

А. А. ШАХОВ, Б. М. ГОЛУБКОВА

**ИЗМЕНЕНИЕ МЕМБРАННОЙ СИСТЕМЫ ХЛОРОПЛАСТОВ
ПОД ВЛИЯНИЕМ УЛЬТРАФИОЛЕТОВЫХ ЛУЧЕЙ**

(Представлено академиком М. Х. Чайлаляном 3 XI 1969)

Данных об изменении мембранной системы хлоропластов под влиянием у.-ф. фотонов мало (1-4, 7). Для фотоэнергетики растений и эволюционной фитофизиологии представляют особый интерес факты использования энергии у.-ф. квантов мембранными системами клетки. Это важно в связи со способностью слабых доз у.-ф. лучей стимулировать синтез пигментов, находящихся на мембранах хлоропластов, и фотосинтез. Наличие в клетке и мембранах различных фоторецепторов у.-ф. фотонов определяет активность фотохимических реакций, индуцируемых этими лучами. Предполагается (5), что ферментативные системы, определяющие биосинтез тех или иных соединений, являются первичным местом действия у.-ф. лучей, ибо в молекулах ферментов есть хромофорные группы, сильно поглощающие коротко- и длинноволновые у.-ф. лучи.

Допускается (6), что у современных организмов, по-видимому, сохранились два рудимента у.-ф. этапа в становлении жизни: фотореактивация и стимулирующий эффект слабых доз у.-ф. радиации, вызванный запасанием энергии в макроэргических связях АТФ (эффект Паннамперумы). Однако даже при наличии фотореактивации высокоэнергетические у.-ф. кванты при длительном действии изменяют структуру хлоропластов. Поэтому необходимо выяснить, как изменяется мембранная система хлоропластов под влиянием у.-ф. радиации.

Для выявления изменений в мембранной системе хлоропластов мы совместно с С. Г. Нариняном провели вегетационные опыты в высокогорных условиях Армении (гора Арагац, 3200 м над у.м.), где при высокой естественной у.-ф. облученности растений происходит их фотореактивация. Работа велась с растениями редиса сорта Месячный. Для установления более заметных различий в реакции на у.-ф. излучение растения в дополнение к естественному у.-ф. излучению освещали лампами ПРК-2, в лучистом потоке которых содержатся, кроме сине-фиолетовых и зеленых лучей, у.-ф. лучи с $\lambda\lambda$: 253 м μ (180 эрг/см²·сек); 265 м μ (185 эрг/см²·сек); 302 м μ (269 эрг/см²·сек); 312 м μ (604 эрг/см²·сек); 365 м μ (1040 эрг/см²·сек). При наличии такого широкого спектра у.-ф. излучения возможность фотореактивации достаточно велика. Общая мощность у.-ф. излучения (280—340 м μ) над опытными растениями была 1700 эрг/см². Растения выращивали в сосудах, как описано в (4). Искусственное у.-ф. облучение проводили в 10—11 час. утра в течение августа. Растения находились под полиэтиленовой пленкой, пропускавшей у.-ф. лучи солнца и защищавшей их от ветра и града. Способ фиксации образцов приведен в (4). Срезы делали на микротоме LKB-4800 и исследовали в электронном микроскопе JEM-5g.

Изучение электронномикроскопических препаратов показало, что в листьях контрольных растений находятся округлые, овальные и удлиненные хлоропласты, окруженные двуслойной мембраной. Мембранная система погружена в плотный зернистый матрикс и может располагаться как

вдоль пластиды, так и по овалу хлоропласта. Она представлена гранами из 3—5 тилакоидов и межгранными ламеллами, между которыми встречаются липидные осмофильные глобулы (липосомы). Примерно половина площади хлоропласта занята зернистым матриксом и свободна от мембран (рис. 1А, см. вкл. к стр. 197).

В листьях опытных растений редиса после у.-ф. облучения в течение месяца по 10 мин. в день обнаруживаются три группы хлоропластов.

Первая группа — хлоропласты, сохранившие нормальную форму и структуру (рис. 1В). Это, по-видимому, основная группа, в которой нарушения мембран невелики и хлоропласты, благодаря фотореактивации, не очень сильно отличаются от контрольных. В них граны состоят из 3—4 тилакоидов и соединены межгранными ламеллами. В матриксе содержатся липосомы и крахмальные зерна.

Вторая группа хлоропластов характеризуется явным поражением белкового матрикса, который теряет зернистость, образуя «глыбки» и бесструктурные участки. Мембранная система сохраняет четкие граны и межгранные ламеллы, но принимает чашевидную форму, сдвигаясь к одной стороне пластиды. Такие хлоропласты описаны нами ранее (2, 4).

Третья группа хлоропластов имеет слабо развитую мембранную систему с сильно просветленным матриксом. Следовательно, изменения хлоропластов начинаются с нарушения белкового синтеза в матриксе, где локализованы нуклеиновые кислоты, легко поражаемые у.-ф. квантами. В результате измененного нуклеиново-белково-липидного обмена развивается процесс липоидной глобуляции. Параллельно или вслед за этим у части хлоропластов, находящихся, вероятно, в верхних клетках столчатой паренхимы, происходит изгиб мембранной системы в направлении падающих у.-ф. лучей. Это своеобразная реакция «уклонения» мембран от у.-ф. фотонов благодаря конформации мембран, обусловленной контрактивными белками.

Увеличение дозы у.-ф. облучения усиливает разнообразие повреждений и поражаемость мембран. В результате у.-ф. облучения в течение месяца по 20 мин. в день в листьях редиса обнаруживаются хлоропласты, находящиеся в самом различном состоянии: от сохранивших более или менее нормальную структуру до полностью разрушенных. Здесь можно проследить все стадии постепенного разрушения хлоропластов, происшедшие под влиянием длительного у.-ф. облучения. Так, наблюдаются хлоропласты овальной формы с четко выраженной мембранной системой в виде лент, идущих вдоль хлоропласта. Граны их состоят из 3—5 коротких тилакоидов и соединены между собой межгранными ламеллами, но матрикс не имеет равномерной зернистости. Ламеллы раздвинуты увеличенными в размере липоидными глобулами. Есть хлоропласты с концентрически расположенной мембранной системой, сохранившие граны из 2—5 тилакоидов и межгранные ламеллы, между которыми одиночно или группами располагаются крупные липосомы. Матрикс в таких хлоропластах разрушен, лишь кое-где можно видеть его остатки. Встречаются группы хлоропластов с мембранной системой чашевидной формы, в которых липоидные глобулы с более темной окантовкой в виде оболочки четко вырисовываются в просветленном и разрушающемся матриксе (рис. 1В). Можно видеть хлоропласты, в которых мембранная система представлена в виде редких одиночных гран из 2—3 тилакоидов и удлинённых межгранных ламелл. Появляются признаки нарушения мембран, которые теряют четкие очертания, как бы растворяясь и распадаясь на компоненты. Хлоропласты постепенно утрачивают граны, между ними нарушается связь, в результате чего остаются пластиды, состоящие из большого количества отграниченных полостей и липоидных глобул (липосом). По-видимому, эти полости образованы оставшимися одиночными тилакоидами или сближенными мембранами и представляют почти предельно редуцированную мембранную систему (рис. 1Г).

Таким образом, дополнительное к естественному у.-ф. облучению растений редиса в горных условиях вызывает прежде всего изменения матрикса

хлоропластов, равномерная зернистость которого сменяется «глыбчатыми» образованиями и затем их разрушением. Мембранная система, более устойчивая к у.-ф. излучению, чем матрикс, в основном сохраняется при дополнительном облучении по 10 мин. в день, хотя и претерпевает при этом некоторую деформацию. При 20-минутном же дополнительном облучении хлоропласты постепенно деградируют: уничтожается матрикс, разрушаются ламеллы, исчезают грани, появляются крупные липоидные глобулы. В результате этого хлоропласт превращается в образования с множеством бесструктурных полостей и больших липосом. Поэтому большой интерес представляет усиленное образование липоидных глобул — лабильной субъединицы хлоропластов, содержащей липиды, хиноны, пигменты. Состав и возможные функции липосом рассмотрены отдельно (8).

Литературные данные могут дать некоторое представление о причинах и механизме отмеченных изменений мембранной системы. Молекулярные основы такого повреждения клеток связывают с изменениями нуклеиновых кислот, димеризацией тимина, гидратацией оснований, образованием спинов (9-15). Однако для процессов в мембранах, по-видимому, не меньшее значение должны иметь фотофизические и фотохимические процессы в фоторецепторах мембран. В белках — одном из основных акцепторов у.-ф. фотонов — поглощение их осуществляется триптофаном, происходит внутримолекулярное перераспределение поглощенной энергии, ее консервация и межмолекулярный перенос (16). Предполагается, что консервация поглощенной энергии происходит в результате захвата определенными компонентами белковых структур фотовозбужденного электрона триптофана, что и приводит к образованию богатых энергией продуктов. Действие у.-ф. лучей на белки вызывает фотолит пептидных связей, диссоциацию (17), образование неспаренных электронов. Последние возникают также в пептидах после облучения ультрафиолетом разной длины волны (18).

Одним из важных соединений, ответственных за ингибирование у.-ф. лучами фотосинтетических процессов, является пластохинон, количество которого в хлоропластах под влиянием облучения уменьшается (19, 20). Поскольку хиноны локализованы в мембранах, при разрушении последних часть пластохинона переходит в липосомы, что повышает фотохимическую активность последних и возможность использования ими света (2). Это, вероятно, приводит при реактивации к отмеченному в (21) повышению фотофосфорилирования у гороха. Отмечено ингибирование второй фотореакции (24).

Конформационные изменения мембран могут зависеть от длины волны у.-ф. излучения. Было показано, что на внутреннюю поверхность мембран в волокнах нерва краба больше влияют у.-ф. лучи с λ 255 м μ , а на внешнюю — с λ 285 м μ (22). Конформационные изменения молекул дезоксирибонуклеопротеида в монослое под влиянием коротковолновых у.-ф. лучей приводят к значительному увеличению проницаемости нуклеопротеидной мембраны (23).

Влияние у.-ф. облучения на мембранные системы имеет значение для разработки проблем мембранной биологии, вскрывая один из механизмов действия у.-ф. фотонов на клетку.

Институт физиологии растений им. К. А. Тимирязева
Академии наук СССР
Москва

Поступило
25 X 1969

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ А. А. Шахов, Сборн. Хлоропласты и митохондрии, «Наука», 1969, стр. 7.
² А. А. Шахов, Электронная обработка матер., № 4, 46 (1965). ³ А. А. Шахов, Б. М. Голубкова, С. В. Шищенко, ДАН, 174, 1439 (1967). ⁴ А. А. Шахов, Б. М. Голубкова, Изв. АН СССР, сер. биол., № 1, 45 (1968). ⁵ А. П. Дубров, Генетические и физиологические эффекты действия ультрафиолетовой радиации на

высшие растения, «Наука», 1968. ⁶ М. М. Камшилов, Сборн. Абиогенез и начальн. стадии жизни, «Наука», 1968, стр. 119. ⁷ М. П. Селга, С. В. Тагеева, Изв. АН Латв ССР, № 8, 92 (1967). ⁸ А. А. Шахов, Сборн. Хлоропласты и митохондрии, «Наука», 1969, стр. 43. ⁹ Г. В. Завильгельский, Сборн. Молекулярная биофизика, «Наука», 1965, стр. 137. ¹⁰ В. П. Парибок, Цитология, **9**, 1449 (1967). ¹¹ К. А. Самойлов, Действие ультрафиолетовой радиации на клетку, «Наука», 1967. ¹² R. B. Setlow, Progr. in Nucleic Acid Res. and Molecular Biol., **8**, 257 (1968). ¹³ A. Kleczkowski, D. A. Govier, Photochem. Photobiol., **10**, 53 (1969). ¹⁴ A. A. Lamola, J. Fisinger, Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A., **59**, 46 (1968). ¹⁵ W. Szybaslki, Rad. Res., suppl. **7**, 147 (1967). ¹⁶ С. В. Конев, Е. А. Черницкий и др., Сборн. Ультрафиолетовое излучение, № 4, М., 1966. ¹⁷ K. Dose, L. Sena, Photochem. Photobiol., **7**, 59 (1968). ¹⁸ A. Meybeck, J. J. Windle, Photochem. Photobiol., **10**, 1 (1969). ¹⁹ A. Trebst, E. Pistorius, Zs. Naturforsch., **20b**, 885 (1965). ²⁰ К. Е. Mantai, N. I. Bishop, Biochim. et biophys. acta, **131**, 350 (1967). ²¹ М. М. Якубова, Г. П. Лебедева, Тез. докл. совещ. Фотосинтез и использо. энергии солнечн. радиации, Душанбе, 1967, стр. 76. ²² E. M. Lieberman, Exp. Cell Res., **47**, 508 (1967). ²³ А. М. Тонгур, А. Г. Пасынский, Радиобиология, **7**, 7 (1967). ²⁴ А. Н. Никитина, Изв. АН ТаджССР, № 2, 54 (1969).