

© О. И. Воловик<sup>1</sup>, С. К. Сытник<sup>1</sup>, Н. Н. Топчий<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт физиологии растений и генетики НАН Украины, Київ

<sup>2</sup>Институт ботаники им. М. Г. Холодного НАН Украины, Київ

## ВЛИЯНИЕ ИМИТИРОВАННОЙ НЕВЕСОМОСТИ (КЛИНОСТАТИРОВАНИЯ) НА ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИЙ АППАРАТ РАСТЕНИЙ ЯЧМЕНЯ (*HORDEUM VULGARE* L.)

З використанням ДДС-На-електрофорезу в ПААГ, а також спектрофотометричних і полярографічних методів проведено дослідження впливу імітованої мікрогравітації на організацію і функціонування фотосинтезуючих органел — хлоропластів, виділених із рослин ячменю. Показано, що в умовах клиностатування збільшується відносний вміст мономерних форм світлозбирального комплексу фотосистеми II (ЛНСII) за рахунок зменшення олігомерних форм цього комплексу, а також зменшується доля цілісного комплексу фотосистеми I (ФСI). Відносний вміст суми комплексів ФСI, а також комплексу фотосистеми II (ФСII) в клиностатованих рослинах також зменшується. Клиностатування викликало зменшення активності ФСI, ФСII і повного електронного транспорту, причому ступінь зменшення залежить від освітленості при вирощуванні рослин. Синтез АТФ, поєднаний з циклічним, псевдоциклічним та лінійним транспортом електронів, інгібувався в умовах імітованої невагомості.

**Введение.** В связи с освоением космического пространства и долгосрочными космическими экспедициями возникла проблема подбора растений и технологий их выращивания в системах жизнеобеспечения. Эту проблему невозможно решить без фундаментальных знаний о физиологии растительного организма в условиях измененной силы тяжести. Поскольку фотосинтез благодаря присущей ему уникальной функции регенерации воздуха и синтеза питательных веществ является одним из наиболее важных биологических процессов, его изучение при действии микрогравитации представляет значительный интерес как с теоретической, так и практической точки зрения.

Накопленные сведения о жизнеспособности вышших растений, выращенных как в космических аппаратах, так и на Земле в условиях имитированной невесомости, свидетельствуют о том, что изменение напряженности гравитационного поля вызывает, наряду с изменениями роста и развития растений, существенную функциональную и структурную перестройку фотосинтетического аппарата. В литературе приводятся данные (иногда противоречивые) об изменении содержания пигментов, размеров и структуры хлоропластов, о везикуляции и дезориентации мембран [2]. Показано, что уменьшению массы выращенных на борту шаттла «Discovery» проростков пшеницы на 25 % соответствовало примерно такое же уменьшение как интенсивности фотосинтеза в условиях насыщения углекислым газом и насыщающей интенсивности света, так и скорости электронного транспорта в

реакции  $H_2O \rightarrow$  метилвиологен [6]. Снижение скоростей электронного транспорта на уровне фотосистем I и II наблюдалось у растений *Brassica Rapa*, выращенных на борту шаттла «Columbia» [7].

Цель нашей работы — изучение влияния имитированной невесомости на состояние хлоропластов, а именно, на скорости электронного транспорта и их пигмент-белковый состав.

**Материалы и методы.** Исследования проведены на растениях ячменя (*Hordeum vulgare* L.) выращенных в специально изготовленных пластиковых сосудах на базальтовом волокне с добавлением питательной смеси (разбавленного раствора вермистина) при температуре 23—25 °C и фотопериоде 16/18 до возраста 12—14 дней. Освещенность при выращивании растений — 140 мкмоль·м<sup>-2</sup>·с<sup>-1</sup> (в отдельных экспериментах — 700 мкмоль·м<sup>-2</sup>·с<sup>-1</sup>). Варианты: вертикальный контроль и горизонтальное клиностамирование при 4 об/мин.

Выделение хлоропластов и определение скоростей электронного транспорта проводились согласно описанным ранее методам [7]. Скорость фотофосфорилирования тестировалась согласно [1]. Хлорофилл определяли по методу [4].

Анализ пигмент-белковых комплексов тилакоидных мембран проводили с помощью ДДС-На-электрофореза в ПААГ по методу [3]. После электрофореза гели сканировали и анализировали с помощью программы TotalLab, 1.10.

**Результаты и обсуждение.** Зеленые электрофоретические зоны, соответствующие отдельным пигмент-белковым комплексам, обозначены соглас-

но номенклатуре [3]: CP1 — комплекс реакционного центра (РЦ) ФСІ, лишенный собственного светособирающего комплекса LHСІ; CP1a, CP2a, CP3a — комплексы РЦ ФСІ, частично сохранившие LHСІ; CPa — пигмент-белковый комплекс РЦ ФСІІ; LHСР<sup>1</sup> — олигомерная форма основного светособирающего комплекса LHСІІ; LHСР<sup>3</sup> — мономерная форма LHСІІ; FChI — свободный хлорофилл.

Относительное содержание отдельных полос представлено в табл. 1. Суммы LHСР<sup>1</sup> и LHСР<sup>3</sup> довольно близки по своему значению в контрольном и опытном вариантах (51.94 и 52.38 %). Однако соотношение между этими комплексами существенно отличается. У контрольных растений оно равняется 3.09, тогда как в клинотатированных — 1.38. Иными словами, в условиях клинотатирования происходит перераспределение форм светособирающего комплекса в пользу мономеров.

Другим заметным различием является изменение относительного содержания зон CP1a, CP2a и CP3a, соответствующих целостному комплексу реакционных центров ФСІ, т. е. таких, которые сохранили (в большей или меньшей мере) в своем составе собственный светособирающий комплекс (LHСІ). Из табл. 1 видно, что у контрольных растений наблюдается три соответствующих полосы, тогда как в клинотатированных — одна. Причем в последних отсутствуют наиболее высокомолекулярные (т. е. наиболее целостные) комплексы. Таким образом, как и в случае с LHСІІ (LHСР<sup>1</sup> + LHСР<sup>3</sup>), у клинотатированных растений в сравнении с контрольными наблюдается относительное уменьшение доли сложных комплексов ФСІ. Кроме того, общее содержание комплексов, принадлежащих ФСІ, у клинотатированных растений ниже на 25 %, а комплексов ФСІІ (CPa) — на 20 %.

Выращивание растений в условиях микрогравитации приводит, по-видимому, к таким изменениям в организации мембраны и пигмент-белковых комплексов, которые делают последних менее стабильными, т. е. менее стойкими к действию детергента. Об этом свидетельствует увеличение относительного содержания свободного хлорофилла в клинотатированном варианте. Кроме того, относительное увеличение мономерных форм LHСІІ может происходить также *in vivo* в стрессовых условиях, как это описано в работе [5].

Обнаруженные изменения в организации тилакоидных мембран сопровождались снижением скоростей фотохимических реакций.

Согласно данным, приведенным в табл. 2, скорость электронного транспорта через ФСІІ в хлоропластах клинотатированных растений ячменя в ре-

акции восстановления дихлорфенолиндофенола от воды (H<sub>2</sub>O → ДХФИФ) снижалась (при насыщающей и при лимитирующей интенсивности возбуждающего света). Факт ингибирования повторился в полярографических исследованиях на тилакоидах растений, выращенных при двух уровнях освещенности — 700 и 140 мкмоль·м<sup>-2</sup>·с<sup>-1</sup>.

Из табл. 3 видно, что скорость переноса электронов от H<sub>2</sub>O к дихлоробензохинону (H<sub>2</sub>O → ДХБХ, активность ФСІІ), снижалась у растений, которые выращивались как при высокой интенсивности света, так и при ее снижении (на 25 и 32 % соответственно). Аналогичная картина наблюдалась и в изменениях скоростей электронного транспорта на участке ФСІ (реакция диаминодурен → метилвиологен) и в полной электронтранспортной цепи (H<sub>2</sub>O → метилвиологен), т. е. степень снижения активностей фотореакций всех типов была приблизительно одинаковой, однако при выращивании в условиях пониженной освещенности изменения, вызванные клинотатированием, были более глубокими.

Эти результаты сходны с полученными нами ранее при сравнительном изучении активностей ФСІ и ФСІІ в тилакоидах растений *Brassica rapa*, выращенных в наземных условиях и на борту КК «Columbia», 1997 г. Согласно данным, приведенным в работе [7], активность фотосистем, и особенно

Таблица 1. Распределение хлорофилла в хлорофилл-белковых комплексах тилакоидов

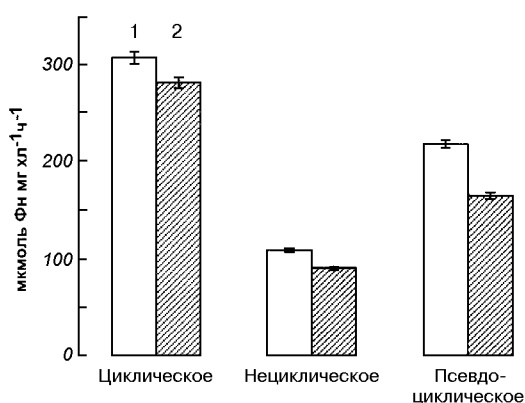
Хлорофилл-белковые комплексы	Доля от общего количества хлорофилла на геле, %		
	Контроль	Клинотатирование	% от контроля
CP3a	0.67±0.02	—	
CP2a	2.49±0.32	—	
CP1a	3.10±0.37	2.38±0.41	76.8
CP1	15.07±1.36	13.91±1.13	92.3
LHСР <sup>1</sup>	39.24±1.83	30.34±1.55	77.3
CPa	7.52±0.49	6.02±1.71	80.05
LHСР <sup>3</sup>	12.70±1.61	22.04±1.63	173.5
FChI	19.00±1.84	25.30±1.33	133.1
LHСР <sup>1</sup> +LHСР <sup>3</sup>	51.94	52.38	100.8
LHСР <sup>1</sup> /LHСР <sup>3</sup>	3.09	1.38	44.7
CP3a+CP2a+CP1a+CP1	21.33	16.29	76.4

Таблица 2. Скорости электронного транспорта (фотореакция H<sub>2</sub>O → ДХФИФ) в тилакоидах ячменя, выращенного при 140 мкмоль·м<sup>-2</sup>·с<sup>-1</sup>, при насыщающем и лимитирующем возбуждающем свете (мкмоль·ДХФИФ/мг·хл<sup>-1</sup>·ч<sup>-1</sup>)

Варианты	Насыщающий свет	Лимитирующий свет
Контроль	246.5±11.6	157.7±7.2
Клинотатирование	167.3±9.0	119.4±2.8

Таблица 3. Активность электронного транспорта на уровне отдельных фотосистем и в полной цепи в тилакоидах растений ячменя

Фотореакция	Освещенность при выращивании, мкмоль·м <sup>-2</sup> ·с <sup>-1</sup>			
	700		140	
	контроль	клиностамирование	контроль	клиностамирование
H <sub>2</sub> O → ДХБХ (активность ФСII)	298.5±7.4 (100 %)	223.8±10.1 (75 %)	323.3±15.1 (100 %)	221.7±14.3 (68 %)
ДАД → МВ (активность ФСI)	416.8±16.2 (100 %)	317.9±4.6 (76 %)	378.4±11.6 (100 %)	258.6±10.7 (68 %)
H <sub>2</sub> O → МВ (полный транспорт)	225.2±12.8 (100 %)	166.4±8.8 (74 %)	210.8±7.6 (100 %)	148.5±12.0 (70 %)



Влияние клиностамирования на скорости фотофосфорилирования

ФСI, в тилакоидах растений, выращенных в космических условиях на протяжении 16 сут, снижалась.

Нами исследованы также скорости образования АТФ в реакциях циклического, нециклического и псевдоциклического фотофосфорилирования, которые, как известно, увязываются с разными типами электронного транспорта, а именно: с циклическим переносом электронов вокруг ФСI, с линейным переносом от H<sub>2</sub>O к НАДФ и с переносом электронов от H<sub>2</sub>O через ФСII и ФСI на кислород соответственно. Как свидетельствуют приведенные на рисунке данные, клиностамирование вызывает угнетение скоростей образования АТФ, хотя и в разной мере для разных типов фотореакций.

Таким образом, полученные результаты позволяют сделать заключение, что клиностамирование приводит к изменению структурной организации фотосинтетических мембран на уровне их пигмент-белковых комплексов и к угнетению процессов световой стадий фотосинтеза. Кроме того, установлена зависимость функциональных изменений в тилакоидах от условий выращивания растений, а именно: при низком уровне освещенности снижение скоростей электронного транспорта было более глубоким. Можно полагать, что такая структурная

и функциональная реорганизация тилакоидных мембран является одной из причин обнаруженного нами снижения интенсивности фотосинтеза при действии микрогравитации.

1. Воловик О. И., Мануильская С. В. и др. Фосфорилирование белков светособирающего комплекса и электронный транспорт в фотосистемах I и II // Физиол. растений.—1986.—43, № 6.—С. 864—869.
2. Кордом Е. Л., Сытник К. М. и др. Современные проблемы космической клеточной фитобиологии. — М.: Наука, 1994.—293 с.
3. Anderson J. M. P-700 content and polypeptide profile of chlorophyll-protein complexes of spinach and barley thylakoids // Biochim. Biophys. Acta.—1980.—591.—P. 113—126.
4. Arnon D. I. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenol oxidase in Beta vulgaris // Plant Physiology.—1949.—24.—P. 1—15.
5. Garab G., Cseh Z., et al. Light induced trimer to monomer transition in the main light-harvesting antenna complex of plants: thermooptic mechanism // Biochemistry.—2002.—41.—P. 15121—15129.
6. Tripathy B. C., Brown C. S., et al. Growth and photosynthetic responses of wheat plants grown in space // Plant Physiology.—1996.—110.—P. 801—806.
7. Volovik O. I., Kordyum E. L., Guikema J. A. Characteristics of photosynthetic apparatus under conditions of spaceflight // J. Gravit. Physiol.—1999.—6 (1)—P. 127—128.

#### EFFECT OF THE SIMULATED WEIGHTLESSNESS (CLINOROTATION) ON A PHOTOSYNTHETIC APPARATUS OF BARLEY PLANTS (HORDEUM VULGARE L.)

O. I. Volovik, S. K. Sytnik, N. N. Topchiy

The effect of microgravitation (simulated by clinorotation) on the organization and functioning of chloroplasts, isolated from barley plants, is studied with the use SDS-electrophoresis, spectrophotometric and polarography methods. The relative content of monomeric forms of light harvesting complex of photosystem II (LHCII) increases at the expense of its oligomeric forms under clinorotation conditions. The decrease of the portion of the entire complex of photosystem I (PSI) as well as of the sum of the PSI complexes and the complex CPa (related to PSII) was observed in experimental variants. Clinorotation induced the decrease in PSI, PSII and full electron transport activity, and the extent of the reduction depended on the light intensity during plant growth. The ATP synthesis coupled with cyclic, noncyclic and linear electron transport was inhibited under the simulated microgravitation.