

# ФОРМИРОВАНИЕ ВТОРИЧНОЙ КЛЕТОЧНОЙ СТЕНКИ ВОЛОКОН ДРЕВЕСИНЫ



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

**СЕВЕРНЫЙ  
(АРКТИЧЕСКИЙ)  
ФЕДЕРАЛЬНЫЙ  
УНИВЕРСИТЕТ**



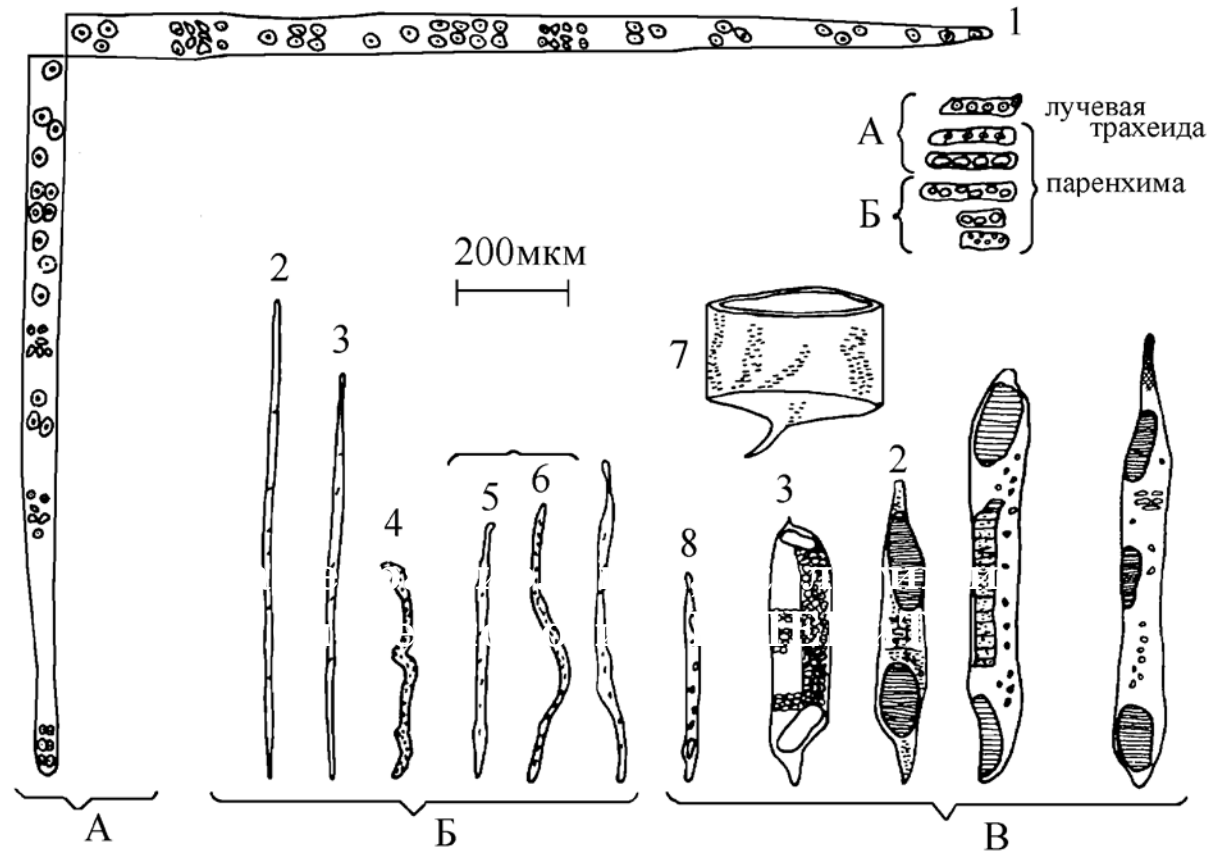
# Цель работы

**Цель работы - установить особенности формирования трахеид и волокон либриформа древесных растений, в частности определить, какой субстрат используется для биосинтеза основных компонентов слоев вторичной стенки.**

**Теоретические представления об образовании вторичной стенки растительных клеток**

*Вторичная стенка, формируемая вслед за первичной клеточной стенкой, откладывается протопластом клетки с внутренней стороны первичной клеточной стенки*

Эверт Р.Ф. Анатомия растений Эзау. Меристемы, клетки и ткани растений: строение, функции и развитие. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2015. – 600 с.



А – волокно хвойных пород древесины; Б – волокно лиственных пород древесины; В – сосуды лиственных пород древесины. 1 – волокно сосны; 2 – волокно березы; 3 – волокно осины; 4 – трахеида дуба; 5 – волокно эвкалипта; 6 – трахеида эвкалипта; 7 – весенняя древесина дуба; 8 – осенняя древесина дуба

# Материалы и методы исследования

**Материалы:** образцы стволов и ветвей березы (*Betula pubescens*), ели (*Picea abies*).

**Методы подготовки:** криомеханическая обработка образцов жидким азотом и получение сколов в различных направлениях

**Методы исследования:**

Электронная и оптическая микроскопия

ИК-микроскопия



MultiMode 8  
(«Brucker»)



ZEISS  
Axio Imager M2



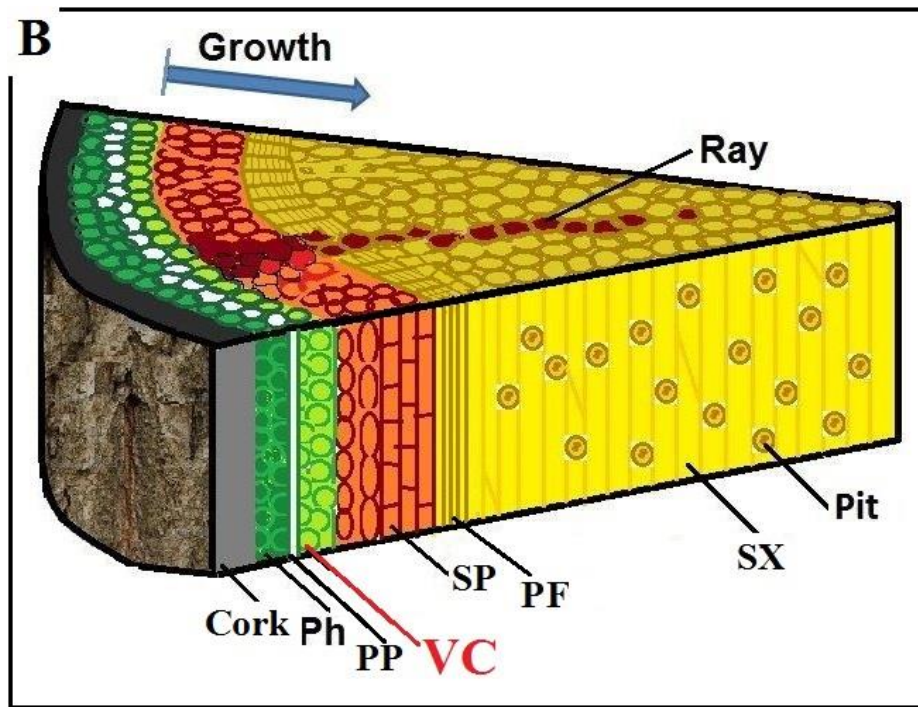
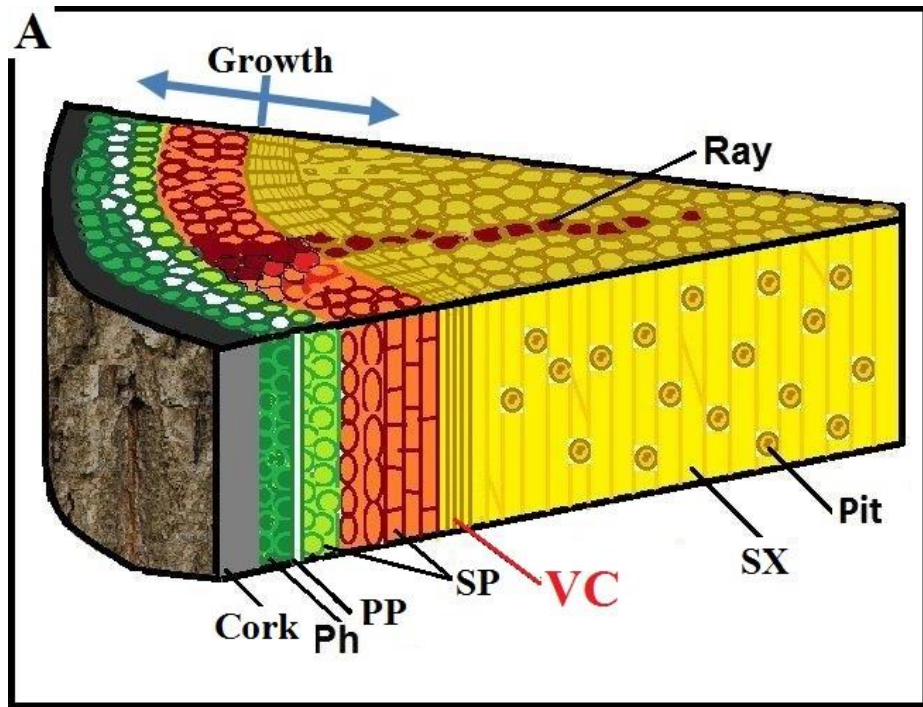
Микроскоп  
инфракрасный  
HYPERION 3000



ZEISS  
SIGMA VP

Работа выполнена с использованием оборудования ЦКП НО «Арктика», САФУ

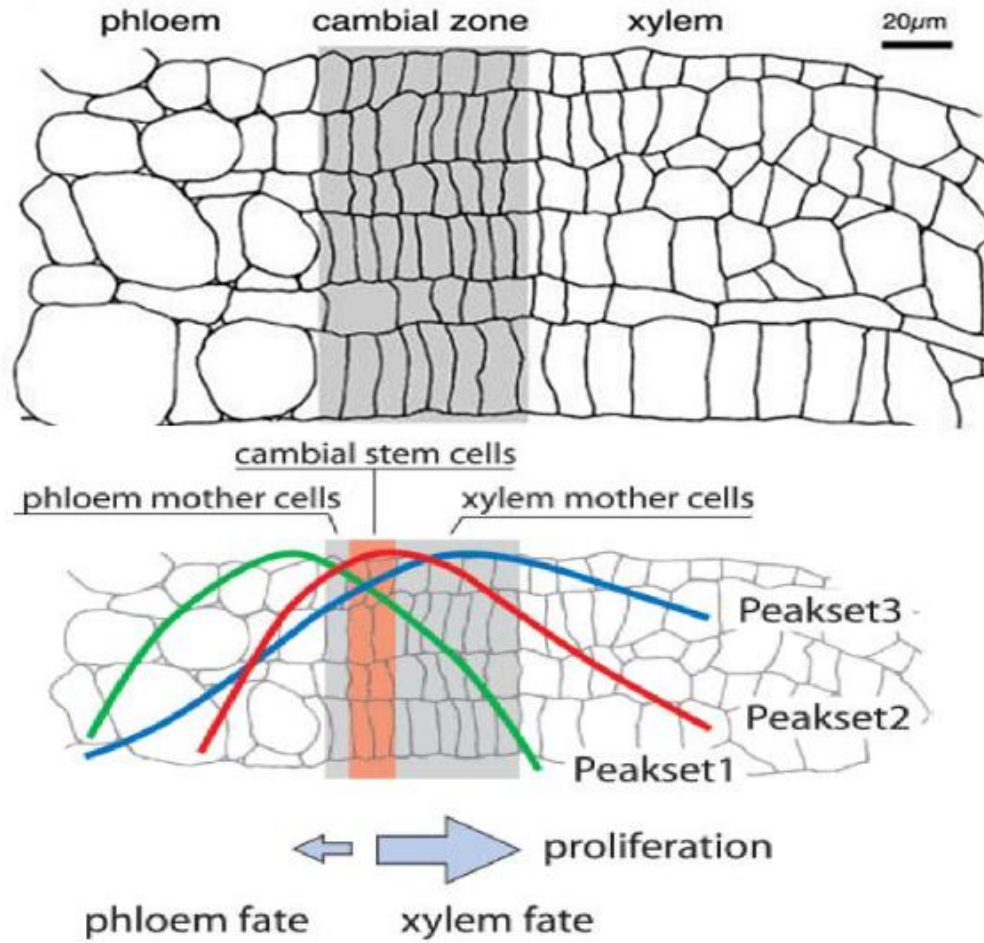
## Теоретические представления о формировании волокон древесных растений



Cork – корка, CZ – камбиальная зона, PF – P-волокно, Ph – феллоген, PP – первичная флоэма, Ray – луч, Pit – пора, SP – вторичная флоэма, SX – вторичная ксилема, VC – сосудистый камбий.

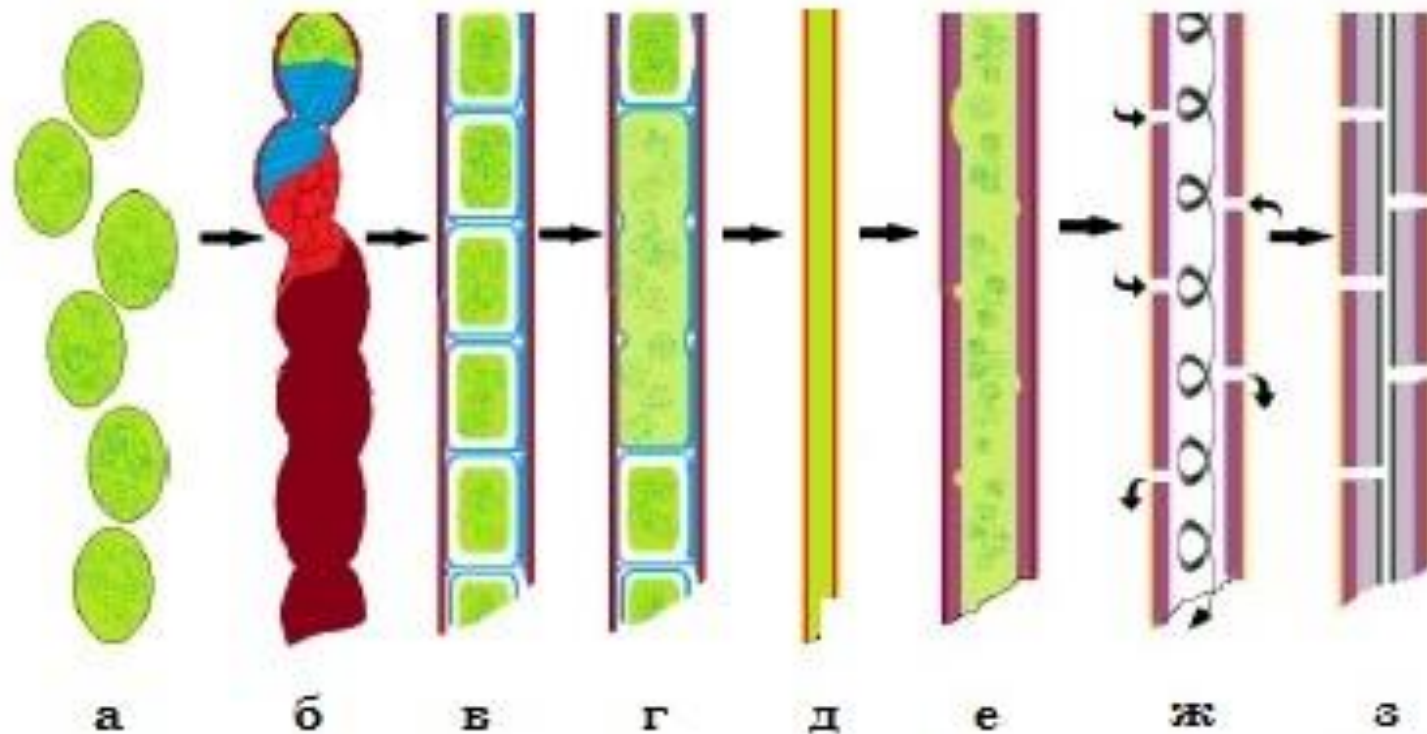


# Общий вид зоны между флоэмой и ксилемой (действующая теория)



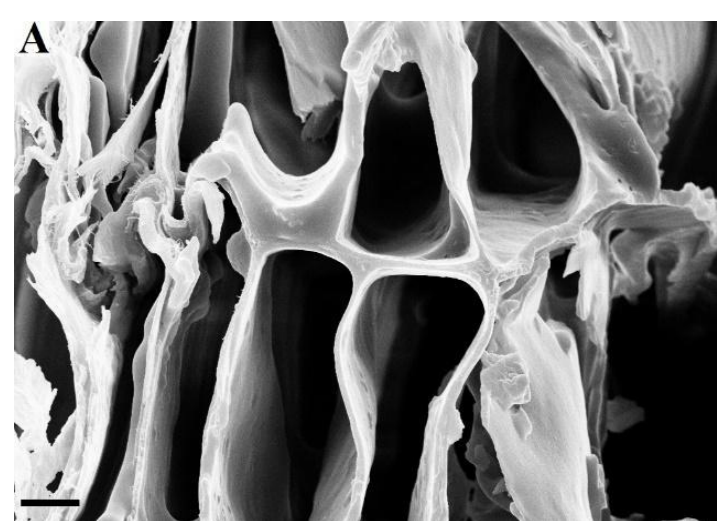
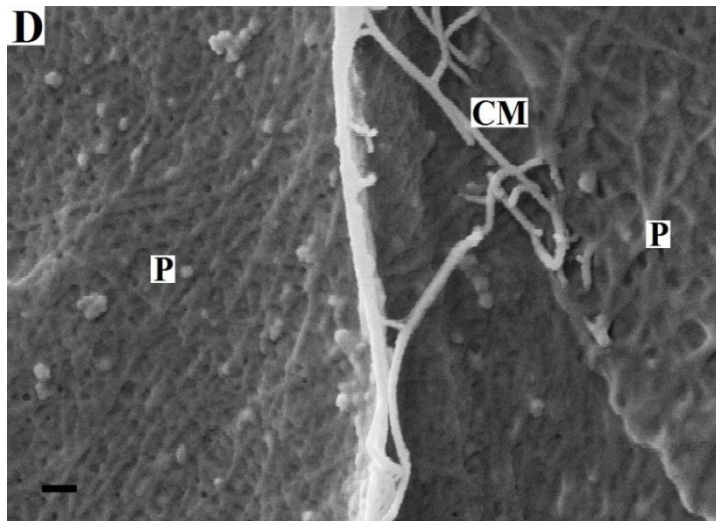
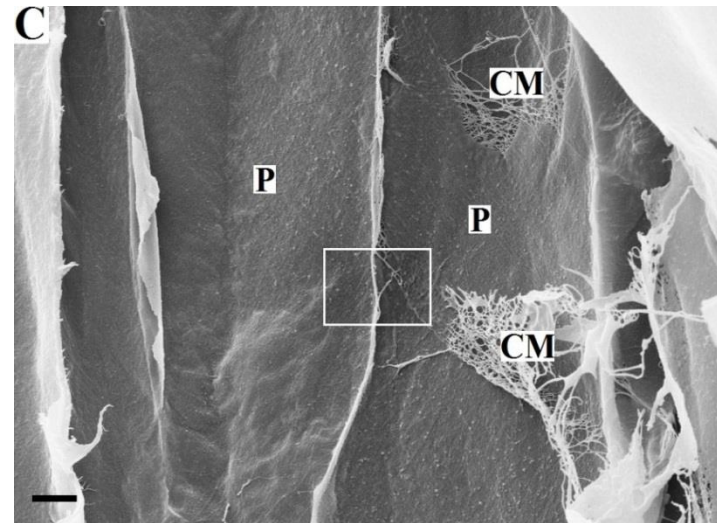
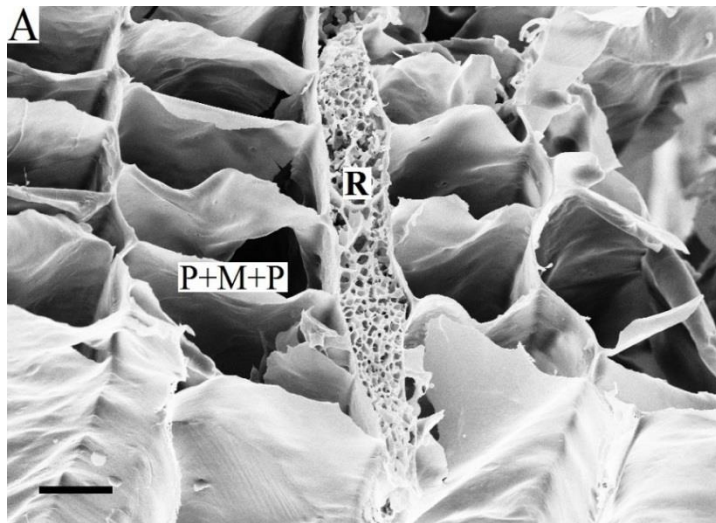
Schrader et al. (2004) *The Plant Cell* **16**: 2278–2292.

## Общая схема формирования структуры древесного волокна (новая теория)



а) образование изодиаметрических камбиальных клеток; б) формирование вертикальных рядов клеток (бус) внутри общей оболочки; в) образование аксиальной паренхимы; г) разрушение септ и формирование перегородчатых волокон; д) образование Р-волокон; е) формирование волокна со слоем S1, начало формирования пор; ж) завершение образования пор, строительство среднего слоя S2; з) завершение образования структуры волокна

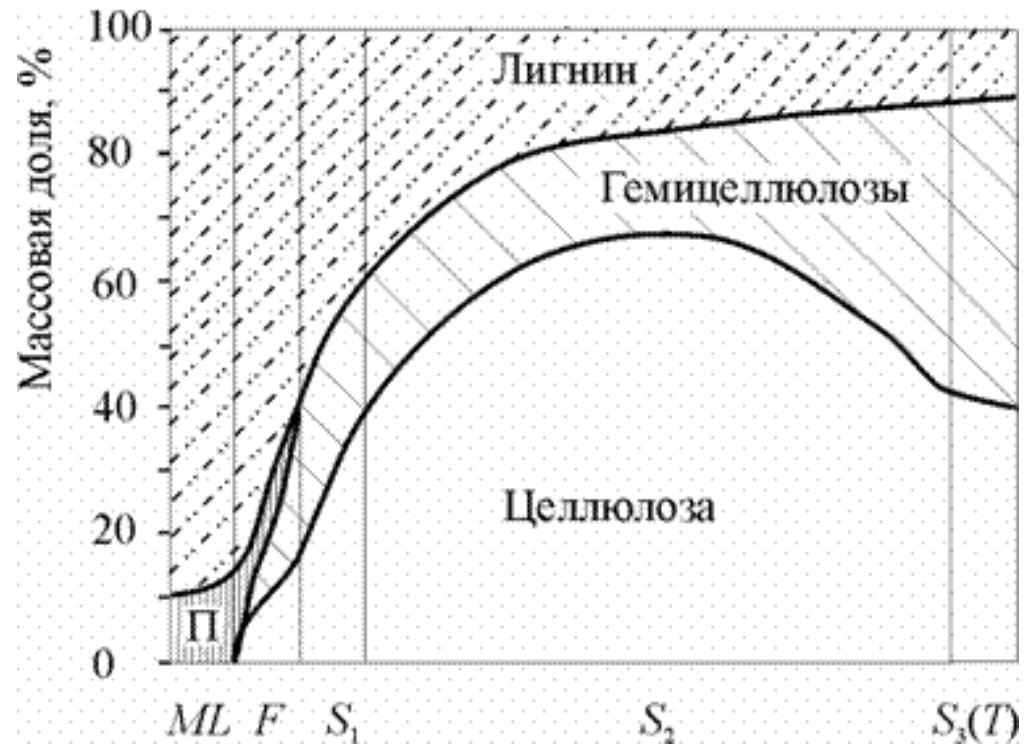
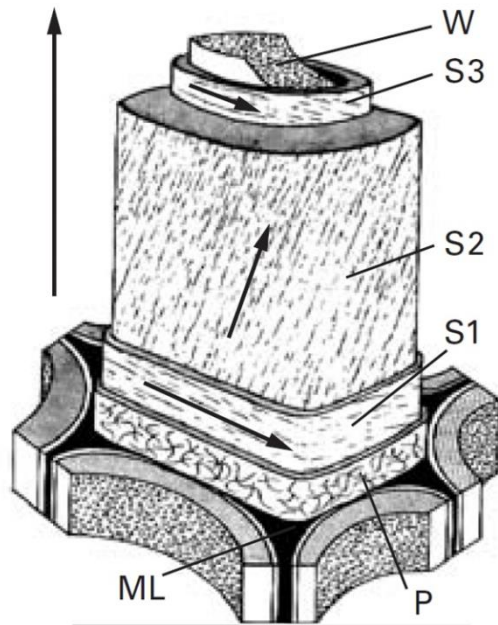
# Снимки волокон с первичными стенками



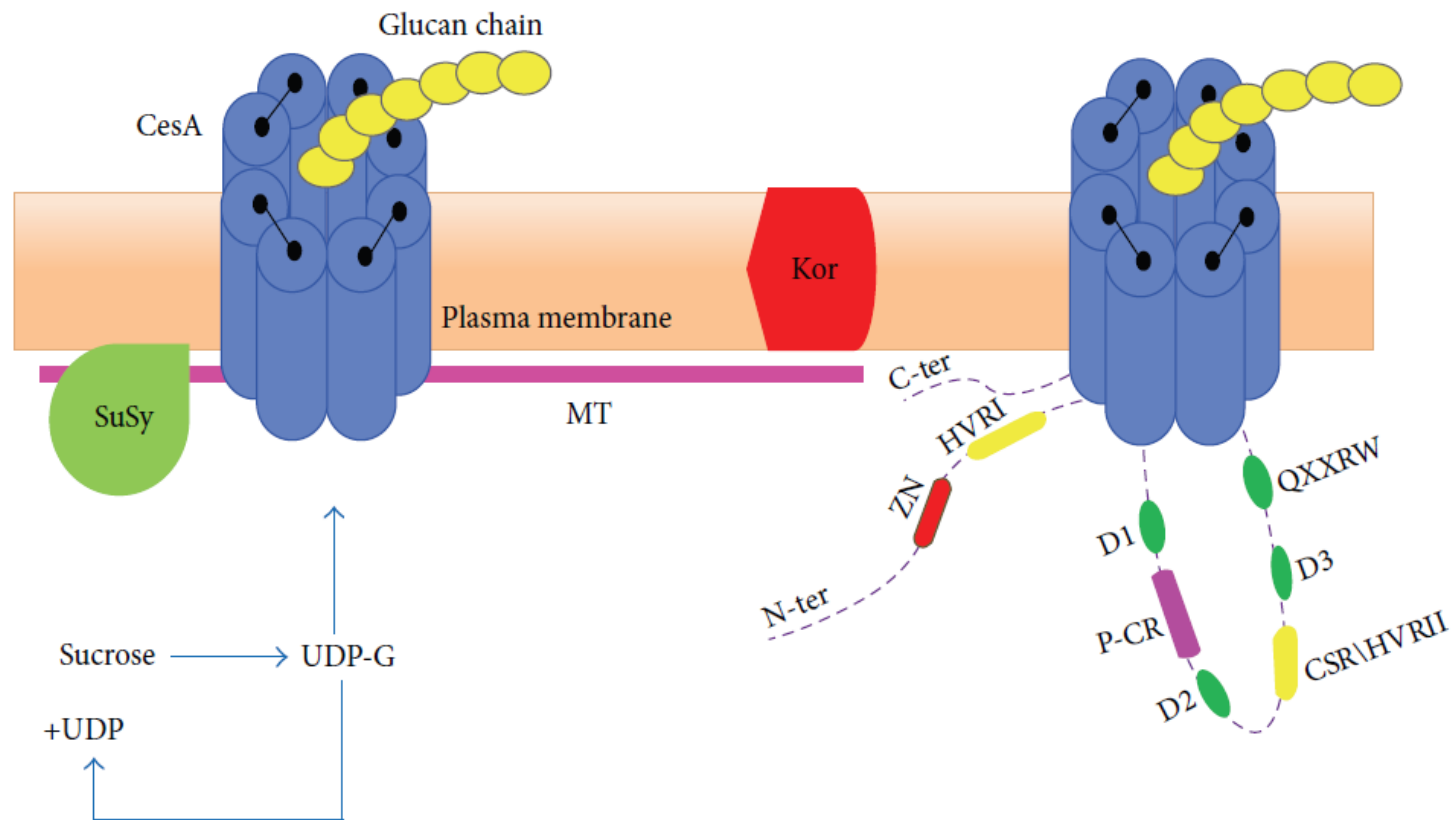
Масштабная линейка: А – 10 мкм; В – 100 нм; С – 1 мкм; D– 100 нм



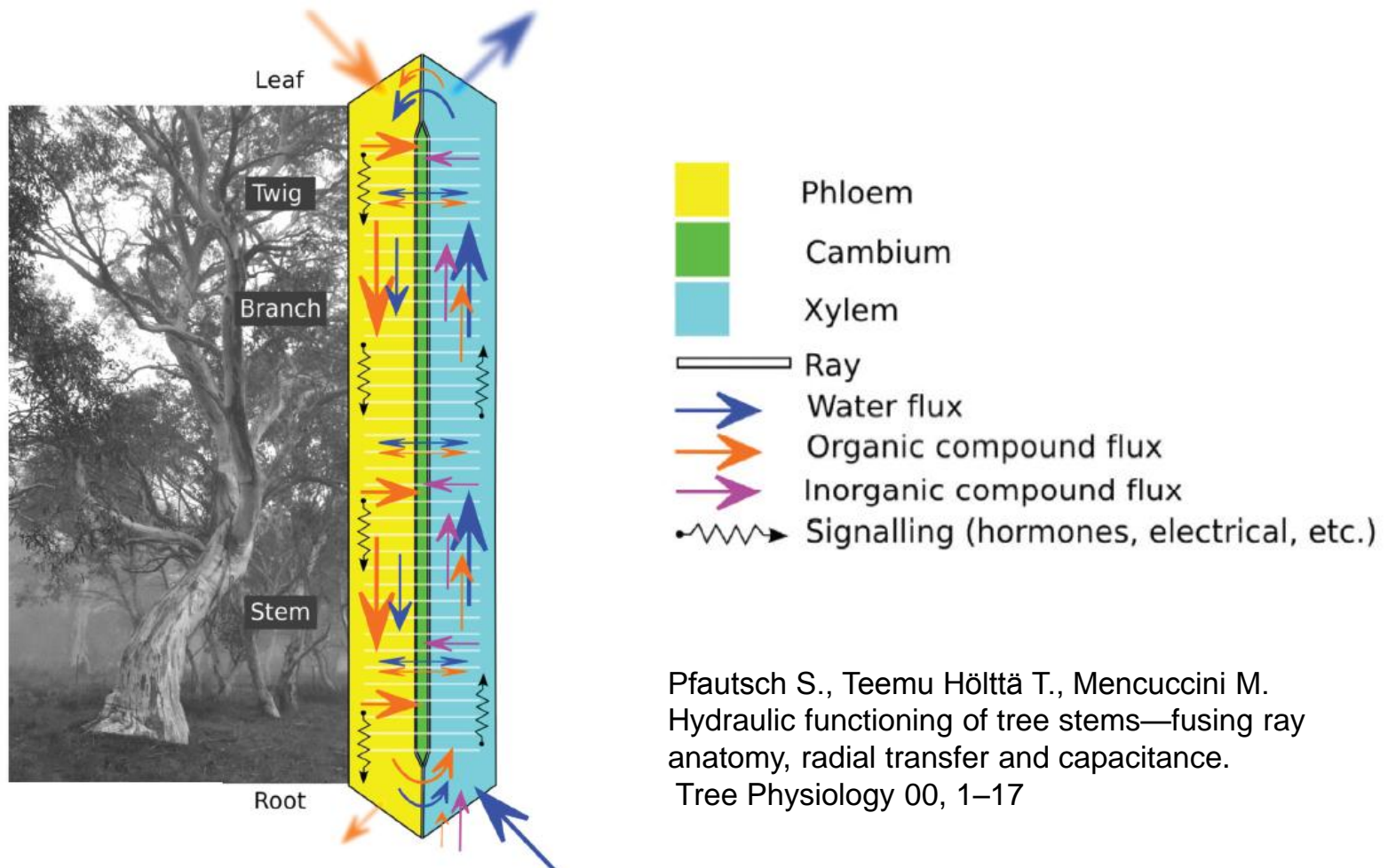
# Строение и состав клеточной стенки древесного волокна



# Биосинтез растительной целлюлозы из сахаров с участием синтаз



# Направления потоков в сосудистой системе дерева между флоэмой и ксилемой



Pfautsch S., Teemu Hölttä T., Mencuccini M.  
Hydraulic functioning of tree stems—fusing ray  
anatomy, radial transfer and capacitance.  
Tree Physiology 00, 1–17

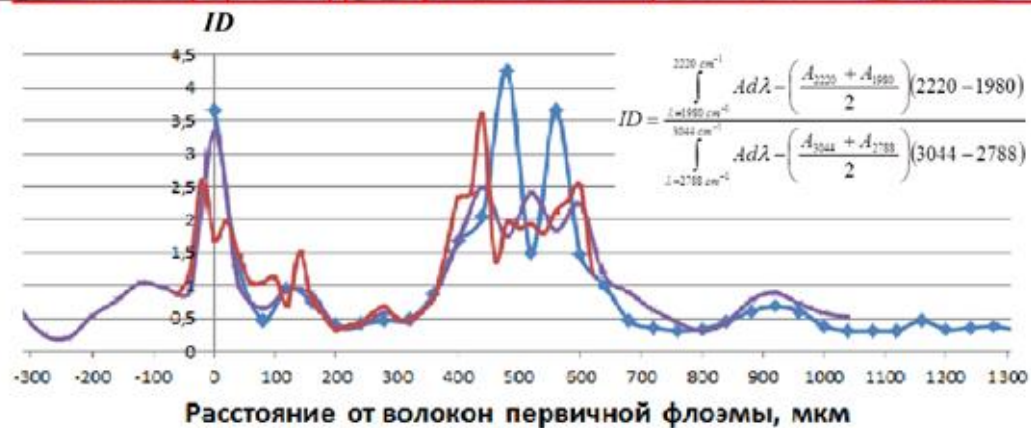
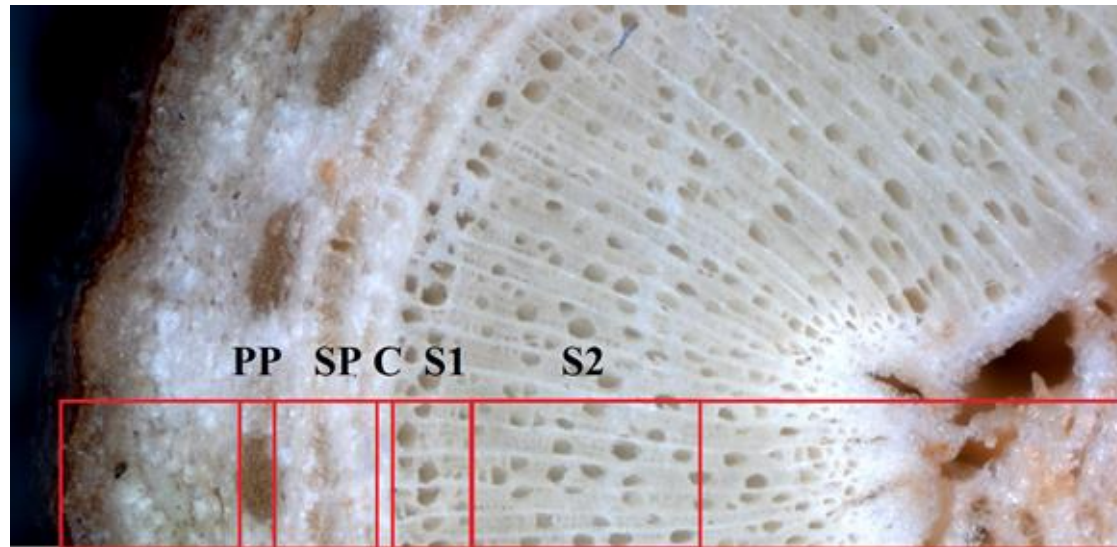
## **Методика выращивания растений с использованием дейтерированной воды**

Идея эксперимента состоит в том, что при введении дейтерия в растущее растение (ветку) *и его участия в процессе биосинтеза*, дейтерий должен накапливаться только в составе тех компонентов слоев клеточной стенки, в биосинтезе которых участвуют дейтерированные сахара. Дейтерий должен проходить по пути D<sub>2</sub>O - дейтерированная глюкоза - дейтерированная сахароза – дейтерированная УДФ-глюкоза – дейтерированная целлюлоза (+ дейтерированные гемицеллюлозы и лигнин).

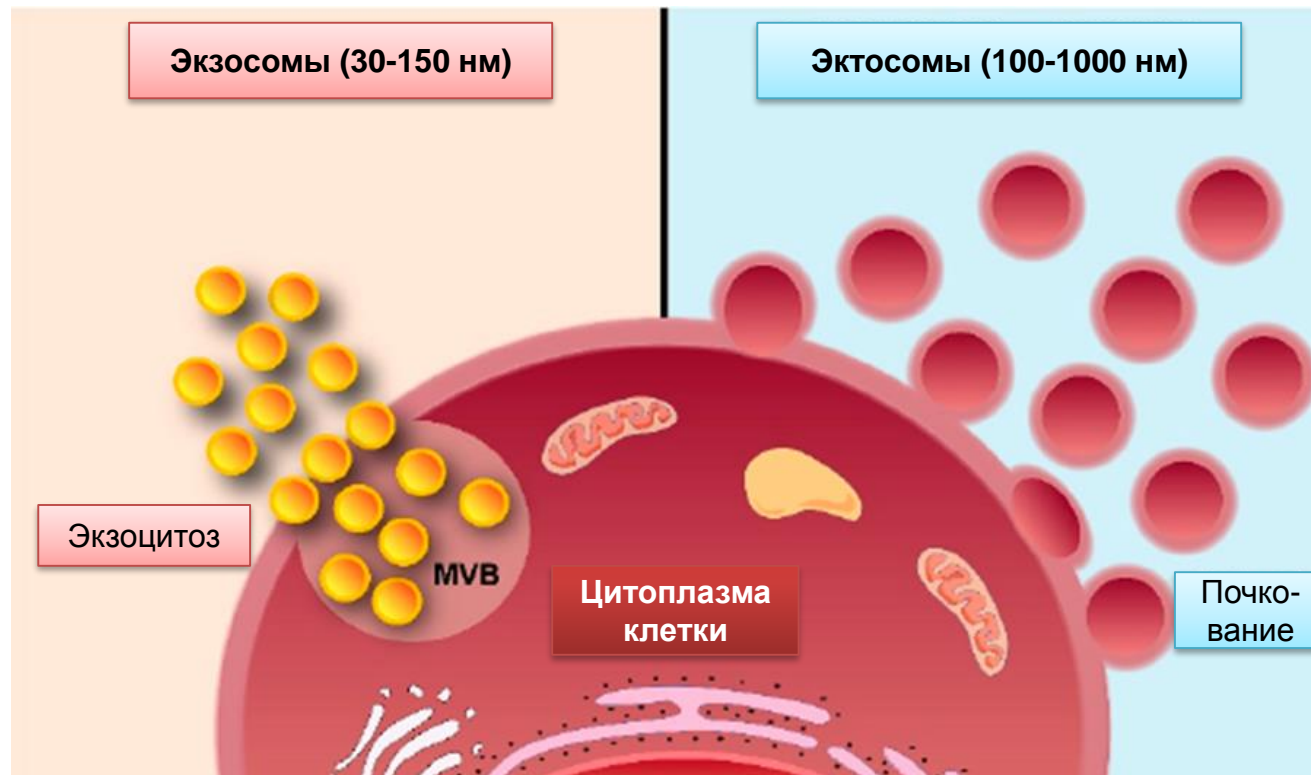
Для удаления дейтерия, не входившего в состав полимеров клеточной стенки, образцы многократно промывали ацетоном и водой при температуре 100 оС



# Эксперимент с дейтерированной водой



# Внеклеточные везикулы, выделяемые клеткой



MVB – мультивезикулярное тело

Kalra H., Drummen G., Mathivanan S. Focus on extracellular vesicles: introducing the next small big thing //International journal of molecular sciences. – 2016. – Т. 17. – №. 2. – С. 170.

## Информация о растительных экзосомах

Во вторичной флоэме и вторичной ксилеме на внутренних поверхностях стенок клеток нами впервые найдены внеклеточные везикулы (экзосомы) - частицы сферической формы диаметром около 100 нм. Экзосомы имеют защитный фосфолипидный слой и содержат биологически активные молекулы.

Установлено, что экзосомы, выделенные из листьев тополя, в качестве компонента содержат эндо-1,4- $\beta$ -глюканазу (Yu et al. 2013). Этот фермент был локализован на плазматической мембране экзосомы с каталитическим доменом по направлению наружу.

Yu L, Sun J, Li L (2013) PtrCel9A6, an endo-1,4- $\beta$ -glucanase, is required for cell wall formation during xylem differentiation in *Populus*. Molecular Plant 6:1904–1917

## **Ферменты целлюлазного комплекса растений**

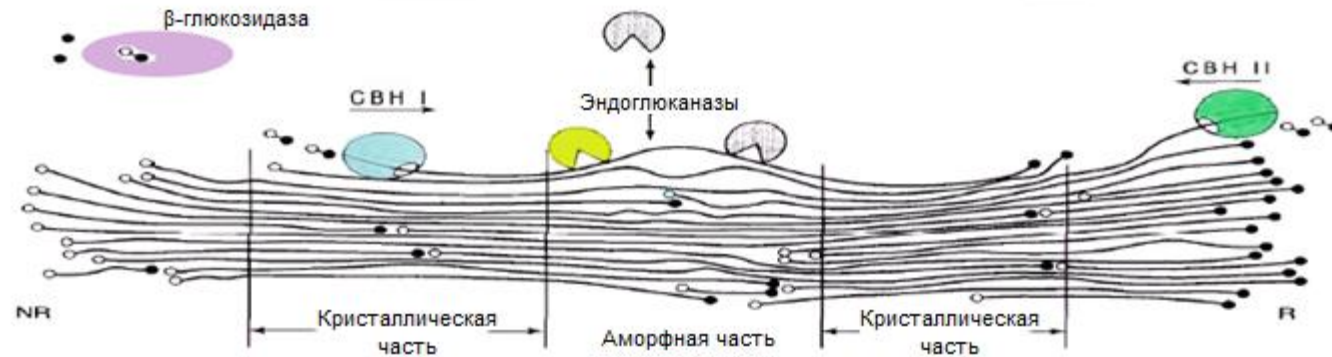
Целлюлазный комплекс растений включает два фермента: эндо-1,4- $\beta$ -глюканазу (ЭГ) и 1,4- $\beta$ -глюкан глюкогидролазу. ЭГ разрушают целлюлозу, расщепляя внутренние связи в участках микрофибрилл, могут гидролизовать аморфную целлюлозу до 1,4- $\beta$ -D-глюкоолигосахаридов, но не могут гидролизовать кристаллическую целлюлозу, ксилоглюкан, ксилан и другие полисахариды и олигосахариды.

Глюкогидролазы гидролизуют 1,4- $\beta$ -D-олигоглюкозиды с СП от 2 до 6, а также действуют на кристаллическую целлюлозу, удаляя последовательные единицы глюкозы с нередуцирующего конца макромолекулы.

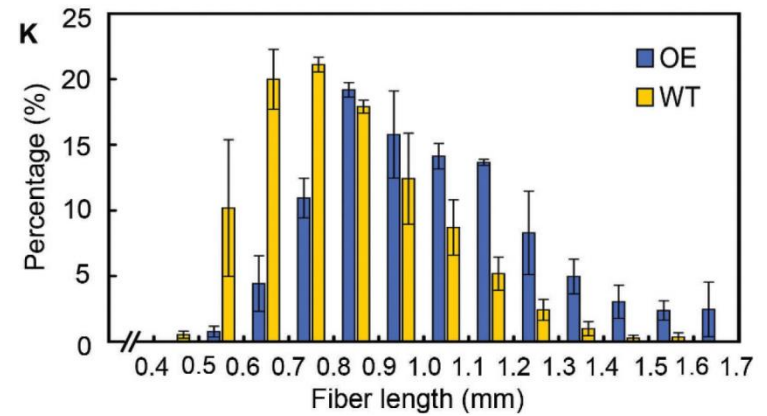
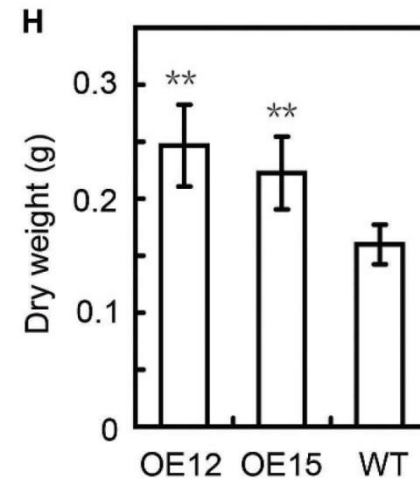
Действуя совместно, эти ферменты в растении могут гидролизовать целлюлозу до глюкозы



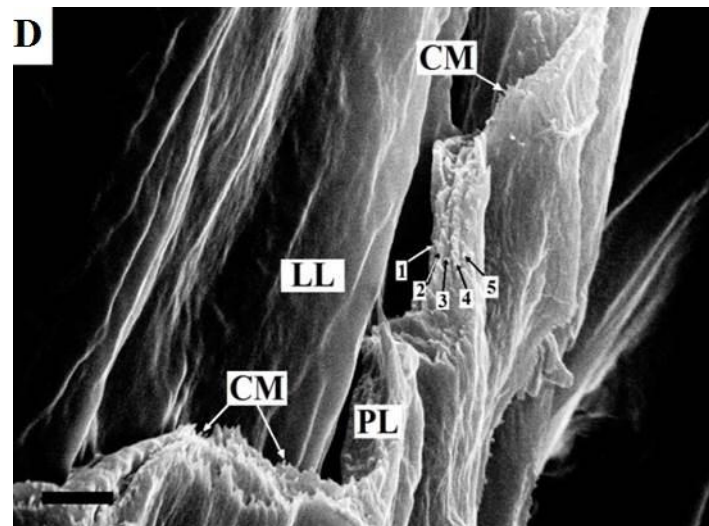
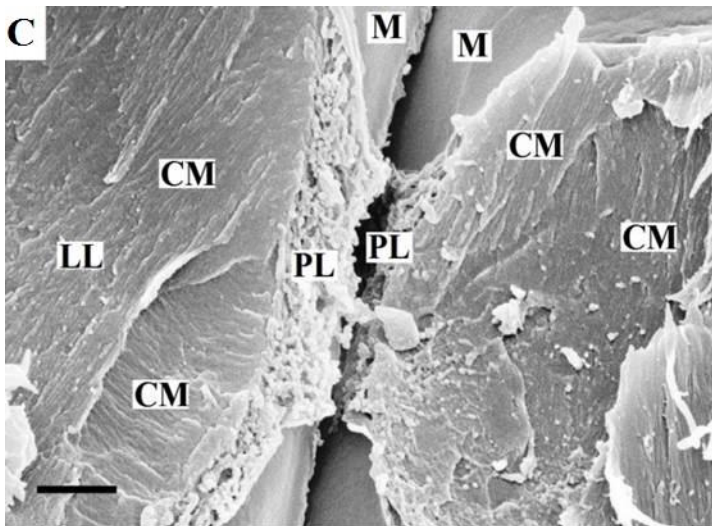
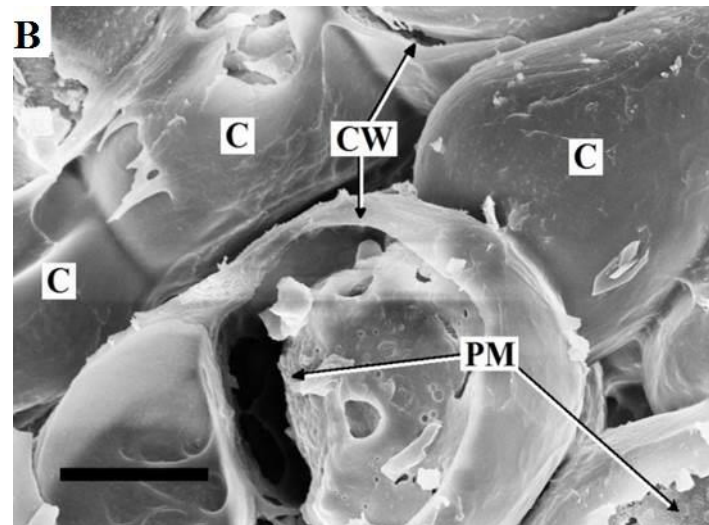
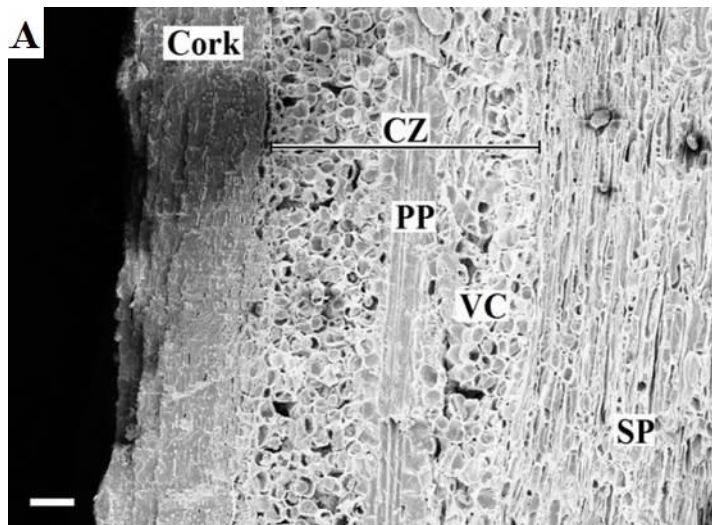
# Механизм ферментативного гидролиза целлюлозы



# Эффект суперэкспрессии эндоглюканазы *PtrCel9A6* на развитие растения *Arabidopsis*



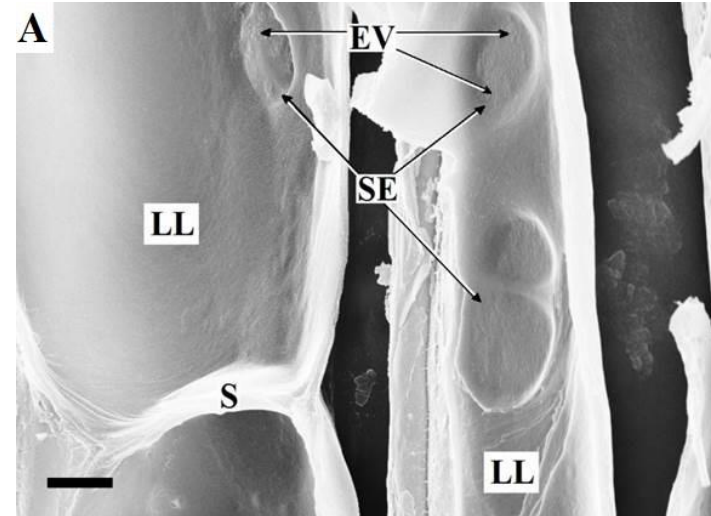
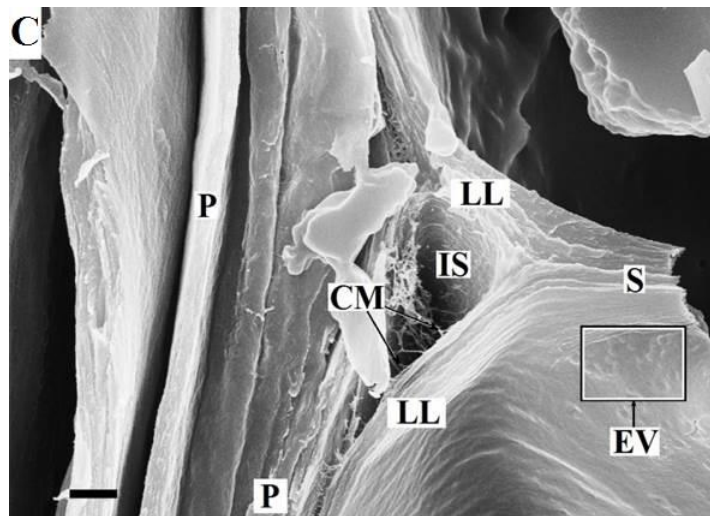
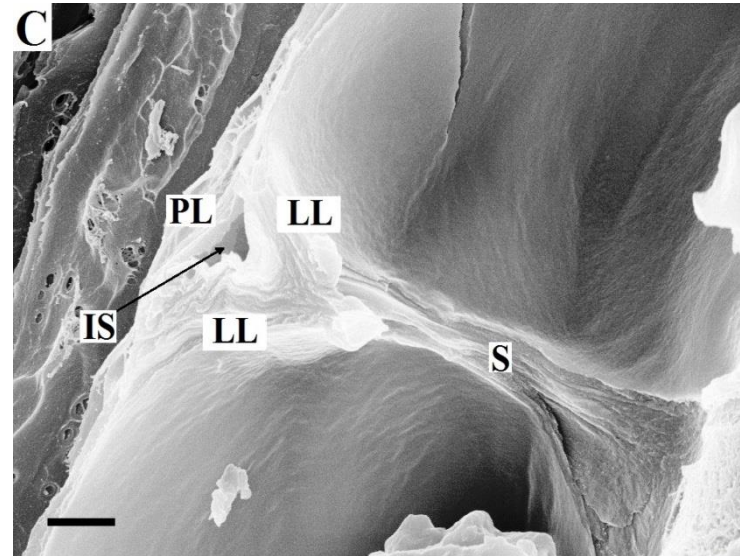
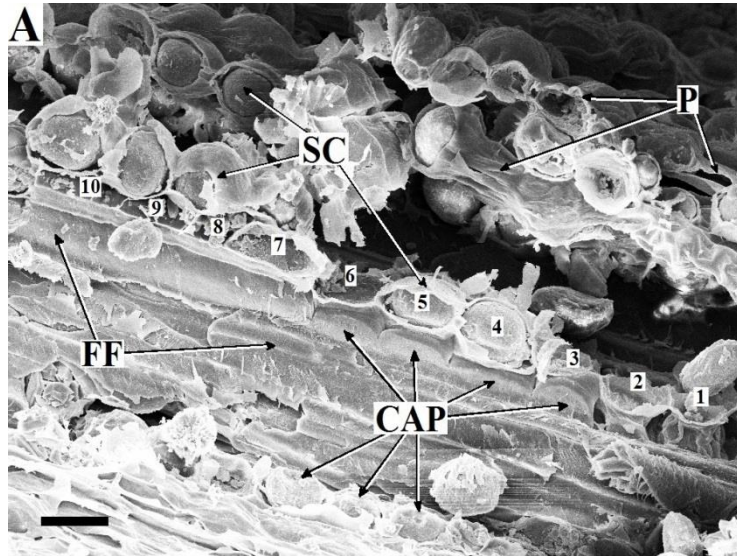
# Строение клеточных стенок паренхимных клеток



Масштабная линейка: A – 50  $\mu$ m, B – 10  $\mu$ m, C – 500 nm, D – 500 nm

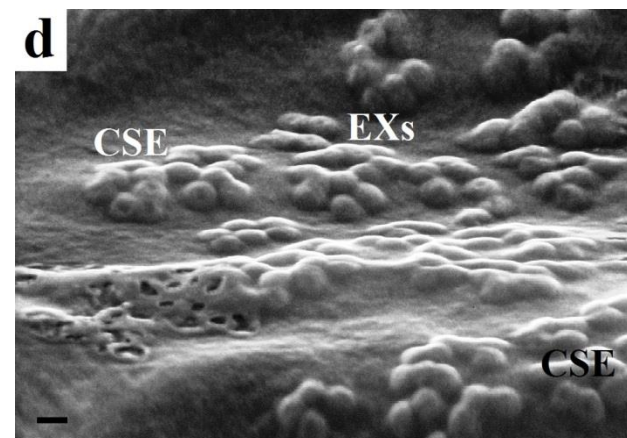
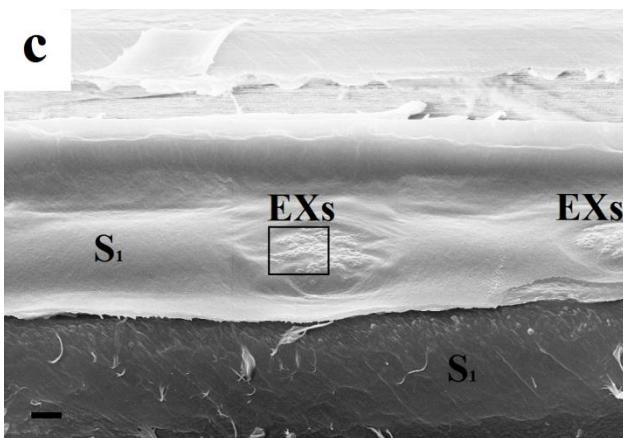
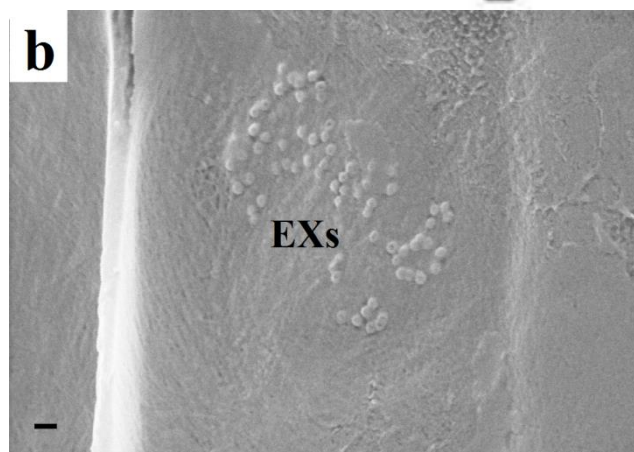
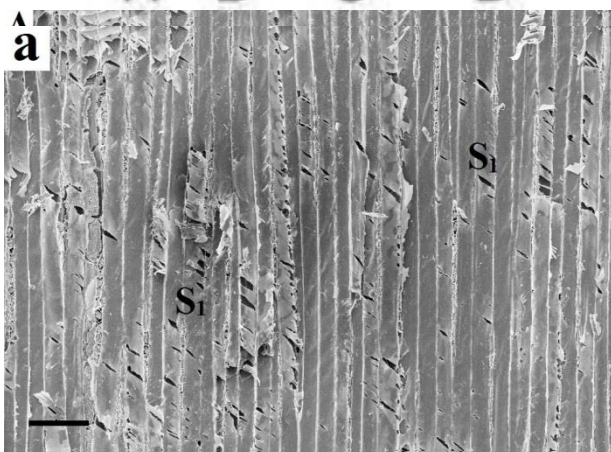


# Участие целлюлаз экзосом в деструкции перегородок и ламеллярного слоя волокон

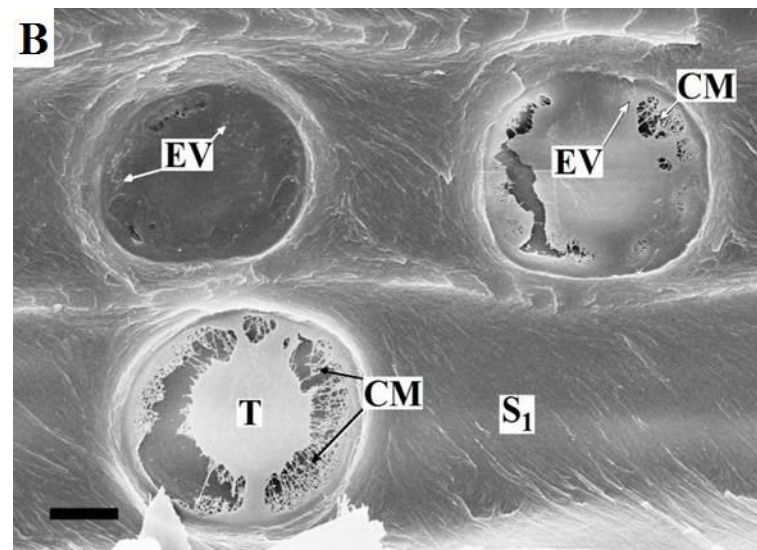
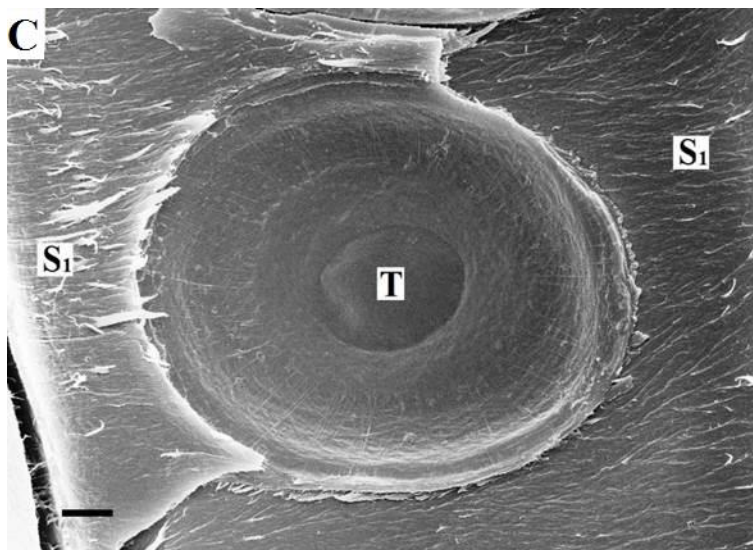
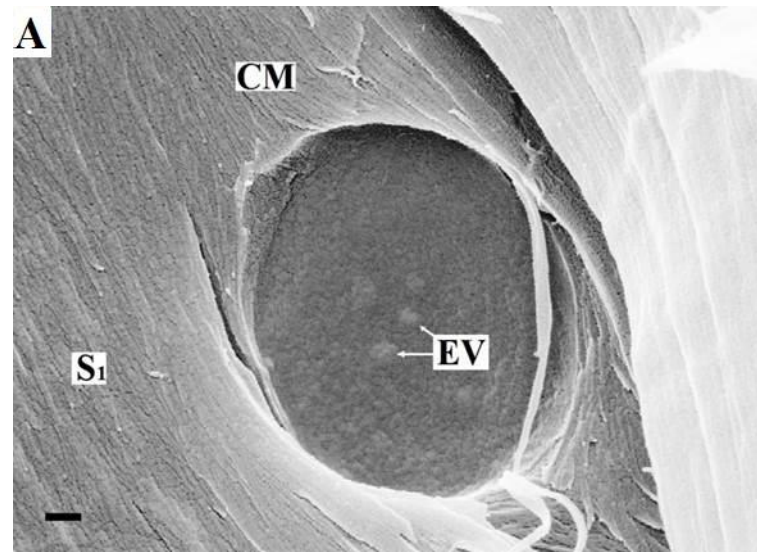
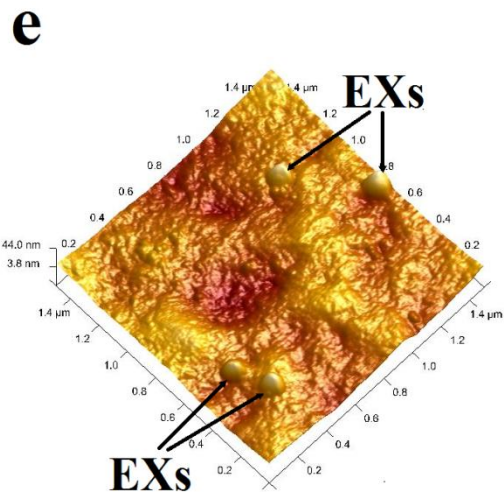




# Участие эндогликаниз экзосом в формировании пор в волокнах со слоем S<sub>1</sub>

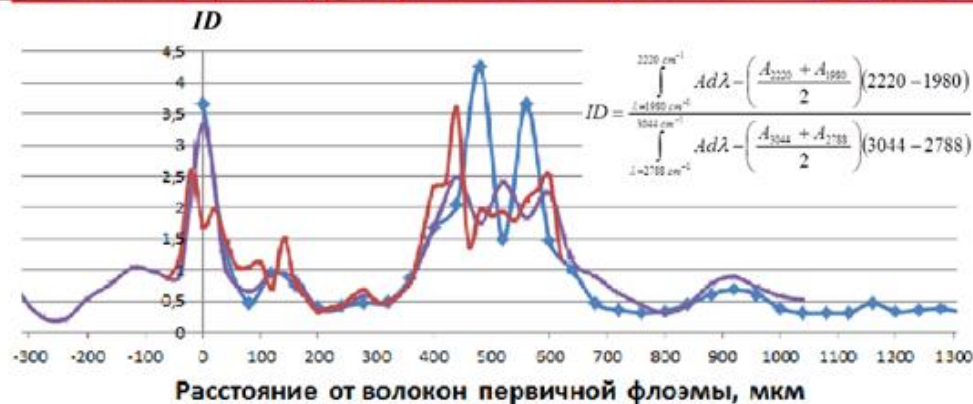
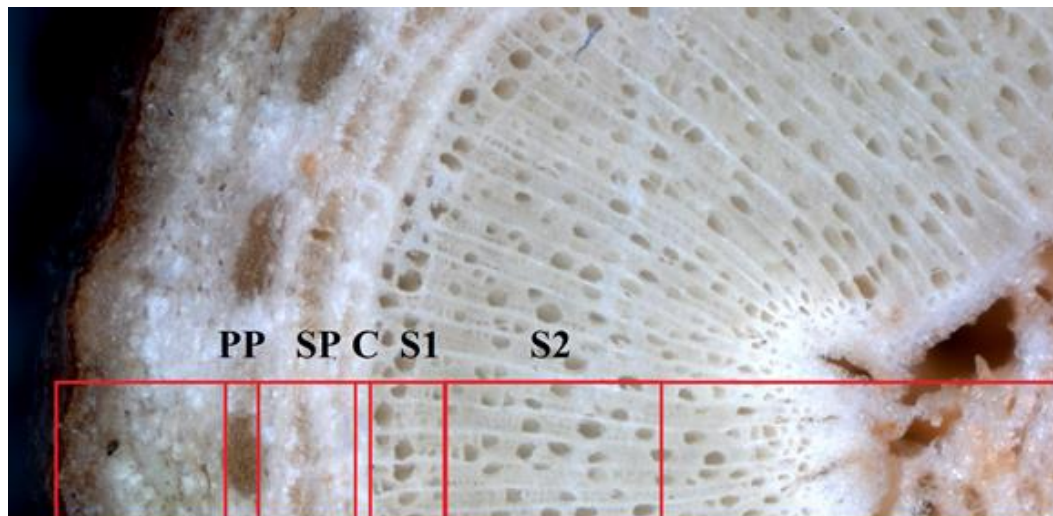


## Формирование структуры пор с участием эндогликаназ, доставленных экзосомами





# Биосинтез компонентов клеточных стенок с участием дейтерия



## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Слои вторичной стенки волокон древесины образуются из разных субстратов. Микрофибриллы слоя  $S_1$  формируются за счет накопленного запаса крахмала в волокне. Поры в волокнах образуются только после отложения слоя  $S_1$  вторичной стенки волокна. Эндоглюканазы, доставленные экзосомами, участвуют в гидролизе микрофибрилл слоя  $S_1$  в местах образования пор. Слой  $S_2$  формируется из сахарозы, которая поступает из флоэмы по сердцевинным лучам и проникает в люмен волокна через поры.





**Спасибо  
за внимание**

**Новожилов Евгений Всеволодович  
д.т.н., профессор    [e.novozhilov@narfu.ru](mailto:e.novozhilov@narfu.ru)**