

УДК 581.149

ПРОЦЕССЫ СТАРЕНИЯ И ОТМИРАНИЯ ПРОТОПЛАСТА ВОЛОКОН ЛЬНА: УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЙ АНАЛИЗ¹

© 2012 г. М. В. Агеева, Т. Е. Чернова, Т. А. Горшкова

Учреждение Российской академии наук Казанский институт биохимии и биофизики
Казанского научного центра РАН

420111 Казань, ул. Лобачевского, д. 2/31, а/я 30

E-mail: gorshkova@mail.knc.ru

Поступила в редакцию 16.06.10 г.

Окончательный вариант получен 31.03.11 г.

Растительные волокна – специализированные клетки, выполняющие механическую функцию. В процессе своего развития они проходят стадии, характерные для большинства растительных клеток: закладка, рост клетки растяжением, дальнейшая специализация, старение и отмирание. На примере флоэмных волокон льна – классического объекта для анализа формирования волокон склеренхимы – проведен анализ ультраструктуры этих клеток на поздних стадиях развития – старения и отмирания. Обнаружено, что волокна льна сохраняют жизнеспособный протопласт в течение длительного времени, до конца вегетационного сезона. Признаки, характерные для апоптоза, в результате ультраструктурного анализа флоэмных волокон льна не выявлены. Постепенная деградация цитоплазмы начинается еще на фоне активного утолщения вторичной клеточной стенки и выражается в нарастании аутолитических процессов, что приводит к частичной потере клеточного содержимого. Нарушение целостности тонопласта является финальной стадией. Полученные данные позволяют предполагать, что отмирание волокон льна происходит в процессе старения и программа их гибели имеет сходство с программой, реализующейся в волокнах ксилемы древесных растений.

Ключевые слова: волокна склеренхимы, ультраструктура, программируемая клеточная смерть, *Linum usitatissimum*.

ВВЕДЕНИЕ

Растительные волокна – структурно-функциональные элементы склеренхимы – механической ткани. Известно, что за период биогенеза волокна проходят все стадии, характерные для большинства растительных клеток: закладка, рост клетки растяжением, дальнейшая специализация, старение и отмирание. Исследования развития волокон фокусировались в основном на стадиях удлинения клетки и формирования мощной вторичной клеточной стенки, которые охарактеризованы с различных точек зрения, в том числе и ультраструктурной (Mellerowicz et al., 2001; His et al., 2001; Gorshkova et al., 2004; Salnikov et al., 2008; Bowling, Vaughn, 2009; Снегирева и др., 2010). Стадии старения и отмирания до сих пор исследованы слабо, при этом сроки и механизмы их осуществления получили противоречивые оценки. С одной стороны, волокна часто описывают как клетки, не имеющие живого протопласта и представляющие собой полые клетки, кото-

рые отмирают достаточно рано (Раздорский, 1949; Тутаюк, 1980; Рейвн, 1990; Лотова, 2001). С другой стороны, как в середине прошлого века (Fahn, Arnon, 1962; Fahn, Leshem, 1963), так и в последнее время (Weiner et al., 1996; Gritsch et al., 2004; Gritsch, Murphy, 2005) появились работы, из которых следует, что волокна либриформа могут в течение нескольких лет сохранять живой протопласт. Особый интерес исследования поздних стадий развития волокон вызывают в связи с общими вопросами о механизмах отмирания растительных клеток. В недавно вышедшей работе старение и гибель ксилемных волокон некоторых видов *Populus* связывают с особым типом программируемой клеточной смерти, значительно отличающейся от происходящей в ксилемных сосудах (Courtois-Moreau et al., 2009). Этот вывод основывается на изучении ксилемных волокон древесных видов. В настоящем исследовании мы попытались ответить на вопросы, связанные со старением и отмиранием флоэмных волокон травянистых растений: как долго протопласты волокон остаются живыми и каков механизм их клеточной смерти? Анализ проведен на первичных флоэмных волокнах льна – классического объек-

¹ Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проекты №№ 08-04-00845; 09-04-00547).

та для исследования биогенеза волокон (Александров и др., 1932; Esau, 1943; Горшкова и др., 2003).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

В качестве объекта исследований использовали растения льна-долгунца (*Linum usitatissimum* L.) сорта Новоторжский, выращенные в условиях вегетационного опыта с мая по октябрь в ящиках со слоем почвы 50 см на открытом воздухе при естественном освещении. Образцы для электронно-микроскопических исследований были взяты из средней части стебля (~50 см от гипокотыля) в фазы зеленой, желтой и полной спелости растений. Общая высота растений составляла 115–120 см. Растения, отобранные для фиксации в октябре и находившиеся в фазе полной спелости, имели желтый стебель, сухие метелки и коробочки; листья практически отсутствовали.

Отрезки стебля длиной 2 см предварительно фиксировали 2.5% глутаровым альдегидом на 0.05 М фосфатном буфере (рН 7.3) 3 часа при комнатной температуре. Затем вырезали короткие (0.4 см) участки из середины отрезка, разделяли их вдоль на 4 сегмента и фиксировали в 2.5% глутаровом альдегиде на 0.1 М фосфатном буфере в течение суток. Постфиксацию проводили в 1% тетраоксиде осмия с добавлением сахарозы (25 мг/мл) при комнатной температуре в течение 5 часов. После дегадратации в серии спиртов постепенно повышающейся концентрации, ацетоне и окиси пропилену ткань заливали в Epon (Ted Pella Inc.). Срезы делали стеклянным ножом на ультрамикротоме LKB 8800 (Швеция). Контрастирование проводили в 2% водном растворе уранилацетата в течение 20 минут при комнатной температуре и цитратом свинца в течение 8 минут (Reynolds, 1963). Образцы просматривали на трансмиссионном электронном микроскопе JEM-1200EX (Jeol, Япония) при ускоряющем напряжении 80 кВ.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Первые признаки процесса деградации в цитоплазме флоэмных волокон льна были обнаружены уже в фазу зеленой спелости растения, хотя многие органеллы продолжали активно функционировать. В волокнах наблюдали ядра, вытянутые вдоль продольной оси клетки, с одним или несколькими ядрышками (рис. 1а). В цитоплазме волокон присутствовали диктиосомы и особые везикулы аппарата Гольджи с электронноплотным содержимым (рис. 1б), – характерные признаки активного формирования клеточной стенки желатинозного типа (Salnikov et al., 2008; Горшкова и др., 2010). Митохондрии и хлоропласты имели нативную структуру (рис. 1в, 1г). Однако уже встречались автолитические вакуоли с

разнородным содержимым (рис. 1д) и мультивезикулярные тела, свидетельствующие о частичной утилизации мембран. В большом количестве присутствовали крупные липидные капли различной электронной плотности, которые иногда формировали скопления, вдающиеся в вакуоль (рис. 1г). С одной стороны, вышеописанные признаки могут указывать на начинающийся процесс старения и отмирания волокна. С другой стороны, такая утилизация мембран может являться процессом, отражающим нормальную жизнедеятельность клетки, которая вынуждена избавляться от излишков мембран, образующихся в результате интенсивной секреции полисахаридов клеточной стенки и сокращения объема цитоплазмы и вакуоли.

На более поздних стадиях развития растений (желтая и полная спелость) в некоторых участках волокон наблюдали сильную вакуолизацию и просветление цитоплазмы, появление цитосегрегосом (рис. 2а), большое количество автолитических вакуолей с разнородным содержимым и мультивезикулярные тела (рис. 2в, 2г). Размер цитоплазмы, по-видимому, сильно уменьшается как за счет сокращения люмена при утолщении клеточной стенки, так и за счет увеличения центральной вакуоли, происходящего в результате литических процессов. В итоге, немногочисленные органеллы прижаты к клеточной стенке (рис. 2д). Деградация наблюдалась и в хлоропластах, что выражалось в увеличении межмембранных промежутков тилакоидов и накоплении крупных осмиофильных глобул (рис. 2б; 3а). Однако в хлоропластах до самой поздней стадии были видны крупные крахмальные зерна, что свидетельствовало об их продолжающейся деятельности. В цитоплазме волокон присутствовали рибосомы (рис. 3б). Митохондрии имели ортодоксальный вид, среднюю плотность матрикса и многочисленные хаотично расположенные кристы (рис. 2в, 3б). В волокнах растений, находящихся в фазе желтой и полной спелости, ядра и митохондрии (рис. 2в; 3а, 3б, 3в) не отличались по структуре от таковых, обнаруженных в волокнах на более ранних стадиях развития.

В фазу полной спелости отмечались локальные разрывы тонопласта (рис. 3г). В этих участках наблюдался тотальный лизис цитоплазмы и органелл, приводящий к опустошению клетки (рис. 3д). Тем не менее, в том же волокне оставались области с сохранившейся цитоплазмой, рибосомами, ядром и другими органеллами (рис. 3а, 3б, 3в).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Еще в середине прошлого века появились данные, свидетельствующие о том, что ксилемные волокна многих древесных растений могут в тече-

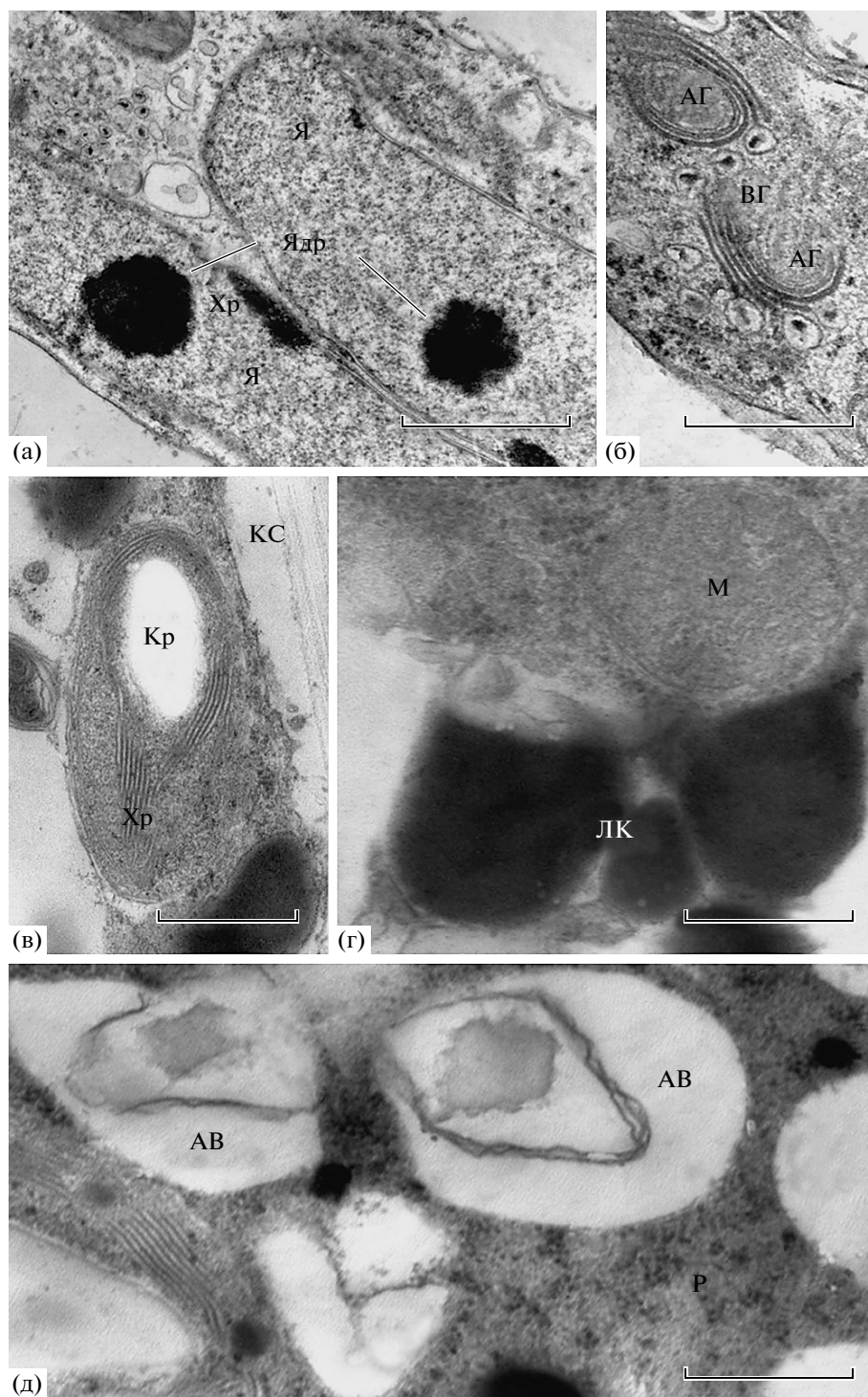


Рис. 1. Ультраструктура волокон льна в фазу зеленой спелости растения: а – ядро с ядрышком; б – аппарат Гольджи; в – хлоропласт с развитой ламеллярной структурой и крахмальным зерном; г – митохондрия и липидные капли; д – автолитические вакуоли. АВ – автолитические вакуоли; АГ – аппарат Гольджи; ВГ – везикулы аппарата Гольджи; КС – вторичная клеточная стенка; Кр – крахмальные зерна; ЛК – липидные капли; М – митохондрия; Р – рибосомы, Хл – хлоропласт; Хр – хроматин; Я – ядро, Ядр – ядрышко. Масштабная линия: а – 1 мкм; б–д – 0.5 мкм.

ние нескольких лет сохранять живой протопласт (Fahn, Leshem, 1963). В качестве первого признака старения волокон либриформа гребенщика (*Tamarix aphylla*) описывают исчезновение крах-

мальных гранул (в 7–13-м годичном кольце); дольше всего в волокнах сохраняются ядра (в 17-м годичном кольце) (Fahn, Arnon, 1962). Живые волокна были обнаружены в ротанговой

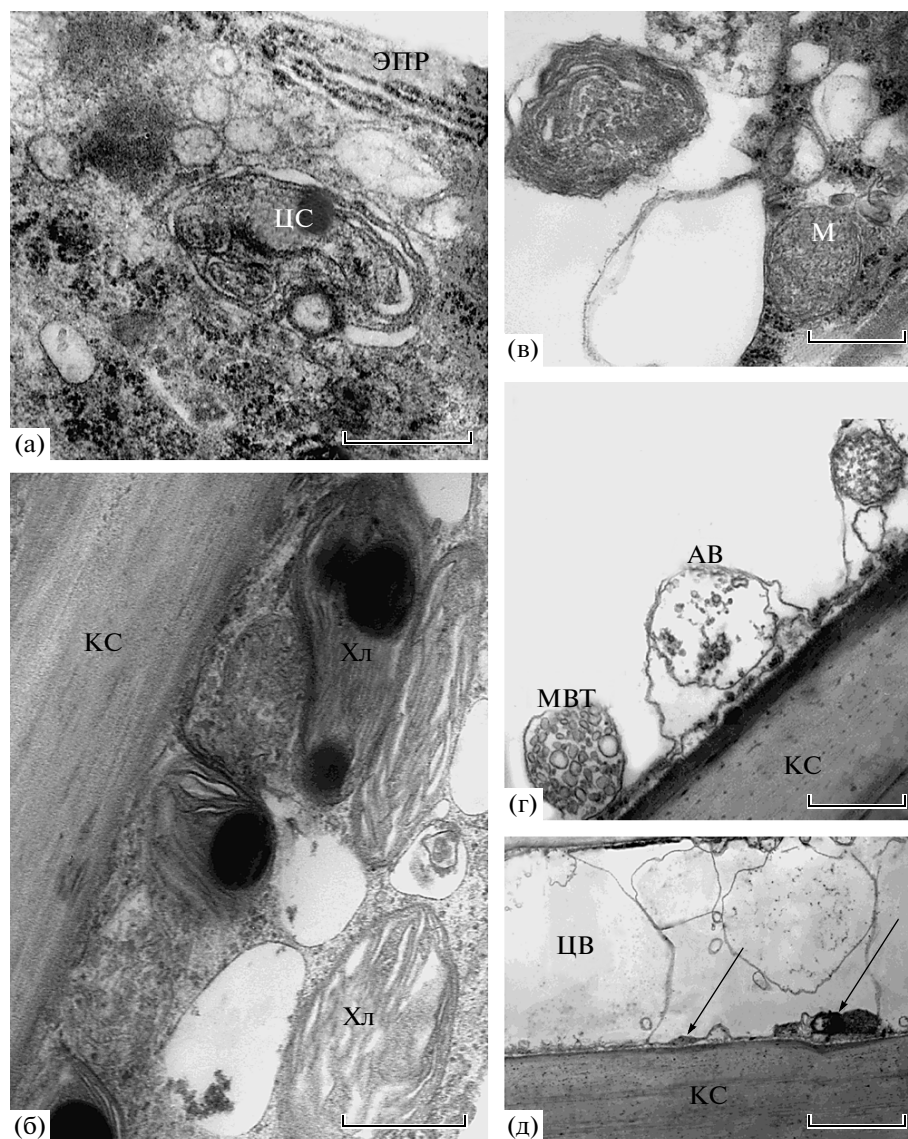


Рис. 2. Ультраструктура волокон льна в фазу желтой спелости растения: а – цитосегресома; б – деградация хлоропластов; в – митохондрия и цитосегресома; г – автофагия цитоплазмы; д – вакуолизация и уменьшение объема цитоплазмы (цитоплазма показана стрелками). АВ – автолитическая вакуоль; КС – вторичная клеточная стенка; М – митохондрия; МВТ – мультивезикулярное тело; Хл – хлоропласт; ЦВ – центральная вакуоль, ЦС – цитосегресома, ЭПР – эндоплазматический ретикулум. Масштабная линия: а–г – 0,5 мкм; д – 2 мкм

пальме пятилетнего возраста (Weiner et al., 1996). Недавно получены данные о волокнах пальм, сохраняющих живой протопласт в течение пяти (Gritsch et al., 2004) или даже девяти лет (Gritsch, Murphy, 2005). Известно, что волокна бамбука сохраняют живой протопласт в течение нескольких вегетационных сезонов (Murphy, Alvin, 1997a, b; Liese, 1998). Такую продолжительность жизни волокон связывают с необходимостью длительного утолщения клеточной стенки, формирования ее многочисленных слоев. На основании теста на жизнеспособность клеток, используя в качестве маркера разрыв тонопласта, было показано, что отмирание ксилемных волокон *Populus* происхо-

дит синхронно по всей окружности стебля на расстоянии 650–1000 мкм от камбия (Courtois-Moreau, 2009). Интересно, что в древесине *Populus* даже после смерти волокон активность ферментов в их клеточной стенке может сохраняться. Так, обнаружена активность ксилоглюканэндогликозилазы в мертвых клетках желатинозных волокон гибридной осины (Nishikubo et al., 2007; Mellerowicz et al., 2008). Она локализуется в слое S2 вторичной клеточной стенки и может сохраняться в течение нескольких лет. Такая активность теоретически возможна, так как субстраты для реакции трансгликозилирования всегда присутствуют в клеточной стенке. Предполагается,

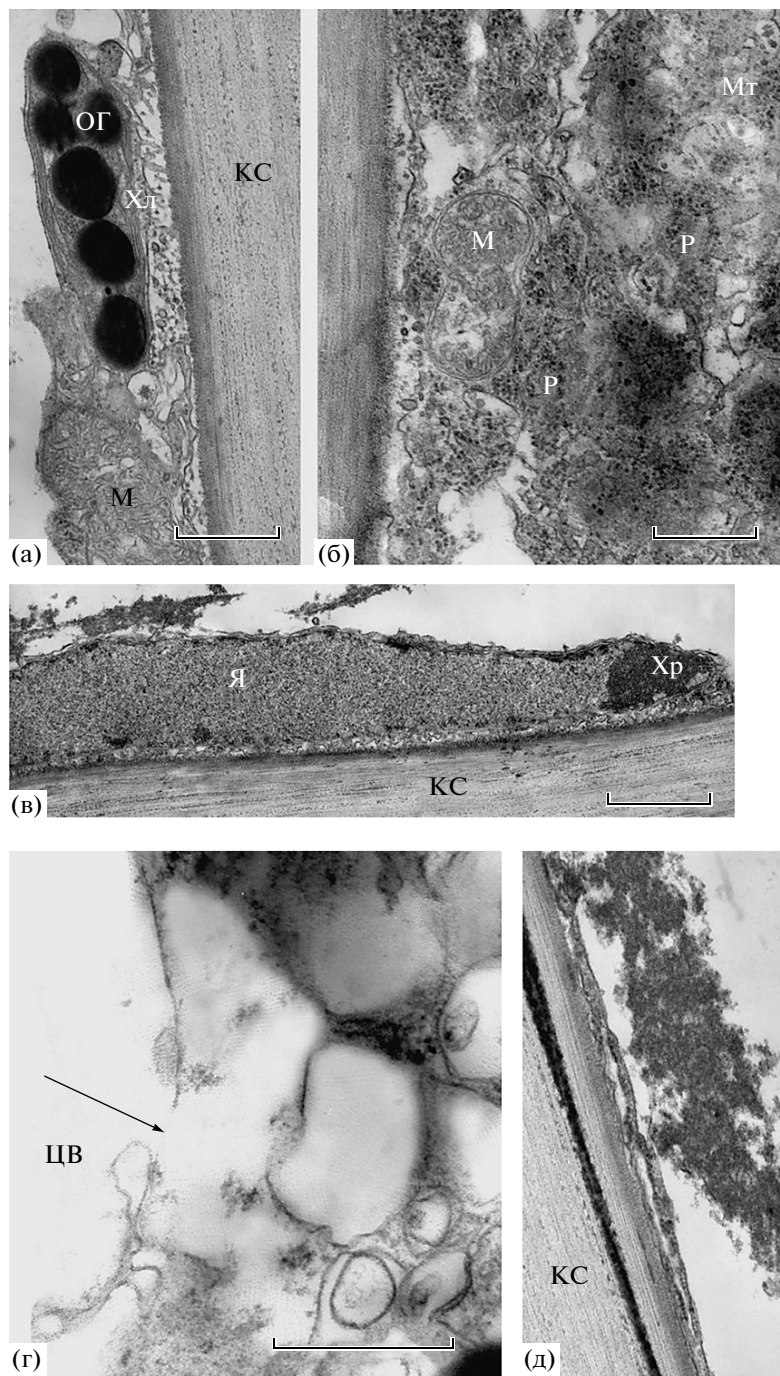


Рис. 3. Ультраструктура волокон льна в фазу полной спелости растения: а – хлоропласт с крупными осмиофильными глобулами и митохондрия; б – нативный участок цитоплазмы с микротрубочками и рибосомами; в – ядро; г – разрыв тонопласта (показан стрелкой); д – лизис цитоплазмы в том же волокне, что и на снимке (б) КС – вторичная клеточная стенка; М – митохондрия; Мт – микротрубочки; ОГ – осмиофильные глобулы; Р – рибосомы; Хл – хлоропласт; Хр – хроматин; ЦВ – центральная вакуоль; Я – ядро. Масштабная линия: 0.5 мкм.

что функция фермента после отмирания протопласта состоит в восстановлении поперечных сшивок, разрушенных при усыхании слоев, что позволяет поддерживать сцепление между желатинозным и прилегающим ксилановым слоем клеточной стенки волокна.

Отмирание протопласта в волокнах травянистых растений практически не было описано ранее. Отчасти это связано с тем, что использование методов электронной микроскопии для изучения развития растительных волокон всегда связано с некоторыми трудностями. Вследствие значитель-

ной длины этих клеток, достигающей нескольких сантиметров, при разрезании стебля перед процедурой фиксации происходит частичное вытекание цитоплазмы. Утолщенные клеточные стенки затрудняют фиксацию ткани, необходимую для анализа ультраструктуры клетки, особенно на поздних этапах развития волокон. Однако в последнее время появились модификации протокола подготовки образцов, в результате которых удается получать качественные снимки субклеточной организации волокон (Salnikov et al., 2008). В связи с этим, в дополнение к стандартным методикам, мы применили префиксацию крупных отрезков стебля, а также увеличили длительность фиксации и дегидратации.

Предпринятое нами исследование ультраструктуры флоэмных волокон льна на поздних стадиях развития не выявило картины полного исчезновения протопласта. Даже в растениях, отобранных для анализа в фазу полной спелости, в октябре, были обнаружены митохондрии и ядра, имеющие нативную структуру. Волокна оставались жизнеспособными до конца вегетационного сезона, то есть, пока было живо само растение. Этот феномен может быть связан с большой длиной волокна: даже нарушение целостности тонопласта не сразу приводит к гибели клетки, и отдаленные от места разрыва участки цитоплазмы продолжают функционировать. Тем не менее, в волокнах происходили процессы, характерные для старения и отмирания клетки.

В растениях различают три типа программируемой клеточной смерти, выделяемых на основании морфологических признаков (Fukuda, 2000).

1) Клеточная смерть по типу апоптоза, связанная со стрессом или процессом развития клетки и включающая быструю деградацию ядра и потерю клеточной организации. Она характеризуется образованием апоптозных телец, олигонуклеосомальной фрагментацией ДНК, конденсацией ядра и хроматина (Ванюшин, 2001; Fukuda, 2000; Reare et al., 2008).

2) Гибель клетки в процессе старения. Это очень медленный процесс, описанный при старении листьев (Smart, 1994), в ходе которого иногда даже наблюдается частичное восстановление клеточного содержимого. Цитоплазма постепенно деградирует в результате автофагии. Может происходить фрагментация ДНК ядра, но не на олигонуклеосомные фрагменты, как при апоптозе. Разрушение ядра и вакуоли происходит в последнюю очередь после полной деградации пластид (Smart, 1994; Fukuda, 2000).

3) Смерть клетки, инициируемая вакуолярной деградацией и происходящая под действием вакуолярных протеаз с промежуточной скоростью по сравнению с вышеупомянутыми типами. Такая программа клеточной смерти реализуется при

дифференциации трахеальных элементов, где центральную роль играет разрыв тонопласта, что приводит к быстрой деградации органелл и ядерной ДНК (Kuriyama, 1999; Obara et al., 2001).

Существуют немногочисленные работы, характеризующие старение и отмирание протопласта в растительных волокнах. В стареющих волокнах бамбука, в ходе их лигнификации, наблюдали плазмолиз, набухание и дезинтеграцию органелл и конденсацию хроматина. Наличие этих процессов исследователи считают показателем существования программируемой клеточной смерти в этих клетках (He et al., 2000). В волокнах ксилемы осины было показано, что на поздней стадии созревания цитоплазма постепенно становится менее плотной на вид, наблюдаются мелкие везикулы и расширение цистерн ЭПР (Courtois-Moreau et al., 2009). Отмечалась дезинтеграция ядра, однако олигонуклеосомальной фрагментации ДНК в ксилемных волокнах не наблюдали (Moreau et al., 2005).

При ультраструктурном исследовании волокон льна не были обнаружены признаки, характерные для апоптоза. Тем не менее, присутствие автолитических вакуолей в цитоплазме волокон, а также локальные разрывы тонопласта в фазу полной спелости растения (рис. 3а) указывают на происходящий процесс старения и отмирания клетки. Наши результаты позволяют говорить о постепенной деградации цитоплазмы флоэмных волокон льна, выражающейся в автофагии, что приводит к частичной потере клеточного содержимого. При автофагической гибели деятельность автолитических структур ведет к тому, что в клетке преобладают мембранные органеллы. Эти события происходят, например, при старении лепестков (van Doorn, Woltering, 2008).

В волокнах льна целостность вакуоли нарушалась лишь на самой поздней стадии, что исключает вакуолярный взрыв как пусковой механизм программируемой клеточной смерти в данном случае и указывает на существование у волокон иной, чем у трахеальных элементов, программы гибели клетки.

Подобную картину отмирания наблюдали в ксилемных волокнах гибридной осины (Courtois-Moreau, et al., 2009). Было показано, что программа клеточной смерти ксилемных волокон включает постепенную деградацию цитоплазмы, одновременно с активным отложением клеточной стенки, ядерная ДНК деградирует в течение длительного времени до полного разрушения. Авторы отмечают, что нарушение целостности вакуоли, с которого начинается деградация цитоплазмы сосудов и трахеид, у волокон ксилемы является поздним процессом, происходящим перед окончательным автолизом содержимого клетки. Типичных автофагосом в ксилемных воло-

нах осины не обнаружено, однако найдены гены, гомологичные связанным с автофагией генам *ATG8C*, *D*, *F* и *I* у резуховидки, экспрессия которых повышалась на поздних стадиях развития волокон (Courtois-Moreau et al., 2009). Авторы полагают, что активация механизма автофагии на транскрипционном уровне является уникальным свойством волокон, так как в дифференцирующихся сосудах и трахеидах не было обнаружено никаких связанных с этим процессом генов. Разрыв тонопласта рассматривается как момент смерти ксилемных волокон, затем происходит окончательный автолиз содержимого клетки.

Полученные нами данные свидетельствуют о длительном сохранении жизнеспособности волокон льна и существовании у них механизма, сходного с программой клеточной смерти в ксилемных волокнах, кардинально отличающейся от гибели протопласта в ксилемных сосудах.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Александров В.Г., Абесадзе К.Ю., Насонов В.А., Яковлев М.С. Принципы строения стебля лубо-волоконистых текстильных растений и методы его изучения // Тр. по прикладной ботанике, генетике и селекции. 1932. Т. 3. № 2. С. 49–74.
- Ванюшин Б.Ф. Апоптоз у растений // Успехи биологической химии. 2001. Т. 41. С. 3–38.
- Горшкова Т.А., Агеева М.В., Сальников В.В. и др. Стадии формирования лубяных волокон *Linum usitatissimum* L. // Ботан. журн. 2003. Т. 88. № 12. С. 1–11.
- Горшкова Т.А., Гурьянов О.П., Микшина П.В. и др. Особый тип вторичной клеточной стенки, формируемый растительными волокнами // Физиология растений. 2010. Т. 57. № 3. С. 328–341.
- Лотова Л.И. Морфология и анатомия высших растений. М.: Эдиториал УРСС, 2001. 526 с.
- Раздорский В.Ф. Анатомия растений. М.: Советская наука, 1949. 524 с.
- Рейвн П., Эверт Р., Айкхорн С. Современная ботаника. М.: Мир, 1990. Т. 1. С. 348.
- Самуилов В.Д. Программируемая клеточная смерть у растений // Соросовский образовательный журнал. 2001. Т. 7. № 10. С. 12–17.
- Снегирева А.В., Агеева М.В., Аменицкий С.И. и др. Удлинение волокон склеренхимы // Физиология растений. 2010. Т. 57. № 3. С. 361–375.
- Тутаюк В.Х. Анатомия и морфология растений. М.: Высшая школа, 1980. 317 с.
- Bowling A.J., Vaughn K.C. Immunocytochemical characterization of tension wood: gelatinous fibers contain more than just cellulose // Am. J. Botany. 2008. V. 95. № 6. P. 655–663.
- Courtois-Moreau C.L., Pesquet E., Sjödin A. et al. A unique program for cell death in xylem fibers of *Populus* stem // The Plant J. 2009. V. 58. № 2. P. 260–274.
- Esau K. Vascular differentiation in the vegetative shoot of *Linum*. III. The origin of bast fibers // Amer. J. Bot. 1943. V. 30. P. 579–586.
- Fahn A., Arnon N. The living wood fibres of *Tamarix aphylla* and the changes occurring in them in transition from sapwood to heartwood // New Phytol. 1962. V. 62. P. 99–104.
- Fahn A., Leshem B. Wood fibres with living protoplasts // New Phytol. 1963. V. 62. P. 91–98.
- Fukuda H. Programmed cell death of tracheary elements as a paradigm in plants // Plant Molec. Biol. 2000. V. 44. P. 245–253.
- Gorshkova T.A., Salnikov V.V., Chemikosova S.B. et al. Snap point: a transient point in *Linum usitatissimum* bast fiber development // Ind. Crops and Products. 2003. V. 18. P. 213–221.
- Gritsch C.S., Kleist G., Murphy R.J. Developmental changes in cell wall structure of phloem fibres of the bamboo *Dendrocalamus asper* // Ann. Bot. 2004. V. 94. № 4. P. 497–505.
- Gritsch C.S., Murphy R.J. Ultrastructure of fibre and parenchyma cell walls during early stages of culm development in *Dendrocalamus asper* // Ann. Bot. 2005. V. 95. P. 619–629.
- He X.-Q., Wang Y.-Q., Hu Y.-X. et al. Ultrastructural study of secondary wall formation in the stem fiber of *Phyllostachys pubescens* // Acta Bot. Sinica. 2000. V. 42. № 10. P. 1003–1008.
- His I., Andeme-Onzighi C., Morvan C. et al. Microscopical analysis of mature flax fibers embedded in LR White: immunogold localization of cell-wall matrix polysaccharides // J. Histochem. Cytochem. 2001. V. 49. P. 1525–1535.
- Kuriyama H. Loss of tonoplast integrity programmed in tracheary element differentiation // Plant Physiol. 1999. V. 121. P. 763–774.
- Liese W. The Anatomy of bamboo culms. Eindhoven: INBAR, 1998. 204 p.
- Mellerowicz E.J., Baucher M., Sundberg B. et al. Unravelling cell wall formation in the woody dicot stem // Plant Mol. Biol. 2001. V. 47. P. 329–274.
- Mellerowicz E.J., Immerzeel P., Hayashi T. Xyloglucan: The Molecular muscle of trees // Ann. Bot. 2008. V. 102. № 5. P. 659–665.
- Moreau C., Aksenov N., Lorenzo M.G. et al. A genomic approach to investigate developmental cell death in woody tissues of *Populus trees* // Genome Biol. 2005. V. 6. P. 34.
- Murphy R.J., Alvin K.L. Fibre maturation in bamboo // The bamboos / Ed. G. Chapman. London: Linnean Soc. Symp. Ser. Acad., 1997a. P. 293–303.
- Murphy R.J., Alvin K.L. Fibre maturation in the bamboo *Gigantochloa scortechinii* // IAWA Bull. 1997b. V. 18. P. 147–156.
- Nishikubo N., Awano T., Banasiak A. et al. Xyloglucan endo-transglycosylase (XET) functions in gelatinous layers of tension wood fibers in Poplar – A glimpse into the mechanism of the balancing act of trees // Plant Cell Physiol. 2007. V. 48. № 6. P. 843–855.
- Obara K., Kuriyama H., Fukuda H. Direct evidence of active and rapid nuclear degradation triggered by vacuole rupture during programmed cell death in *Zinnia* // Plant Physiol. 2001. V. 125. P. 615–626.

- Reape Th.J., Molony E.M., McCabe P.F.* Programmed cell death in plants: distinguishing between different modes // *J. Exper. Bot.* 2008. V. 59. P. 435–444.
- Reynolds E.S.* The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy // *J. Cell Biol.* 1963. V. 17. P. 208–213.
- Salnikov V.V., Ageeva M.V., Gorshkova T.A.* Homofusion of Golgi secretory vesicles in flax phloem fibers during formation of gelatinous secondary cell wall // *Protoplasma.* 2008. V. 233. P. 269–273.
- Smart C.M.* Gene expression during leaf senescence // *New Phytol.* 1994. V. 126. P. 419–448.
- van Doorn, W.G., Woltering E.J.* Physiology and molecular biology of petal senescence // *J. Exper. Bot.* 2008. V. 59. P. 453–480.
- Weiner G., Liese W., Schmitt U.* Cell wall thickness in fibres of the palms *Rhaphis excelsa* (Thunb.) Henry and *Calamus axillaris* Becc. // *Recent advances in wood anatomy* / Ed. L.A. Donaldson et al. Rotorua: New Zealand Forest Res. Inst., 1996. P. 191–197.

Senescence and Apoptosis of Protoplasts from Flax Fibers: an Ultrastructural Analysis

M. V. Ageeva, T. E. Chernova, and T. A. Gorshkova

*Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics, Kazan Scientific Center,
Russian Academy of Sciences, Kazan, 420111 Russia
e-mail: gorshkova@mail.knc.ru*

Abstract—Plant fibers represent specialized cells that perform a mechanical function. Their development includes the following phases, typical for the most plant cells: anlage, extension growth, specialization, senescence, and apoptosis. Ultrastructural analysis of these cells has been carried out at the late phases of their development (senescence and apoptosis) using flax phloem fibers, a classical object for the analysis of sclerenchyma fiber formation. The results of the performed analysis show that flax fiber protoplasts remain viable until the end of a vegetation season. The ultrastructural analysis of flax phloem fibers has not revealed any typical apoptosis manifestations. Gradual degradation of the cytoplasm starts during the active thickening of a secondary cell wall and manifests via the intensification of autolytic processes, causing a partial loss of cell content. The final stage represents the breaking of tonoplast integrity. The obtained data allow us to suppose that the apoptosis of flax fibers occurs during their senescence, and its program is similar to the cell death program realized in the xylem fibers of woody plants.

Keywords: sclerenchyma fibers, ultrastructure, programmed cell death, *Linum usitatissimum*.