

СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНІ ЗМІНИ КЛІТИН МЕЗОФІЛУ 12-ДОБОВИХ КЛІНОСТАТОВАНИХ ПАРОСТКІВ ГОРОХУ

© Н. І. Адамчук, Р. М. Фомішина, Н. Ф. Михайленко, О. К. Золотарьова

Інститут ботаніки ім. М. Г. Холодного НАН України, Київ

Проведено аналіз структури клітин мезофілу і стану фотосинтетичних мембран справжніх листків 12-денних паростків гороху, вирощених на повільному горизонтальному кліностаті, у порівнянні з таким у вертикальному контролі. Дані обговорюються у зв'язку із кореляцією змін структури хлоропластів та змістом хлорофілів і каротиноїдів, а також полярних ліпідів як у хлоропластах, так і у листках гороху, проаналізованих у межах даної роботи.

ВСТУП

Відомо, що мікрогравітація може викликати структурні порушення фотосинтетичного апарату [9]. Умови космічного польоту викликали зміни як вмісту пігментів, так і ультраструктури хлоропластів у рослинах гороху [2, 6, 10]. Також було показано, що склад ліпідів у листках пшениці змінюється в умовах мікрогравітації [4]. Проте наявні дані є суперечливими й отримані на різних видах. Метою даної роботи було дослідження ультраструктурних змін хлоропластів, пігментного і ліпідного складу листків і хлоропластів рослин гороху, вирощеного в умовах кліностатування.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Насіння гороху (*Pisum sativum* L.) було замочено в дистильованій воді на 24 год в інкубаторі при 25 °С. Паростки вирощували в скляних емкостях у фільтрувальному папері. Норма поливу кожного паростка — 1 мл двічі на добу. Рослини вирощували протягом 12 діб на повільному горизонтальному кліностаті (2 об/хв) і вертикально нерухомо (контроль) при температурі 22—24 °С і освітленні ($143 \text{ моль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$) з тривалістю світлового періоду 16 год.

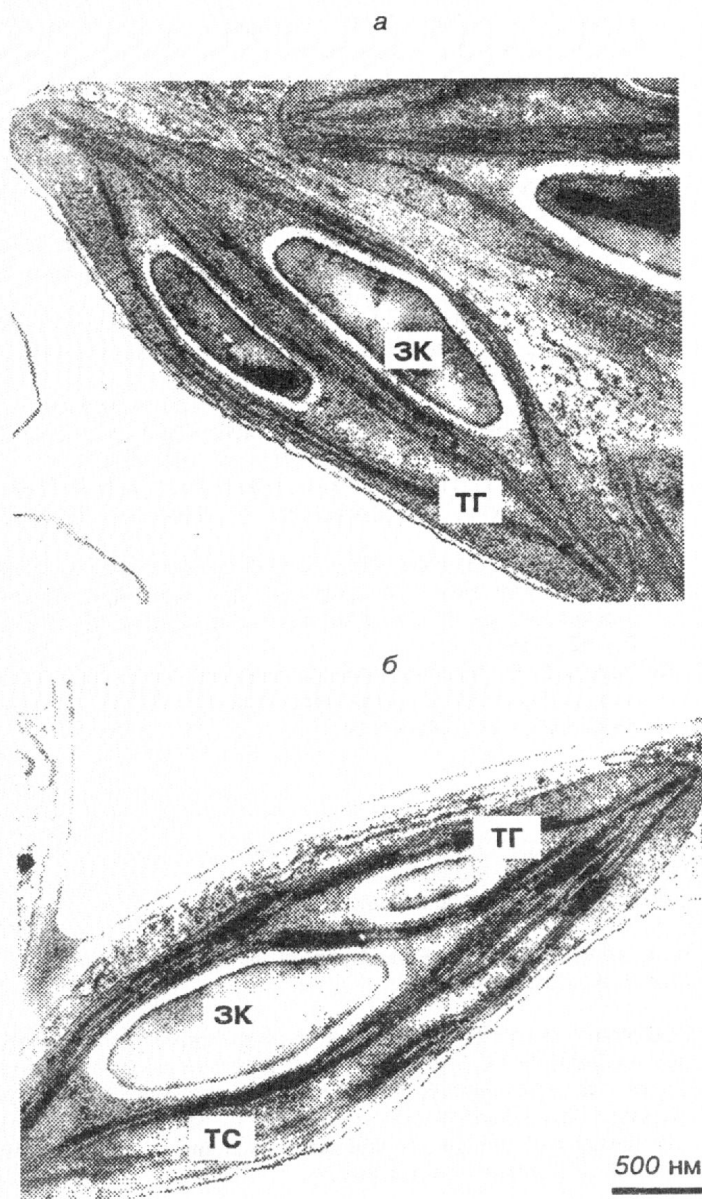
Для структурного аналізу відбирали третю пару листків. Зразки префіксували 2.5 % глутаральдегідом у 0.1М фосфатному буфері (рН 7.2) протягом 1.5 год при кімнатній температурі, далі дофіксували в 1 %-му OsO_4 на тому ж буфері протягом 2.5 год. Зразки зневоднювали в серії розчинів етанолу й ацетону висхідної концентрації і полі-

меризували в суміші епон — аральдіт. Зрізи робили на ультрамікромомі LKB, забарвлювали 0.2 % водним розчином цитрату свинцю протягом 5 хв і вивчали в електронному мікроскопі JEM 1200-EX.

Порівняльний аналіз кількісних і якісних характеристик клітин мезофілу і хлоропластів був проведений за методами Силаєвої і Силаєва [5] і Васильєва і Муравніка [1] з використанням стандартної програми статистичної обробки STAT. Вміст хлорофілів а і b визначали за методом Вернона [13]. Ліпіди екстрагували з матеріалу, фіксованого ізопропанолом, за методом Блайя і Дайєра [7]. Кількість загальних фосфоліпідів визначали за вмістом неорганічного фосфату після мінералізації сухого ліпідного залишку з хлорною кислотою [3]. Кількість загальних гліколіпідів визначали по вмісту моносахаридів після кислотного гідролізу [11].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ

Порівняльний аналіз поперечних зрізів листків показав, що до складу листка між одношаровим абаксальним і адаксіальним епідермісом розташовано входять 5 шарів клітин мезофілу. Товщина мезофілу в кліностатованих листках гороху мала тенденцію до підвищення у порівнянні з мезофілом контрольних зразків. Ультраструктурна організація субепідермальних палісадних клітин кліностатованих рослин була характерною для клітин, що фотосинтезують. Під впливом кліностатування розмір клітин мезофілу зростав у 1.2—1.5 рази, також у цих умовах збільшувався міжклітинний простір. Це добре узгоджувалося з 1.7-кратним зниженням кількості клітин мезофілу кліностатованих листків



Електронні мікрофотографії ультратонких поперечних зрізів хлоропластів листків з 12-денних контрольних (а) і кліно-статованих (б) рослин гороху, 500 нм. ТГ — тилакоїди гран, об'єднані ТС — тилакоїдами строми; ЗК — зерна крохмалю

рослин. У експериментальних рослинах ознаки де-струкції були відзначені в 17 % проглянутих клі-тин. Ми припускаємо, що кліностатування викли-кало прискорення росту клітин і деструкцію 1/5 клітин мезофілу, а також розширення міжклітин-ного простору, що могло бути результатом інтен-сивнішого дихання.

В умовах експерименту відстань між хлоропла-стами збільшувалася, але їхня кількість, як і кіль-кість мітохондрій, була майже такою ж, як у контрольних зразках. Внутрішня ламелярна систе-ма була правильно упорядкованою в хлоропластах

Таблиця 1. Структурні елементи хлоропластів у клітинах мезофілу листків 12-денних рослин гороху

Структурний елемент	Контроль	Кліностатування, 2 об./хв
Тилакоїди гран	6.99±0.21	7.16±0.31
Тилакоїди строми	11.11±0.30	14.16±0.14
Строма	46.17±1.30	44.47±1.40
Крохмаль	35.77±0.11	33.56±1.01
Пластоглобули	0.25±0.01	0.64±0.02

Таблиця 2. Вміст пігментів у листках 12-денних рослин гороху, мг/г сухої ваги

	Контроль	Кліностатування, 2 об./хв
Хлорофіл <i>a</i>	10.313±0.392	8.712±0.340
Хлорофіл <i>b</i>	4.589±0.162	4.025±0.157
Загальний хлорофіл	14.902±0.554	12.737±0.497
Загальні каротиноїди	3.019±0.104	2.690±0.108
Хлорофіл <i>a</i> / Хлорофіл <i>b</i>	2.25	2.16

Таблиця 3. Вміст полярних ліпідів в листках 12-денних рослин гороху

Фосфоліпіди, нмоль фосфату / мг загальних ліпідів		Гліколіпіди, нмоль фосфату / мг загальних ліпідів	
Листки	Хлоропласти	Листки	Хлоропласти
Контроль			
206±9	171±8	421±17	420±16
Кліностатування			
188±8	45±2	297±12	252±10

кліностатованих рослин (рисунок). Порівняльний аналіз виявив зростання об'єму тилакоїдів гран і накопичення пластоглобул у строми під впливом кліностатування (табл. 1). Адаптацію рослин при кліностатуванні або в умовах мікрогравітації вив-чали різні дослідники [2, 9, 10]; менше відомо про дію умов зміненої сили тяжіння на стан мембран, що фотосинтезують, і на фотохімічну активність фотосинтетичного апарата паростків.

Вміст сухої речовини в листках кліностатованих рослин збільшувався із 136.3 до 159.7 мг на 1 г листків. Листки кліностатованих рослин містили менші кількості усіх фотосинтетичних пігментів (табл. 2); також знижувалося відношення хло-рофілу *a* до хлорофілу *b*.

Частка ліпідів у сухій речовині залишалася прак-тично незмінною (196.4 мг на 1 г сухої ваги в листках контрольних рослин і 195.1 — у кліно-статованих). Проте кількість хлоропластних фос-фоліпідів різко зменшувалася в умовах експери-менту (табл. 3). Доведено, що хлоропластний фос-

фоліпід фосфатидилгліцерин необхідний для стабілізації системи, що розщеплює воду, [8] і світлозбираючого хлорофіл-білкового комплексу [12]. Отже, можна зробити висновок про порушення нормального стану цих комплексів у результаті відзначеної нестачі фосфоліпідів. Частка позахлоропластних фосфоліпідів, навпаки, збільшувалась. Вміст гліколіпідів зменшувався в умовах кліно-статування.

Загальний вміст ліпідів практично не змінювався в кліностатованих рослинах. При кліностатуванні вміст полярних ліпідів і пігментів зменшувався, а нейтральних ліпідів (тобто запасних тригліцеридів) збільшувався. Це добре узгоджується з фактом накопиченням пластоглобул у стромі хлоропластів. Ми припускаємо, що це відбувалося за рахунок збільшення вмісту нейтральних ліпідів, які входять до складу пластоглобул.

1. Васильев А. М., Муравник Л. Е. Динамика клеточных компонентов тканей листа *Populus deltoides* (Salicaceae) в ходе жизненного цикла. Палисадный мезофилл в ходе роста // Ботанический журн.—1997.—82, № 9.—С. 1—13.
2. Кордюм Е. Л., Сытник К. М., Белявская Н. А. и др. Современные проблемы космической клеточной фитобиологии. — М.: Наука, 1994.—293 с.
3. Родионов В. С., Холопцева Н. П. Определение фосфолипидов листьев растений с помощью двумерной хроматографии в тонких слоях силикагеля // Физиология и биохимия культ. растений.—1974.—6, N 2.—С. 201—206.
4. Румянцева В. Б., Мерзляк М. Н., Машинский А. Л., Нечитайло Г. С. Влияние факторов космического полета на пигментный и липидный состав растений пшеницы // Косм. биология и аэрокосм. медицина.—1990.—24, N 1.—С. 53—55.
5. Силаева А. М., Силаев А. В. Методы количественного анализа электронно-микроскопических изображений хлоропластов // Физиология и биохимия культурных растений.—1979.—11, N 6.—С. 547—562.

6. Aliyev A. A., Abilov Z. K., Mashinskiy A. L., et al. The ultrastructure and physiological characteristics of the photosynthesis system of shoots of garden peas grown for 29 days on the «Salyut-7» space station // USSR Space Life Sci. Digest.—1987.—10.—P. 15—16.
7. Bligh E. G., Dyer W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification // Can. J. Biochem. Physiol.—1959.—37.—P. 911—917.
8. Gounaris K., Whitford D., Barber J. The effect of thylakoid lipids on an oxygen-evolving Photosystem II preparation // FEBS Lett.—1983.—163—P. 230—234.
9. Kordyum E. L. Biology of plant cells in microgravity and under clinostating // International Review of Cytology.—1997.—171.—P. 1—78.
10. Laurinavichius R. S., Yaroshys A. V., Marchukaytis A., et al. Metabolism of pea plants grown under flight conditions // USSR Space Life Sci. Digest.—1986.—4.—P. 23—25.
11. Svennerholm T. The quantitative estimation of cerebrosides in nervous tissue // J. Neurochemistry.—1956.—1, N 1.—P. 42—53.
12. Tremolieres A. Reconstitution of photosynthetic structures and activities with lipids // Lipids in photosynthesis: structure, function and genetics. — Kluwer Academic Publishers, 1998.—P. 175—189.
13. Vernon L. P. Spectrophotometric determination of chlorophylls and pheophytins in plant extractions // Analyt. Chem.—1960.—32.—P. 1144—1150.

STRUCTURE-FUNCTIONAL CHANGES OF MESOPHYLL CELLS OF 12-DAYS OLD CLINOROTATED PEA SEEDLINGS

N. I. Adamchuk, R. M. Fomishyna, N. F. Mykhaylenko,
and O. K. Zolotareva

Mesophyll cell structure and status of photosynthetic membranes in the true leaves of 12-days pea seedlings grown on the slow horizontal clinostat as compared with vertical control is analysed. The data are discussed in connection with correlation of structure changes of chloroplasts and chlorophylls and carotenoids and so the polar lipids both for chloroplasts and pea leaves.

УДК 577.25:658.3.04

МОДЕЛИРОВАНИЕ ОТКЛИКОВ ОРГАНИЗМА ОПЕРАТОРА НА ВОЗДЕЙСТВИЯ ВНЕШНЕЙ СРЕДЫ

© А. В. Гайдачук, В. Ю. Колосков

Державний аерокосмічний університет ім. Н. Е. Жуковського «ХАІ»

Одне з найважливіших місць у сфері захисту людства від шкідливих наслідків його діяльності займає безпека виробничої життєдіяльності, що передбачає як захист навколишнього середовища та його мешканців, так і захист операторів конкретних шкідливих виробництв.

Проблемы безопасности производственной жизнедеятельности (БПЖД) имеют как гуманитарный, так и экономический аспект [6]. Последний связан

с возможными экономическими потерями при потере оператором контроля над технологическим процессом; ранней потерей трудоспособности и, как