев и др., 2014).

Подвижность

Все элементы межклеточной эндоплазматической сети отличаются высокой степенью подвижности. Теперь это стало возможным иллюстрировать даже в преподавательской практике видеofilmами в реальном масштабе времени (Gunning, 2005, 2007; Schattat et al., 2011b). Диапазон скоростей — от 0 до 2–3 мкм/с — соизмерим с диапазоном величин фотосинтетической активности и роста. Выясняется, что представление о неподвижности растений сильно преувеличено. Их рост и есть подвижность. Не случайна этимология термина «растение» в русском и немецком языках: он произведен от корня «рост». Подвижность растений кардинально отличается от подвижности животных, несмотря на то что в основе обоих явлений лежит механизм актомиозиновых сокращений. Причина различий в противоположной схеме закрепления моторных головок миозина и актиновых фибрилл на внешней и внутренних мембранах (плазмалемме и тонопласте).

Находясь внутри пищевого тракта, пластиды наполняют его осмотически активными углеводами. Транспортная система растет по мере увеличения их пула. Зоны использования фотосинтатов в ходе этого процесса удаляются от зон их производства. Общий принцип распределения фотосинтатов базируется на полярной локализации фотосинтеза и дыхания. Высшие растения, имеющие внутри себя и донорные и акцепторные зоны, — один из немногих примеров полной пищевой самодостаточности.

Эксперименты с ингибиторами сборки актина (цитохалазин D, латринсулин B) подавляют подвижность стромул (Kwok, Hanson, 2003; Howleg, Nick, 2004). Такой же эффект вызывает ингибитор АТФазы миозинового мотора (Natesan et al., 2005). Аналогичный механизм контроля подвижности эндоплазматической трубки описан для плазмодесм (White, Barton, 2011). Микротрубочковые ингибиторы (оризалин, ампрофосметил) не оказывают влияния ни на подвижность стромул, ни на динамику плазмодесменного транспорта (Gray et al., 2001; Hawes et al., 2001; White, Barton, 2011).

Органеллы растительных клеток — пластиды и митохондрии — тоже подвижны. Очевидным свидетельством тому могут быть их сезонные и суточные перемещения, которые во многих публикациях рассматриваются как светозависимые. Собственного двигательного аппарата пластиды и митохондрии не имеют. Сократительный аппарат цитоскелета косвенно может быть инициатором и их подвижности. Если органеллы находятся внутри эндоплазматической сети (рис. 1, б; 2), их подвижность должна рассматриваться как вторичная относительно ее собственной подвижности. Картину согласованной подвижности эндоплазматической сети и органелл убедительно демонстрируют видеofilmы (Gunning, 2005, 2007). Поскольку для подвижности эндоплазматической сети обязателен фотосинтез, он может оказывать косвенное влияние и на подвижность органелл, объясняя отмечаемую многими авторами светозависимость подвижности хлоропластов.

Температурный диапазон образования и функционирования

Образование стромул на внешней мембране плазматической оболочки свойственно всем исследованным растениям и всем типам клеток, это их универсальное свойство (Natesan et al., 2005; Hanson, Sattarzadeh, 2011). Температурный диапазон этого явления ограничен температурными пределами сократительной активности актомиозинового цитоскелета. На материале сначала альпийских, а затем и арктических трав установлено, что до +10 °C формирования стромул из оболочки пластид не происходит (Holzinger et al., 2007a; Lütz, Angel, 2007; Lütz, 2010). Их образование становится массовым после +15 °C и достигает пика выше +20 °C. Учитывая, что для фотосинтеза важно сочетание температуры и света, в экспериментальных условиях к температурным вариациям в качестве второго фактора были добавлены вариации интенсивности света (Buchner et al., 2007). В результате было выяснено, что низкая температура обладает подавляющим образованием стромул эффектом, варьирование интенсивности света существенным образом на этот процесс не влияет (за исключением полной темноты). Авторы полагают, что блокада образования стромул связана с температурными изменениями пластичности актомиозинового цитоскелета (Holzinger et al., 2007b).

Данные о температурном режиме формирования плазмодесм аналогичны. У растений, обитающих постоянно в условиях низких температур, их количество минимально. Если они уже сформированы, как у многих растений умеренного климата, то при низких положительных температурах их функциональная активность очень слабая. Различия по численности плазмодесм у термофильных древесных форм и криофильных трав составляют два порядка (Gamalei, 1996). Таким образом, по температурному режиму формирования и функционирования между стромулами и

плазмодесмами тоже существенных различий нет. При температурах ниже +10 °С не существует ни тех, ни других. Выше этого температурного порога обе группы структур появляются, становятся многочисленными и функционально эффективными.

Вышеприведенные данные подтвердили, что температурные режимы фотосинтеза и экспорта фотосинтатов не совпадают. Фотосинтез возможен при нулевой и даже минусовой температуре (Körner, Woodward, 1987; Lütz, 2010). Экспорт фотосинтатов по эндоплазматической сети, судя по формированию стромул и плазмодесм, начинается только после +10 °С и резко возрастает выше +20 °С (Gamalei et al., 1994; Buchner et al., 2007). Различия температурных оптимумов фотосинтеза, экспорта фотосинтатов и соответственно роста растений в литературе получили наименование «температурных ножниц» (Farrar, Gunn, 1996; Xiong et al., 1999, 2000). Причины этого явления, вероятно, восходят к эпохе происхождения растений путем симбиогенеза фототрофных прохлорофитов и хемотрофных протистов. Каждому из партнеров по симбиогенезу могли быть свойственны собственные температурные требования к среде обитания, они ведь имели разный эволюционный возраст. Следствием этих различий могло стать большое разнообразие жизненных форм растений, основанное на множестве вариантов стабилизации функционального баланса процессов фотосинтеза, транспорта, роста.

Из естественных факторов формирование и подвижность стромул и плазмодесм в равной мере подавляются темнотой и холодом (Kwok, Hanson, 2004a, 2004b). Влияние темноты опосредовано через подавление фотосинтетической активности хлоропластов. Холод действует в том же направлении на экспорт фотосинтатов через усиление ригидности цитоскелета. Роль балансовых взаимоотношений фотосинтеза и контролируемого цитоскелетом экспорта фотосинтатов в формировании тех и других структур может быть проиллюстрирована характером изменений фотосинтеза вдоль горных профилей. До 2500 м над ур. м. (в Альпах, на Кавказе и Памире) фотосинтез растет, оптимизируясь за счет понижения внешнего давления, ускоряющего экспорт фотосинтатов. На высотах более 2500 м негативное влияние градиента понижения температуры на экспорт фотосинтатов становится более сильным, чем позитивное влияние градиента понижения давления (Рейнус, 1964; Глаголева, Филиппова, 1965).

Заключение

Эндоплазматическая сеть растений обязана своим происхождением фотосинтезу цианобактерий. Их эндоцитозное внедрение в клетки растений — ключ к пониманию природы углеводного пищевого тракта. Блокада подвижности структур пищевого тракта внешними или внутренними факторами вызывает подавление фотосинтеза избытком его продуктов. Вероятно,

это главный фактор эндогенной регуляции фотосинтеза высших растений.

Трубчатая структура стромул пластид и десмотрубок плазмодесм сходна. Нет никаких сомнений в общности их транспортных функций. Образование и стромул, и плазмодесм может быть индуцировано или усилено введением экзогенных сахаров. Для обеих структур показаны одинаковый актомиозиновый механизм и сходный темп импульсной подвижности. Температурный режим появления и функционирования тоже оказался общим, зависимым от температурных свойств актомиозинового цитоскелета. Исток обеих структур — мембранная капсула хлоропластов. По направлению движения стромулы первичны, плазмодесмы — вторичны. Из совокупности наблюдений возникает не предположение, а уверенность, что они — фрагменты одной и той же более общей сетевой структуры, названной в статье углеводным пищевым трактом. В качестве претендента на эту роль может выступать только свойственная всем растительным клеткам эндоплазматическая сеть, появившаяся одновременно с зелеными эукариотами в результате симбиогенетического объединения нескольких прокариотных предшественников. Внешний партнер формирует эндоплазматическую мембранную сеть и обеспечивает ее межклеточную подвижность. Внутренний наполняет подвижный пищевой тракт продуктами фотосинтеза, гомеостатируя осмотическое давление в сети.

Первые доказательства правомерности интерпретации стромул и плазмодесм в качестве фрагментов эндоплазматической сети не клеток, а целых растений уже получены (Гамалей, 1994, 2006, 2009; Baluska et al., 2006; Великанов, 2009). Способность эндоплазматической сети растений функционировать в качестве межклеточного донорно-акцепторного канала распределения углеводов сближает ее с кровеносной сетью животных. Обе являются для клеток межклеточной средой, которая может быть ответственной за старение многоклеточных организмов.

Объединенные вместе, данные электронной и конфокальной микроскопии дали богатый материал для обновления моделей образования и функционирования клеточных систем высших растений. Но полностью снять интригу их организации пока не удалось. У клеточной теории по-прежнему много проблем. Тождественность эндоплазматической сети и плазмодесм, наблюдаемых методами электронной микроскопии, «стромулам» пластид и «матрикулам» митохондрий, описанным по изображениям лазерного конфокального микроскопа, — предмет острой полемики последних двух десятилетий. Несмотря на их структурное сходство, часть исследователей готова принять скорее собственную сетевую организацию пластид и митохондрий, чем непротиворечивую возможность их локализации внутри общей эндоплазматической сети. Осторожность, вероятно, оправданна. Предлагаемый переход от клеточной к клеточно-сетевой модели орга-

низации высших растений может иметь далеко идущие последствия. Благодаря комплексному использованию разных методов микроскопии, вопросы поставлены. Ответом на них должна стать очередная ревизия клеточной парадигмы. Трудности поиска однозначного решения видятся в сложности интерпретации результатов, в разном опыте поколений, работающих методами трансмиссионной и конфокальной микроскопии, в различиях мотивации их научного поиска, степени финансовой независимости, позволяющей иметь собственное мнение.

До сих пор развитие методов микроскопии было более всего мотивировано потребностями микробиологии и медицины. Первостепенная важность медицинских исследований не подлежит сомнению. Но приоритеты в ситуации, когда численность людей на планете приближается к 10 млрд, а площадь лесов сократилась до 10 % поверхности континентов, и эти тенденции явно взаимосвязаны, могут поменяться. Растения были и остаются важным, благодарным, удобным объектом для микроскопистов. Вложение денег в их исследования — в конечном счете, тоже вложение в профилактику заболеваний. Растительный покров — фундамент, способный возрождать биосферу, которую человечество, стоящее на вершине трофической пирамиды, так или иначе губит.

Прогресс в познании растений благодаря использованию быстро прогрессирующих методов микроскопии велик. Очевидно, что кислородная фототрофия и способность к инвазиям в другие организмы — свойство бактериальной составляющей биосферы. Особая роль грибов — в неограниченной способности к симбиогенетическим взаимоотношениям. Разнообразие форм растительной жизни стало возможным благодаря организации альго-мико-бактериального союза на границе трех сред. Все это теперь наблюдаемо благодаря развитию микроскопической техники и успехам микроскопии.

Благодарности

Статья посвящается 300-летию Ботанического института им. В. Л. Комарова. Авторы благодарны институту и Российской академии наук за полвека причастности к развитию микроскопии растений. Материалы, составившие содержание статьи, получены при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проекты №№ 07-04-00834, 10-04-01165, 13-04-00580).

Список литературы

- Великанов Г. А. Стромилы: их природа, структура и функции в растительной клетке // Биол. мембраны. 2009. Т. 26, № 6. С. 468–478.
- Гамалей Ю. В. Эндоплазматическая сеть растений. Происхождение, структура, функции. СПб., 1994. 80 с.
- Гамалей Ю. В. Транспортирующая система сосудистых растений. СПб., 2004. 422 с.
- Гамалей Ю. В. Подвижная сетевая организация пластид и митохондрий в клетках растений // Цитология. 2006. Т. 48, № 4. С. 271–282.
- Гамалей Ю. В. Природа углеводного пищевого тракта сосудистых растений // Цитология. 2009. Т. 51, № 5. С. 375–387.
- Гамалей Ю. В., Пахомова М. В. Структура клеток-спутников флоэмы листа: результаты объемной реконструкции клеток по серийным срезам // Цитология. 1981. Т. 23, № 2. С. 117–129.
- Гамалей Ю. В., Пахомова М. В. Электронномикроскопические свидетельства вакуолярной природы флоэмного экссудата // Физиология растений. 2002. Т. 47, № 2. С. 181–193.
- Глаголева Т. А., Филиппова Л. А. Особенности фотосинтеза растений в условиях высокогорий Памира // Проблемы ботаники. 1965. Т. 7. С. 121–132.
- Курсанов А. Л. Транспорт ассимилятов в растениях. М., 1976. 646 с.
- Рейнус Р. М. Углеводный обмен растений в условиях высокогорий Памира. Душанбе, 1964. 137 с.
- Фаминцын А. С. О роли симбиоза в эволюции организмов // Тр. Имп. акад. наук, физ.-мат. отд. 1907. Т. 20. С. 3–35.
- Шереметьев С. Н., Гамалей Ю. В., Слемнев Н. Н., Степанова А. В., Чеботарева К. Е. Вариации ширины годовичных колец деревьев на широтном и высотном градиентах // Ботаника: история, теория, практика: Материалы междунар. науч. конф., посвящ. 300-летию Ботанического института им. В. Л. Комарова РАН. СПб., 2014. С. 223–234.
- Arimura S.-I., Hirai A., Tsutsumi N. Numerous and highly developed tubular projections from plastids observed in tobacco epidermal cells // Pl. Sci. 2001. Vol. 169. P. 449–454.
- Atkinson A. W., John P. C., Gunning B. E. S. The growth and division of the single mitochondrion and other organelles during the cell cycle of *Chlorella*, studied by quantitative stereology and three dimensional reconstruction // Protoplasma. 1974. Vol. 81. P. 77–109.
- Baluska F., Volkmann D., Barlow P. W. Cell-cell channels and their implications for cell theory // Cell-cell channels / Eds. F. Baluska, D. Volkmann, P. W. Barlow. New York, 2006. P. 1–18.
- Buchner O., Holzinger A., Lütz C. Effects of temperature and light on the formation of chloroplast protrusions in leaf mesophyll cells of high alpine plants // Pl. Cell Environm. 2007. Vol. 30, № 11. P. 1347–1356.
- Burch-Smith T. M., Zambryski P. C. Plasmodesmata paradigm shift: regulation from without versus within // Annual Rev. Pl. Biol. 2012. Vol. 63. P. 239–260.
- Burch-Smith T. M., Stonebloom S., Xu M., Zambryski P. C. Plasmodesmata during development: re-examination of the importance of primary, secondary, and branched plasmodesmata structure versus function // Protoplasma. 2010. Vol. 233, № 1–2. P. 28–40.
- Esau K. The Phloem. Berlin, 1969. 505 p.
- Eschrich W. Biochemistry and fine structure of phloem in relation to transport // Annual Rev. Pl. Physiol. 1970. Vol. 21. P. 193–214.
- Farrar J. S., Gunn S. Effects of temperature and atmospheric carbon dioxide on source-sink relations in the context of climate change // Photoassimilate distribution in plants and crops. Source-sink relationships / E. Zamski, A. A. Schaffer. New York, 1996. P. 389–406.
- Fester T., Strack D., Hause B. Reorganization of tobacco root plastids during arbuscule development // Planta. 2001. Vol. 213. P. 864–868.

- Fischer A. Studien über die Siebröhren der Dicotylenblätter // Ber. Verh. König. Sächs. Ges. Wiss. Leipzig. 1885. Bd 37. S. 245–290.
- Fitzgibbon J., Bell R., King E., Oparka K. Super-resolution imaging of plasmodesmata using three-dimensional structured illumination microscopy // *Pl. Physiol.* 2010. Vol. 153. P. 1453–1463.
- Gamalei Yu. V. Comparative biology of trees and herbs. Intercellular communication // *L'arbre. Biologie et développement* / Ed. C. Edelin. Montpellier, 1996. P. 85–97 (Naturalia Montpellierensia).
- Gamalei Yu. V. Structures of the plant trophic tract: plastid stromules and cell-wall plasmodesmata // *Cell Tissue Biol.* 2014. Vol. 8, № 1. P. 28–39.
- Gamalei Yu. V., van Bel A. J. E., Pakhomova M. V., Syutkina A. V. Effects of temperature on the conformation of the endoplasmic reticulum and on starch accumulation in leaves with the symplasmic minor-vein configuration // *Planta.* 1994. Vol. 194. P. 443–453.
- Gray J. C., Hibberd J. M., Linley P. J., Uijtewaal B. GFP movement between chloroplasts // *Nat. Biotechnol.* 1999. Vol. 17. P. 1146–1149.
- Gray J. C., Sillivan J. A., Hibberd J. M., Hansen M. R. Stromules: mobile protrusions and interconnections between plastids // *Pl. Biol.* 2001. Vol. 3. P. 223–233.
- Griffing L. R. Networking in the endoplasmic reticulum // *Biochem. Soc. Trans.* 2010. Vol. 38. P. 747–753.
- Gunning B. E. S. Plastid stromules: video microscopy of their outgrowth, refraction, tensioning, anchoring, branching, bridging, and tip-shedding // *Protoplasma.* 2005. Vol. 225. P. 33–42.
- Gunning B. E. S. Plant cell biology on DVD: Information for students and a resource for teachers. July 2007. Available from the author: www.plantcellbiologyondvd.com
- Gunning B. E. S., Pate J. S., Briarty L. G. Specialized «transfer cells» in minor veins of leaves and their possible significance in phloem translocation // *J. Cell Biol.* 1968. Vol. 37, № 3. P. 7–12.
- Gunning B. E. S., Steer M. W. Plant cell biology: an ultrastructural approach. Canberra, 1994. 120 p.
- Haberlandt G. Die Chlorophyllkörper der Selaginellen // *Flora.* 1888. Bd. 71. S. 291–308.
- Hans J., Hause B., Strack D., Walter M. N. Cloning, characterization, and immunolocalization of a mycorrhiza-inducible 1-deoxi-D-xylulose 5-phosphate reductoisomerase in arbuscule-containing cells of maize // *Pl. Physiol.* 2004. Vol. 134. P. 614–624.
- Hanson M. R., Sattarzadeh A. Dynamic morphology of plastids and stromules in angiosperm plants // *Pl. Cell Environm.* 2008. Vol. 31. P. 646–657.
- Hanson M. R., Sattarzadeh A. Stromules: recent insights into a long neglected feature of plastid morphology and function // *Pl. Physiol.* 2011. Vol. 155, № 4. P. 1486–1492.
- Hawes Ch., Sain-Jore C. M., Brandizzi F., Zheng H., Andreva A. V., Boeink P. Cytoplasmic illuminations: in planta targeting of fluorescent proteins to cell organelles // *Protoplasma.* 2001. Vol. 215. P. 77–88.
- Holdaway-Clarke T. L., Walker N. A., Hepler P. K., Overall R. L. Physiological elevations in cytoplasmic free calcium by cold or ion injection result in transient closure of higher plant plasmodesmata // *Planta.* 2000. Vol. 210. P. 329–335.
- Holzinger A., Buchner O., Lütz C., Hanson M. R. Temperature-sensitive formation of chloroplast protrusions and stromules in mesophyll cells of *Arabidopsis thaliana* // *Protoplasma.* 2007a. Vol. 230, № 1–2. P. 23–30.
- Holzinger A., Wasteneys G. O., Lütz C. Investigating cytoskeletal function in chloroplast protrusion formation in the arctic-alpine plant *Oxyria digyna* // *Pl. Biol.* 2007b. Vol. 9, № 3. P. 400–410.
- Howleg C., Nick P. *Arabidopsis* myosin XI mutant is defective in organelle movement and polar auxin transport // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2004. Vol. 101. P. 10488–10492.
- Köhler R. H., Hanson M. R. Plastid tubules of higher plants are tissue-specific and developmentally regulated // *J. Cell Sci.* 2000. Vol. 113. P. 81–89.
- Köhler R. H., Hanson M. R., Wildman S. Plastid interconnections images by fluorescence and phase contrast // *Trends Cell Biol.* 1997. Vol. 7. P. 392.
- Körner Ch., Woodward F. I. The dynamics of leaf extension in plants with diverse altitudinal ranges. II. Field studies in *Poa* species between 670 and 3200 m in altitude // *Oecologia.* 1987. Vol. 72. P. 279–283.
- Kühn C., Franceschi V. P., Schulz A., Lemoine R., Frommer W.-B. Macro-molecular trafficking indicated by localization and turnover of sucrose transporters in enucleate sieve elements // *Science.* 1997. Vol. 275. P. 1298–1300.
- Kwok E., Hanson M. R. Microfilaments and microtubules control the morphology and movement of non-green plastids and stromules in *Nicotiana tabacum* // *Pl. J.* 2003. Vol. 35. P. 16–26.
- Kwok E., Hanson M. R. Stromules and the dynamic nature of plastid morphology // *J. Microscopy.* 2004a. Vol. 214. P. 124–137.
- Kwok E., Hanson M. R. Plastids and stromules interact with the nucleus and cell membrane in vascular plants // *Pl. Cell Rep.* 2004b. Vol. 23. P. 188–195.
- Lucas W. J., Ding B., Van der Shoot Ch. Plasmodesmata and the supracellular nature of plants // *New Phytol.* 1993. Vol. 125. P. 435–476.
- Lucas W. J., Bouche-Pillon S., Jackson D. P., Nguen L., Baker L., Ding B., Hake S. Selective trafficking of KNOTTED 1 homeodomain protein and its mRNA through plasmodesmata // *Science.* 1995. Vol. 270. P. 1980–1983.
- Lütz C. Cell physiology of plant growing in cold environments // *Protoplasma.* 2010. Vol. 244, № 1–4. P. 53–73.
- Lütz C., Engel L. Changes in chloroplast ultrastructure in some high-alpine plants: adaptation to metabolic demands and climate? // *Protoplasma.* 2007. Vol. 231, № 3–4. P. 183–192.
- Margulis L. Symbiosis in cell evolution. San-Francisco, 1981. 328 p.
- Mathur J., Mammone A., Barton K. A. Organelle extensions in plant cells // *J. Integr. Pl. Biol.* 2012. Vol. 54, № 11. P. 851–867.
- Mathur J., Barton K. A., Schattat M. H. Fluorescent protein flow within stromules // *Pl. Cell.* 2013. Vol. 25, № 8. P. 2771–2772. DOI: 10.1105/tpc.113.117416.
- McLean B., Whatley J. M., Juniper B. E. Continuity of chloroplast and endoplasmic reticulum membranes in *Chara* and *Equisetum* // *New Phytol.* 1988. Vol. 109. P. 51–65.
- Münch E. Die Stoffbewegungen in der Pflanze. Jena, 1930. 234 S.
- Natesan S. K. A., Sullivan J. A., Gray J. C. Stromules: a characteristic cell-specific feature of plastid morphology // *J. Exp. Bot.* 2005. Vol. 56. P. 787–797.
- Newell Ch., Natesan S. K. A., Sullivan J. A., Jouhet J. J., Kavanagh T. A., Gray J. C. Exclusion of plastid nucleoids and ribosomes from stromules in tobacco and *Arabidopsis* // *Pl. J.* 2012. Vol. 69. P. 399.

- Oparka K. J., Santa Cruz S.* The great escape: phloem transport and unloading of macromolecules // Annual Rev. Pl. Physiol. Pl. Molec. Biol. 2000. Vol. 51. P. 323–347.
- Palade G. E.* The endoplasmic reticulum // J. Biophys. Biochem. Cytol. 1956. Vol. 2. P. 85–98.
- Pfeffer W.* Osmotische Untersuchung. Studien zur Zellmechanik. Leipzig, 1877. viii + 235 S.
- Porter K. R.* The endoplasmic reticulum: some current interpretation of its form and functions // Biological structures and functions / Eds. T. W. Goodwin, O. Lindberg. New York, 1961. Vol. 1. P. 127–190.
- Schattat M. H., Klösigen R. B.* Induction of stromule formation by extracellular sucrose and glucose in epidermal leaf tissue of *Arabidopsis thaliana* // BMC Pl. Biol. 2011. Vol. 11. P. 115.
- Schattat M. H., Barton K., Mathur J.* Correlated behavior implicates stromules in increasing the interactive surface between plastids and ER tubules // Pl. Signaling Behav. 2011a. Vol. 6. P. 715–718.
- Schattat M. H., Barton K., Baudisch B., Klösigen R. B., Mathur J.* Plastid stromule branching coincides with contiguous endoplasmic reticulum dynamics // Pl. Physiol. 2011b. Vol. 155, № 4. P. 1667–1677.
- Schattat M. H., Klösigen R. B., Mathur J.* New insights on stromules: stroma filled tubules extended by independent plastids // Pl. Signaling Behav. 2012. Vol. 7. P. 1132–1137.
- Senn G.* Die Gestalts- und Lageveränderung der Pflanzen Chromatophoren. Leipzig, 1908. 142 S.
- Stachelin A. L.* The plant ER: A dynamic organelle composed of a large number of discrete functional domains // Pl. J. 1997. Vol. 11, № 6. P. 1151–1165.
- Strasburger E.* Über den Bau and das Wachstum der Zellhäute. Jena, 1882. 264 S.
- Strasburger E.* Ueber Plasmaverbindungen pflanzlicher Zellen // Jahrb. Wiss. Bot. 1901. Bd. 36. S. 493–610.
- Tangl E.* Ueber offene Communicationen zwischen den Zellen das Endosperms einiger Samen // Jahrb. Wiss. Bot. 1879. Bd 12. S. 170–190.
- Wark M. C.* Fine structure of the phloem of *Pisum sativum*. II. The companion cells and phloem parenchyma // Austral. J. Bot. 1965. Vol. 13. P. 185–193.
- Whatley J. M.* Membranes and plastid origins // Origin of plastids / Ed. R. A. Lewin. New York, 1992. P. 78–103.
- White R. G., Barton D. A.* The cytoskeleton in plasmodesmata: a role in intercellular transport? // J. Exp. Bot. 2011. Vol. 62, № 15. P. 5249–5266.
- Wildman S. G.* The organization of grana-containing chloroplasts in relation to location of some enzymatic systems concerned with photosynthesis, protein synthesis, and ribonucleic acid synthesis // Biochemistry of chloroplasts / Ed. T. W. Goodwin. London, 1967. P. 295–317.
- Wildman S. G., Hongladarom T., Honda S. I.* Chloroplasts and mitochondria in living plant cells: cinephotomicrographic studies // Science. 1962. Vol. 138. P. 434–436.
- Xiong F. S., Ruhland C. T., Day T. A.* Photosynthetic temperature response of the Antarctic vascular plants *Colobanthus quitensis* and *Deschampsia antarctica* // Physiol. Pl. 1999. Vol. 106. P. 272–286.
- Xiong F. S., Mueller E. C., Day T. A.* Photosynthetic and respiratory acclimation and growth response of Antarctic vascular plants to contrasting temperature regimes // Amer. J. Bot. 2000. Vol. 87, № 5. P. 700–710.
- Ziegler H.* Die Physiologie pflanzlicher Drüsen // Ber. Deutsch. Bot. Ges. 1965. Bd 78. S. 466–477.
- Ziegler H.* Nature of transported substances // Encyclopedia of plant physiology. Vol. 2: Transport in plants I. Phloem transport. Berlin, 1975. P. 59–138.
- Zimmermann M. H.* Translocation of organic substances in trees. I. The nature of the sugars in the sieve-tube exudate of trees // Pl. Physiol. 1957. Vol. 32. P. 288–291.