

БИОФИЗИКА И МИКРОЭЛЕМЕНТЫ

ВЛИЯНИЕ ИОНОВ МЕДИ И ЦИНКА НА СТРУКТУРУ ТИЛАКОИДНЫХ МЕМБРАН ИЗОЛИРОВАННЫХ ХЛОРОПЛАСТОВ ШПИНАТА

Водка М.В., Полищук А.В., Семенихин А.В., Белявская Н.А.

*Институт ботаники им. Холодного Н.Г., Киев, Украина,
membrana@ukr.net*

Микроколичества ионов некоторых тяжелых металлов (Me^{2+}) необходимы для роста и развития растений. В частности, ионы меди и цинка участвуют в формировании фотосинтетического аппарата: медь входит в состав переносчика электронов пластоцианина, а цинк – супероксид-дисмутазы и карбоангидразы. Однако при повышенном содержании этих металлов в воде или почве многие физиологические процессы в растениях повреждаются, нарушаются транспортные функции, в различных органах растения отмечаются деструктивные процессы, связанные с окислительным стрессом [1], регистрируются также ультраструктурные изменения мембранной системы хлоропластов [2]. Поскольку растения способны накапливать ионы металлов в клеточных оболочках и вакуолях клеток разных тканей и органов, значительная часть Me^{2+} исключается из активного метаболизма, а их концентрация в различных клеточных компартментах может отличаться на несколько порядков. В этой связи интерпретация физиологических и структурных изменений в органеллах листа растений, выросших при повышенном содержании Me^{2+} в почве, требует уточняющих исследований, поскольку причиной наблюдаемых эффектов может быть как возрастание концентрации Me^{2+} в листе, так и обезвоживание или окислительное повреждение растения в целом.

Целью работы было изучение влияния ионов Cu^{2+} и Zn^{2+} на мембранную систему изолированных хлоропластов шпината.

Хлоропласты выделяли из гомогената свежих листьев шпината с помощью комбинации дифференциального и градиентного центрифугирования. Суспензию хлоропластов класса «С», содержащую 2 мг хлорофилла в мл, инкубировали в течение 20 мин в присутствии 100 мкМ $Cu(NO_3)_2$ или 200 $Zn(NO_3)_2$. Структурные характеристики системы тилакоидных мембран изучали методом трансмиссионной электронной микроскопии.

На рисунке 1а показаны фрагменты отдельных хлоропластов из листьев контрольных растений, содержащие граны, тилакоиды стромы и

пластоглобулы. Тилакоиды гран плотно упакованы и равномерно распределены в стопках (рис.1 б).

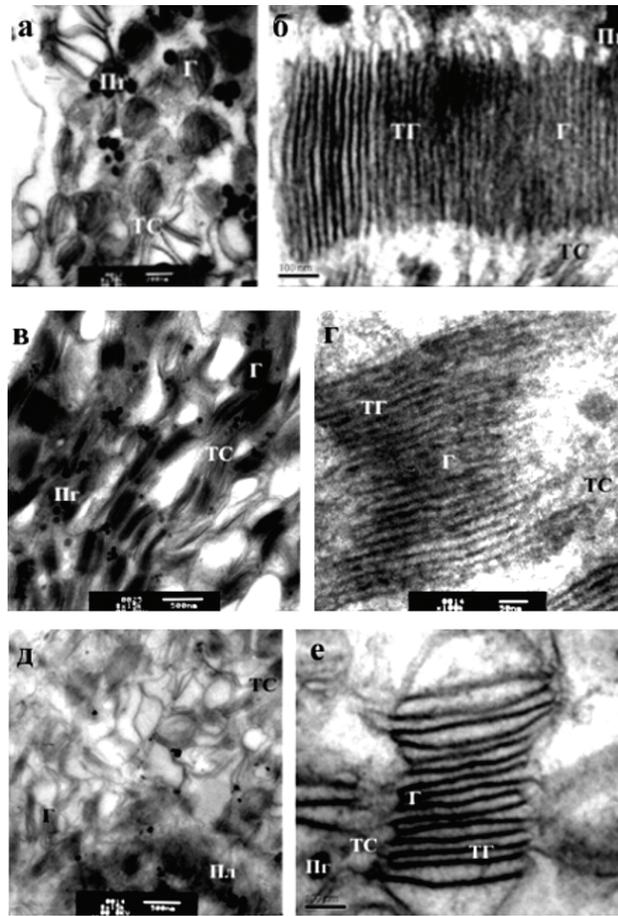


Рисунок 1 – Фрагменты хлоропластов и тилакоиды гран: а, б – контроль (ув. $\times 30\ 000$, $\times 100\ 000$); в, г – Cu^{2+} ($\times 15\ 000$, $\times 100\ 000$); д, е – Zn^{2+} ($\times 15\ 000$, $\times 100\ 000$); сокращения: Г – грана, ТГ – тилакоиды граны, Пг – пластоглобулы, ТС – тилакоиды стромы

Под действием ионов Cu^{2+} общая структура гран и равномерная упаковка тилакоидов в гранах сохранялась, (рис. 1 в, г). По сравнению с контрольными образцами в обработанных ионами Cu^{2+} препаратах увеличивалась толщина тилакоидов гран и межтилакоидных промежутков (табл. 1).

После обработки препаратов хлоропластов ионами цинка наблюдались значительные нарушения пространственной структуры мембранной системы хлоропластов. Упаковка тилакоидов в гранах теряла однородность, межтилакоидные промежутки резко расширялись, особенно в центральной зоне гран (рис. 1 д, е). Структура гран удерживалась за счет взаимодействия тер-

минальных участков их тилакоидов. Количественные данные о ширине тилакоидов и промежутках между ними приведены в табл. 1.

Таблица 1 – Влияние ионов меди и цинка на структуру тилакоидов гран

Вариант	Толщина тилакоидов гран, нм	Ширина промежутков, нм
контроль	7,46±0,22 ^a	11,52±0,65 ^a
Cu ²⁺	8,58±0,16 ^b	10,64±0,24 ^a
Zn ²⁺	10,14±0,21 ^b	15,45±0,94 ^b

Примечание. Разными буквами, в пределах одной графы, обозначена разница значений с уровнем вероятности $P \leq 0,05$.

Имеющиеся данные по влиянию Cu²⁺ и Zn²⁺ на уровне фотосинтетической электрон-транспортной цепи (ЭТЦ) свидетельствуют, что наиболее уязвимым её участком является фотосистема II (ФСII). В частности, ионы Cu²⁺ и Zn²⁺ могут связываться в области Fe²⁺-сайта между Q_A и Q_B, вызывая смещение негемового железа, регистрируемое как исчезновение ЭПР сигнала, принадлежащего Q_A⁻-Fe²⁺ в частицах ФСII, не содержащих марганца [3]. Модификации акцепторной стороны ФСII под влиянием ионов тяжелых металлов подтверждаются также методами релаксации флуоресценции хлорофилла и определения относительного содержания Q_B-невосстанавливающих реакционных центров ФСII. Результаты настоящей работы позволяют предполагать, что наблюдаемое ранее изменение кинетических характеристик фотохимических процессов в хлоропластах в присутствии ионов Cu²⁺ и Zn²⁺ могут быть следствием структурных перестроек их мембранной системы.

Литература

1. Hall J.L. Cellular Mechanisms for Heavy Metal Detoxification and Tolerance // J. Exp. Bot. – 2002. – V. 53. – P. 1-11.
2. Nakmaoui A., Atera M., Boka K., Baron M. Copper and Cadmium Tolerance, Uptake and Effect on Chloroplast Ultrastructure // Z. Naturforsch. – 2007. – Vol. 62c. – P. 417-426.
3. Jegerschöld C., MacMillan F., Lubitz W., and Rutherford A. W. Effects of copper and zinc ions on photosystem II studied by EPR spectroscopy // Biochemistry. – 1999. – Vol. 38, No 38. – P. 12439–12445.