

А. И. ШИРЯЕВ, Т. А. РЕЙНГАРД, А. И. ПОЛИЩУК,
Л. К. ОСТРОВСКАЯ

СУБМИКРОСКОПИЧЕСКАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ТИЛАКОИДОВ СТРОМЫ ХЛОРОПЛАСТОВ ГОРОХА

(Представлено академиком А. Л. Курсановым 26 VII 1971)

В результате исследования субмикроскопической организации хлоропластов различных растений возникли различные представления о ламеллярной системе фотосинтетического аппарата. В результате предложено большое количество схем архитектоники мембранной системы хлоропластов (¹⁻¹⁰). Такое многообразие объясняется тем, что по ультратонким срезам методом электронной микроскопии без привлечения других способов исследования нельзя дать истинной картины строения хлоропластов.

Нами применены некоторые способы фрагментирования хлоропластов (обработка дигитонином, ультразвуком, высоким давлением, с последующим дифференциальным центрифугированием) и последующий анализ фрагментов при помощи негативного контрастирования фосфорновольфрамовой кислотой. Ряд авторов, пользовавшихся этим методом, показали, что получаемые фракции обычно состоят из тилакоидов гран, представляющих собой округлые образования диаметром около 0,5 мк, их фрагментов и, по-видимому, фрагментов тилакоидов стромы (¹¹⁻¹³).

При попытке выделить ламеллы (тилакоиды) стромы, выяснилось, что в процессе фрагментирования хлоропластов эти мембраны полностью разрушаются, тогда как граны сохраняют форму пачек или встречаются в виде отдельных тилакоидов (дисков). Фрей-Висслинг писал, что «стопки гран можно легко выделить, а тилакоиды стромы выделить нельзя» (¹⁴). Последнее же позволило бы исследовать их субмикроскопическую и молекулярную организацию, биологический состав и фотохимическую активность и таким образом выяснить, отличаются ли ламеллы стромы от ламелл гран.

Подобрав необходимый режим фрагментации изолированных хлоропластов, нам удалось выделить тилакоиды стромы, которые кардинальным образом отличались как по форме, так и по размерам от тилакоидов гран. Изолированные хлоропласты листьев гороха (¹⁵) фрагментировали путем настаивания в течение 15 мин. в буфере с 0,3% дигитонином в присутствии 0,002 М ЭДТА и 0,01 М аскорбата натрия при 0°, без обычного в таких случаях перемешивания. Полученные фрагменты фракционировали с помощью дифференциального центрифугирования при 1,3 (Ф1,3), 20 (Ф20), 50 (Ф50), 100 (Ф100), 145 (Ф145) тыс. g, соответственно 15, 30, 30, 30, 60 мин.

Несколько меньший выход ламелл стромы был получен при фрагментации хлоропластов гороха с помощью метода Хьюджеса (¹⁶).

Перед обработкой выделенных хлоропластов (¹⁵) давлением их однократно замораживали небольшими порциями в атмосфере жидкого азота. Применяемое давление было около 200 атм. Диаметр отверстия, через которое продавливались хлоропласты, равнялся 1,5 мм. Исследовались фракции Ф1,3, Ф20, Ф100 и Ф145. Ламеллы стромы наблюдались в первых трех фракциях, максимальное их количество отмечено во фракции Ф20.

Типичный тилакоид грани представлен на рис. 1а. Тилакоиды, выделенные с помощью высокого давления, содержат на своей поверхности частицы сопрягающего фактора (100 Å в диаметре), свойственные энергетическим мембранам. При фрагментации хлоропластов дигитонином в присутствии ЭДТА нами не отмечены на тилакоидах эти частицы, но обычно наблюдаются более мелкие частицы (субъединицы 40—60 Å), по-видимому составляющие матрикс ламелл. Частицы, подобные последним, продемонстрированы нами ранее в мембранах гран, которые исследовались на ультратонких срезах (¹²).

Форма и размеры тилакоидов стромы несколько варьируют (рис. 1б, в, г, д). Наблюдаемые тилакоиды стромы можно подразделить по этим признакам на три типа. Одни овальные и широкие (с длинной осью порядка 1,5—2,5 м и короткой 0,3—0,5 м, — рис. 1в). Другие вытянутые, по относительно узкие, иногда несколько причудливой формы (рис. 1г). Длина этих ламелл бывает до 2 м, а ширина может меняться вдоль тела тилакоида, колеблясь между 1000 и 2000 Å. Третий тип ламелл стромы представляет собой более крупное образование со сложной конфигурацией, несущее на себе гранальные тилакоиды.

Узкие тилакоиды стромы могут выделяться либо в виде одиночных образований, либо в сочетании друг с другом, плотно упакованные в многоэтажные образования. В этом случае они напоминают грани. Этот факт может объяснять картины, наблюдаемые при исследовании ультратонких срезов хлоропластов. На больших овальных тилакоидах обычно располагаются либо более мелкие круглые тилакоиды (возможно, тилакоиды гран), либо узкие тилакоиды (рис. 1в). При этом и в первом, и во втором случае тилакоиды плотно упаковываются и не выходят за границы овальных тилакоидов, что, по-видимому, говорит об их нативном состоянии, а не является следствием контактирования в процессе фрагментации и разделения.

Необходимо отметить, что иногда выделяется агрегат, состоящий из двух круглых тилакоидов, диаметр которых около 0,5 м, с сохранившимся между ними мостиком (либо длинным, 0,6—0,8 м, либо коротким, 0,2 м). Последняя картина, по-видимому, соответствует схемам (³, ⁴, ⁹). Ламеллярное образование, соединяющее два гранальных тилакоида, авторы называли соответственно мостиком, фретом и трубочкой.

При выделении ламелл стромы действием на замороженные хлоропласты высоким давлением наблюдались структурные образования первого и второго типов. На рис. 1д представлена типичная картина. Ширина ламелл меняется вдоль длинной оси, в одном месте отмечается круговое расширение, напоминающее тилакоид грани. Поверхность мембран при таком выделении обычно покрыта частицами сопрягающего фактора (около 100 Å в диаметре).

Так как одним из основных компонентов частиц сопрягающего фактора является АТФаза и с ее участием связан процесс фотофосфорилирования, может быть сделан вывод, что тилакоиды стромы, несущие на своей поверхности эти частицы, способны трансформировать энергию. Действительно, в Ф20, получаемой из хлоропластов, обработанных давлением, удается иногда обнаружить более высокую активность фотофосфорилирования с ФМС, чем это обычно наблюдается после фрагментирования дигитонином в присутствии ЭДТА, так как в последнем случае снимаются с поверхности мембран частицы сопрягающего фактора.

Несмотря на некоторое разнообразие формы и размеров тилакоидов стромы, всех их объединяет общее отличие от типичных тилакоидов гран. Если гранальные тилакоиды представляют собой круглые образования, диаметр которых может меняться от 0,25 до 0,6 м, то ламеллы стромы образуют тилакоиды, наблюдаемые в виде вытянутых вдоль длинной оси сравнительно широких (0,3—0,5 м) или относительно узких (0,1—0,2 м) мембранных образований.

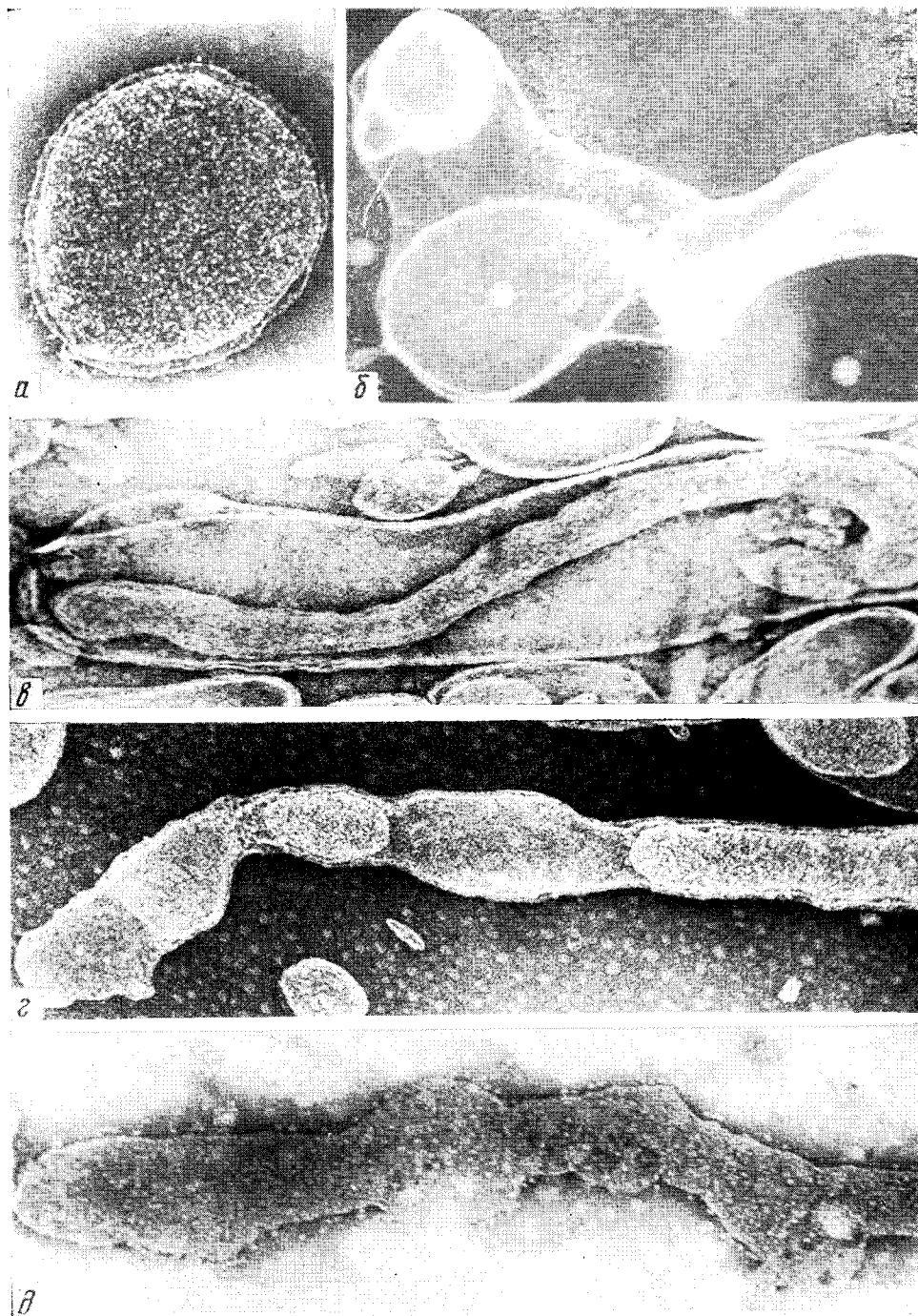


Рис. 1. *а* — ультраструктура изолированных тилакоидов граны. Видны расположенные на их поверхности частицы сопрягающего фактора, 88 200 $\times$; *б* — *в* — форма тилакоидов стромы, наблюдаемая при выделении их из хлоропластов с помощью инкубации в среде 0,3% дигитонина и 0,002 *М* ЭДТА: *б* — 78 000 $\times$, *в* — 82 800 $\times$, *г* — 83 400 $\times$; *д* — ультраструктура изолированного тилакоида стромы, видны расположенные на их поверхности частицы сопрягающего фактора, 11 3400 $\times$. Для *а* и *д* — выделение тилакоидов произведено после обработки хлоропластов высоким давлением. Негативное контрастирование 2% ФБР, рН 7,15, JEM-7 А

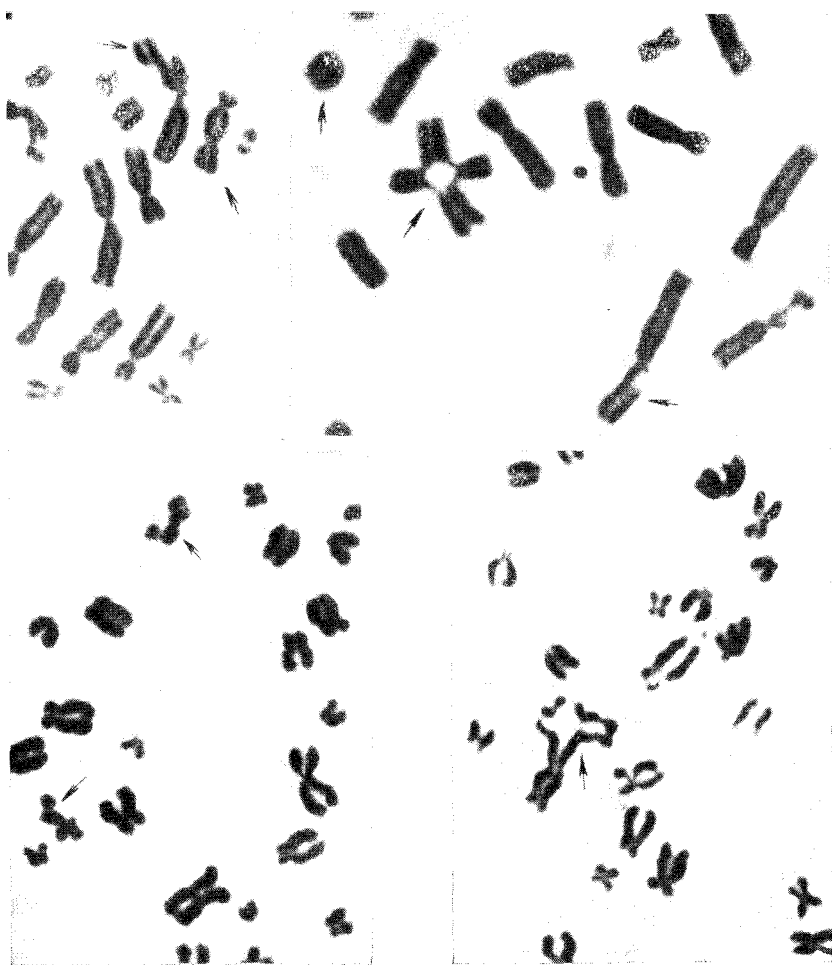


Рис. 2. Типы встречаемых перестроек хромосом при облучении промежуточными нейтронами лимфоцитов крови человека. Слева направо: сверху — дицентрик, перевернутая делеция и хроматидная симметричная транслокация, хроматидная делеция, центрическое кольцо; внизу — смещенные хроматидные делеции и сложная абберрация (сочетание хроматидного и хромосомного обменов)

Следует отметить, что частицы сопрягающего фактора, располагающиеся на поверхности как тилакоидов гран, так и тилакоидов стромы, имеют одинаковые размеры (порядка 100 Å в диаметре).

Наши данные позволили считать, что тилаконды стромы не являются только морфологическим элементом, поддерживающим и связывающим граны, а участвуют в фотохимических реакциях. В таком случае тилаконды гран и стромы следует рассматривать в качестве равноправных членов фотосинтетического аппарата. Модели мембранной системы хлоропластов должны быть усложнены, исходя из размеров и разнообразия конфигурации ламелл стромы.

Институт физиологии растений
Академии наук УССР
Киев

Поступило
26 VII 1971

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ E. Steinmann, F. S. Sjöstrand, *Exp. Cell. Res.*, **8**, 1, 45 (1955). ² D. von Wettstein, *Exp. Cell. Res.*, **12**, 3, 427 (1957). ³ K. Mühlethaler, *Zs. wiss. Mikrosk.*, **64**, 8 (1960). ⁴ T. E. Weier, *Am. J. Bot.*, **48**, 7, 645 (1961). ⁵ W. Wehrmeyer, *Zs. Naturforsch.*, **18b**, 1, 60 (1963). ⁶ W. Menke, *Ann. Rev. Plant. Physiol.*, **13**, 27 (1962). ⁷ J. Heslop-Harrison, *Planta*, **60**, 243 (1963). ⁸ А. Ходж, В кн.: *Соврем. пробл. биофизики*, **2**, ИЛ, 1963. ⁹ А. М. Силаева, В сборн.: *Цитология и генетика*, Киев, 1965. ¹⁰ И. Н. Кислюк, В. Ф. Машапский, *Бот. журн.*, **50**, 10, 384 (1965). ¹¹ K. Mühlethaler, H. Moor, J. W. Szarkowski, *Planta*, **67**, 4, 305 (1965). ¹² Л. К. Островская, А. М. Силаева и др., В кн.: *Хлоропласты и митохондрии*, «Наука», 1969. ¹³ А. Фрей-Висслинг, К. Мюлеталер, *Ультраструктура растительной клетки*, 1968. ¹⁴ А. Фрей-Висслинг, В кн.: *Функциональная биохимия клеточных структур*, «Наука», 1970. ¹⁵ Т. А. Рейнгард, О. И. Воловик, А. И. Полищук, *Физiol. и биохим. культурных раст.*, **1**, 2, 134 (1969). ¹⁶ D. E. Hughes, *Brit. J. Exp. Pathol.*, **32**, 97 (1951).