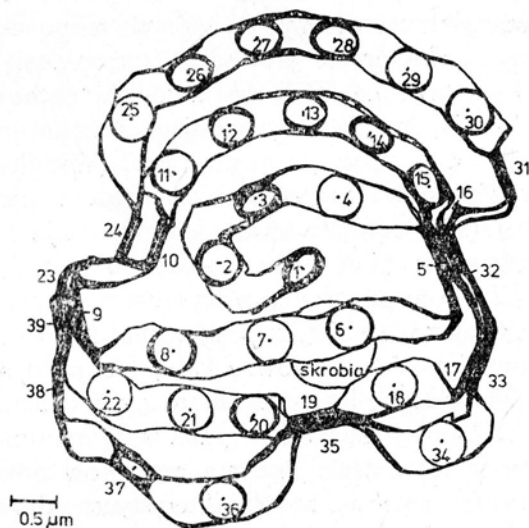


pojedynczym elementem granum, jest w terminologii Weiera kompartment. System tylakoidowy zbudowany jest z błon, których budowa na poziomie molekularnym nie została jeszcze zupełnie poznana (bliższe dane oraz bogatą literaturę na ten temat przedstawił Więckowski 1975). Wiadomo jednak, że błony te różnią się od większości błon cytoplazmatycznych nie tylko budową, ale także zdolnością łączenia się ze sobą na stosunkowo dużych obszarach tworząc grana.

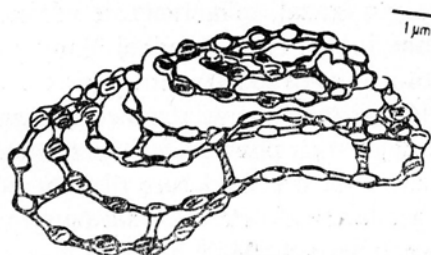
Już w ubiegłym stuleciu niejednokrotnie stwierdzono, że chloroplasty (zwłaszcza chloroplasty roślin wyższych), nie są jednorodnie zielone oraz, że budowa ich jest wyraźnie ziarnista. Schimper (1885) twierdził, że chloroplasty „zawierają bezbarwną stromę, w której występują liczne wakuole wypełnione zieloną, półpłynną substancją”. Wcześniej, bo już w roku 1883, Meyer nazwał te „zielone wakuole” granami. Obecność gran była jednak kontrowersyjna do połowy lat trzydziestych, kiedy to Doutreligne (1935) Weier (1936) i Heitz (1936) stwierdzili, że nie są one artefaktem. Potwierdzeniem obecności gran w chloroplastach i ich lamellarnego charakteru były wczesne prace traktujące o plastydach, a wykonane przy użyciu mikroskopu elektronowego (Granick i Porter 1947, Steinmann 1952a i b i inni). Analiza serii skrawków, izolowanych chloroplastów i badania biochemiczne peptydów potwierdziły przypuszczenie, że błony gran i intergranowe tworzą jeden system (Weier i Thomson 1962, Heslop-Harrison 1963, 1966, Paollilo i Falk 1966, Paollilo i Reighard 1967, Wermeyer 1963a i b, 1964a i b, Kirchanski i Park 1976), przy czym formowanie się gran w zazieleniających się etioplastach jest ostatnim etapem zmian strukturalnych jakie zachodzą w obrębie błon fotosyntetycznych (Paollilo 1970, Wellburn i Wellburn 1971).

Według Weiera i wsp. (1966) granum może zawierać od dwu do wielu kompartmentów. Średnia liczba kompartmentów w granach wynosi od kilku do stu. Ich długość może być różna w indywidualnym granum, często jednak jeden lub więcej kompartmentów wchodzi w skład dwóch i więcej gran (Weier 1961, Thomson 1965 i inni).

Liczne badania (m. in. Weiera i Thomsona 1962) wykazały, że grana widziane na pojedynczym skrawku jako struktury niezależne mogą w rzeczywistości być elementami składowymi tego samego granum. Są to więc niekiedy bardzo duże struktury zajmujące znaczne obszary chloroplastu. Zwykle jednak ich średnica wynosi 0,3—2 μm . Analiza elektronogramów pokazuje, że przegrody (partitions) gran ułożone są z reguły równolegle do długiej osi plastydu, mogą one jednak niekiedy przybierać układ prostopadły do tej osi. Na tej podstawie Weier i Stocking (1962), a także Thomson (1965) sugerowali, że grana są zdolne poruszać się wewnątrz chloroplastów. Ostatnio Jope i wsp. (1976) na międzynarodowym sympozjum poświęconym kwasom nukleinowym i syntezie białek u roślin, które odbyło się w Strasburgu zaproponowali nowy model ilustrujący układ gran w chloroplastach (dane dotyczące innych modeli znajdzie czytelnik w pracy Parka i Sdne'a — 1971). Uważają oni, że w warunkach naturalnych grana są tworami cylindrycznymi i nie zachodzą wzajemnie na siebie (non-overlapping cylinders) ryc. 2. Łącząc się kolejno tworzą układ helikalny wzmocniony wiązaniami poprzecznymi. Jedno takie wiązanie przypada na fragment helisy zawierający 10—15 gran, ryc. 3. Ziarna skrobi,



Ryc. 2. Model systemu tylakoidowego skonstruowany przez komputer na podstawie obrazu z mikroskopu świetlnego (Wg Jope i wsp. 1976)



Ryc. 3. Nowy model trójwymiarowej struktury tylakoidów w chloroplacie. Widoczne wiązania poprzeczne (Wg Jope i wsp. 1976)

jeżeli są obecne, umieszczone są w zagłębieniach (wkłęsłościach — the concavity) pod granami. (ryc. 2.)

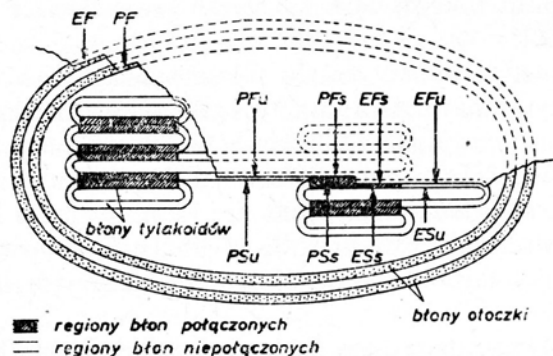
Istnieje wiele hipotez na temat sposobu powstawania gran (Mühlethaler 1966, Olszewska 1971 i cyt. tam lit., Salema 1971, Argyroudi-Akoyunglou i wsp. (1976 i inni). Najczęściej przyjmuje się, że powstają one na końcach tylakoidów stromy przez ich pofałdowanie lub wpuklenie oraz jako boczne uwypuklenia tych tylakoidów ryc. 1. Znane są jednak także prace, np. Henriquesa i Parka (1974), negujące taki sposób powstawania tych struktur. Według nich błony tylakoidów stromy i tylakoidów gran mają oddzielne centra biosyntezy, działające niezależnie i z podobną szybkością.

Hipotetyczne są również dane o mechanizmie łączenia się (stacking) błony w granach. Weier i wsp. (1965) zwrócili szczególną uwagę na obszar, gdzie przylegają do siebie błony dwóch sąsiednich tylakoidów. Okazuje się, że przestrzeń między takimi dwoma sąsiadującymi ze sobą tylakoidami w granum dojrzałego chloroplastu jest mniejsza niż podwójna grubość błony zewnętrznego tylakoidu granum. Można

także często obserwować elektronogramy, na których mimo uszkodzenia obszaru międzygranowego (np. w niektórych procesach starzenia się liści — Ljubešić 1968, Młodzianowski i Ponitka 1973) grana zostają zachowane jako odrębne struktury. Dane te wskazują, że tylakoidy budujące granum nie tylko ułożone są bardzo blisko siebie, ale są ze sobą „scementowane” (Więckowski 1975).

Blżej przeanalizowali budowę błon połączonych w grana i niepołączonych Goodenough i Staehelin (1971). Interesowała ich populacja cząstek białkowych wykrytych na powierzchniach błon po zastosowaniu metody kryorytownictwa (freeze-etching). Uzyskali oni przy pomocy tej techniki cztery powierzchnie błon tylakoidów, które określili jako *A* i *D* (dla powierzchni zewnętrznych) oraz *B* i *C* (dla powierzchni przełamania). Dla regionów, w których błony były ze sobą połączone dodawali do odpowiednich dużych liter małą literę *s*, zaś dla niepołączonych małą literę *u*. Wykazali oni, że błony połączone w grana mają inną morfologię niż błony niepołączone. Prowadzone równoległe badania mutantów potwierdziły ten fakt. Goodenough i Staehelin uważają, że charakterystyczne duże cząstki występują w błonach chloroplastowych, kiedy ma miejsce ich połączenie, nie ma ich natomiast wewnątrz błon niepołączonych. Zespalenie błon chloroplastowych, według nich, zależy jest od interakcji jonów między błonami.

W roku 1975 Staehelin wykazał, że łączenie się tylakoidów szpinaku w grana odbywa się dzięki połączeniu dużych cząstek jednej błony z małymi cząstkami drugiej i *vice versa*. Ten sam autor w roku 1976 opierając się na założeniu, że we wszystkich błonach biologicznych można wyróżnić stronę protoplazmatyczną (*P*) i egzoplazmatyczną (*E*), a w każdej z nich powierzchnię przełamania (*F*) i powierzchnię rzeczywistą (*S*), wprowadził nową nomenklaturę dla obrazów błon uzyskiwanych metodą kryorytownictwa, a mianowicie *PF* i *EF* dla powierzchni przełamania oraz *PS* i *ES* dla powierzchni rzeczywistych. Małe litery *s* i *u* oznaczają odpowiednio regiony połączone i niepołączone (ryc. 4). Według tej nomenklatury powierzchnia przełamania znana jako *B_s*, w pracy Goodenough i Staehelina (1971), określana



Ryc. 4. Diagram ilustrujący nową nomenklaturę obrazów, błon chloroplastowych uzyskiwanych metodą kryorytownictwa. *P* — strona protoplazmatyczna; *E* — strona egzoplazmatyczna; *F* — powierzchnia przełamania; *S* — powierzchnia rzeczywista; *u* — i *s* — regiony błon niepołączonych i połączonych (wg Staehelina 1976)

jest obecnie jako *EFs*. Pozostałe określenia zostały następująco zmienione *Bu*→*EFu*, *Cu*→*PFu*, *Cs*→*PFs*, *Au*→*PSu*, *As*→*PSs*, *Du*→*ESu*, *Ds*→*ESs*. Autor ten stosując wyżej wymienioną technikę zbadał supramolekularną strukturę błon izolowanych chloroplastów szpinaku i wykazał strukturalne zmiany związane z rozłączaniem (unstacking) i ponownym łączeniem (restacking) *in vitro* tych błon. Wykazał on obecność czterech wyraźnych kategorii cząstek wewnątrz błonowych. Ich morfologia odpowiadała dokładnie morfologii cząstek chloroplastów *Chlamydomonas* przedstawionej przez Goodenough i Staehelina (1971). Na powierzchni *EFs* występują regularnie rozmieszczone duże cząstki na stosunkowo gładkim podłożu. Większość z nich można zaliczyć do dwóch kategorii wielkości $< 140 \text{ \AA}$ i $> 140 \text{ \AA}$. Powierzchnia *PFs* jako komplementarna do powierzchni *EFs* jest charakterystycznym regionem, w którym błony są połączone (stacked). Powierzchnia *PFs* wydaje się być chropowata, ponieważ jest mieszaniną dużych jamek i małych cząstek. Cząstki *PFs* są jednorodne pod względem wielkości i z reguły mniejsze (średnica ok. 80 \AA) niż cząstki jakiegokolwiek innej powierzchni przełamania. Powierzchnia *EFu* pochodzi z regionów, gdzie błony są niepołączone i często stanowi kontynuację powierzchni *EFs*. Widać na niej tylko rzadko rozmieszczone cząstki, zbliżone wymiarami do kategorii mniejszych cząstek powierzchni *EFs*. Podłoże jej charakteryzuje się licznymi jamkami. Powierzchnia *PFu* pochodzi z przełamania błony w regionach niepołączonych i jest komplementarna do powierzchni *EFu*. Cząstki na niej wydają się być gęściej upakowane niż na jakiegokolwiek innej powierzchni. (ryc. 5). Można je zaklasyfikować do dwóch kategorii wielkości o średnicy $< 100 \text{ \AA}$ i $> 100 \text{ \AA}$. Jest interesujące, że średnica jej cząstek mniejszych ($81,8 \text{ \AA}$) jest w przybliżeniu identyczna ze średnicą cząstek *PFs* ($82,2 \text{ \AA}$). Duże cząstki widoczne w regionach połączonych powierzchni *EF* i powierzchni *ES* przedstawiają różne postaci tego samego składnika błony. Podobnie jest z powierzchniami *EFu* i *ESu*. Ponieważ rozmieszczenie dużych cząstek między błonami gran i stromy zgadza się z rozmieszczeniem aktywności fotosystemu II (*PS II*), Staehelin uważa (podobnie jak Armond i Arntzen 1977), że mogą one być strukturalnym odpowiednikiem kompleksów *PS II*. Stwierdził także, że eksperymentalne rozłączenie błon chloroplastowych w środowisku o niskiej koncentracji soli prowadzi do reorganizacji lamelli i do towarzyszącego temu wymieszania różnych kategorii cząstek. Łączenie *in vitro* takich rozłączonych błon może nastąpić, gdy dodamy do zawiesiny błon 2—20 mM MgCl_2 lub 100—200 mM NaCl . Jeżeli proces łączenia się błon trwał przynajmniej jedną godzinę to obserwowano ponowne rozsegregowanie cząstek powierzchni *EF* w nowo uformowanych regionach połączonych, prowadząc do przyjęcia przez nie układu i rozmiarów prawie identycznych z układem i rozmiarami jakie obserwuje się w regionach połączonych materiału kontrolnego. Proces ponownego łączenia się błon odbywa się w dwóch etapach, w pierwszym ma miejsce szybkie przyłgnięcie sąsiadujących ze sobą powierzchni błon stromy z równoczesnym niewielkim ruchem cząstek, a w drugim powolna dyfuzja dalszych dużych cząstek wewnątrz błonowych do regionów połączonych, gdzie następuje ich związanie.

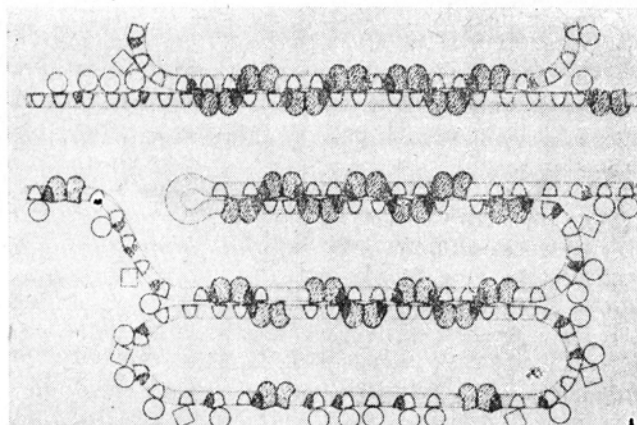
Analiza stosunku chlorofilu *a*: chlorofilu *b* z różnych frakcji błon pokazała, że ruchowi cząstek towarzyszy ruch cząsteczek barwnika.









Ryc. 5. Obraz izolowanych tylakoidów szpinaku uzyskany drogą kryorytownictwa. Komplementarne powierzchnie przelamania oznaczone jako *PFs* i *EFs* są charakterystycznymi regionami błon połączonych podczas gdy powierzchnie *PFu* i *EFu* należą do regionów, w których błony nie są połączone. Dobrze widoczne są agregaty dużych cząstek (160 Å) na powierzchni *EFs*. (wg Staechelina 1976)

Staehelin przedstawił także model wyjaśniający strukturalne zależności między wszystkimi kategoriami cząstek (ryc. 6).

Czynnikami, które przyspieszają tworzenie się gran są między innymi światło (Henningsen i Boynton 1970, Argyroudi-Akoyunoglou 1976 i inni) i cytokininy. Szczególnie dużo badań przeprowadzono ostatnio w celu ustalenia roli cytokinin w procesie ontogenezy plastydów. Wykazano między innymi, że substancje te, zaliczane do roślinnych regulatorów wzrostu, podane egzogenicznie przyspieszają rozwój gran u większości badanych roślin, a w krańcowych przypadkach wręcz warunkują ich wytworzenie (Stetler i Laetsch 1965, Chochłowa i wsp. 1971, Farineau i Roussaux 1970 i 1975, Młodzianowski 1974, Woźny i Szweykowska 1975 i wielu innych). Jednym z możliwych mechanizmów oddziaływania cytokinin na ten proces może być stymulowanie syntezy białek wchodzących w skład wykrytych przez Goodenough i Staehelina cząstek odpowiedzialnych za łączenie się tylakoidów w grana (Młodzianowski 1974). Interesujące jest jednak, że w granach olbrzymich (supergranach) tworzących się pod wpływem działania chloramfenikolu, jt. inhibitor syntezy białka w układach zawierających rybosomy 70 S, stwierdzono brak cząstek 175 Å przy zachowaniu normalnego poziomu chlorofilu. W tym przypadku brak tych cząstek był skorelowany nie ze zmniejszeniem się zdolności tylakoidów



-  $> 140 \text{ \AA}$ cząstki EFs (PSII + kompletny zespół LHC?)
-  $< 140 \text{ \AA}$ cząstki EFs i EFu (PSII + częściowy zespół LHC?)
-  80 \AA cząstki PFs i PFu (PSI?)
-  115 \AA cząstki PFu (PSI + LHC?)
-  cząsteczki czynnika sprzęgającego I
-  cząsteczki karboksydyzmutazy

Ryc. 6. Model błon chloroplastu. Pokazano rozmieszczenie różnych kategorii cząstek w regionach, w których błony są połączone i niepołączone oraz ich asymetryczny rozkład względem ciągłej, podwójnej warstwy lipidowej. Rysunek uwzględnia w sposób przybliżony wzajemne proporcje wszystkich elementów. Kompleksy wychytujące światło (light-harvesting complexes = LHC) zostały rozmieszczone zgodnie z propozycjami Armonda i wsp. 1976. (wg Staechelina 1976)

do agregacji w grana, ale z upośledzeniem procesu wiązania CO_2 (Sjolund i Smith 1974).

Dość dokładnie poznano już funkcje tylakoidów obu typów. Wiadomo mianowicie, że z granami związany jest proces utleniania wody, fotoredukcja NADP^+ i fotosforylacja (ryc. 1). W nich także zlokalizowane są głównie barwniki fotosyntetyczne i reakcje fotochemiczne fotosyntezy.

Jednak zagadnienia związane z tworzeniem się gran i ich budową na poziomie molekularnym są nadal otwarte i wymagają dalszych intensywnych badań.

Autor dziękuje Pani Prof. A. Szweykowskiej i Doc. F. Młodzianowskiemu za bardzo cenne uwagi krytyczne przy przygotowaniu niniejszego artykułu.

LITERATURA

- Armond P. A., Arntzen Ch. J., 1977. *Plant Physiol.* 59, 398—404.
 Armond P. A., Staechelin L. A., Arntzen C. J., 1976. *Biophys. J.* 16, 160 a (Abstr.)
 Argyroudi-Akoyunglou J. H., Kondylaki S., Akoyunoglou G., 1976. *Plant Cell Physiol.*, 17, 939—954.
 Chochłowa W. A., Sweszniak I. N., Kułajewa O. N., 1971. *Citologia*, 13, 1074—1079.

- Doutrigne J., 1935. Proc. K. ned. Acad. Wet., 38, 886—896.
- Farineau N., Roussaux J., 1970. C. R. Acad. Sci. (Paris), 271, 188—191.
- Farineau N., Roussaux J., 1975. *Physiol. Plant.* 33, 194—202.
- Goodenough U. W., Staehelin A., 1971. *J. Cell Biol.*, 48, 594—619.
- Granic S., Porter K. R., 1947. *Amer. J. Bot.*, 34, 545—550.
- Heitz E., 1936. *Planta* 26, 134—163.
- Henningsen K. W., Boynton J. E., 1970. *J. Cell Biol.* 44, 290—304.
- Henriques F., Park R., 1974. *Plant Physiol.* 54, 386—391.
- Heslop-Harrison J., 1963. *Planta* 60, 243—260.
- Heslop-Harrison J., 1966. *Sci. Prog.* 54, 519—541.
- Jope C. A., Atchison B. A., Pringle R. C. Wildman S. G., 1976. *Coll. internationaux C. N. R. S. No 261 Acides Nucléiques et Synthèse des Protéines chez les Végétaux* 153—157.
- Kirchanski S. J., Park R. B., 1976. *Plant Physiol.*, 58, 345—349.
- Ljubešić N., 1968. *Protoplasma* 66, 369—379.
- Menke W., 1962. *An. Rev. Plant Physiol.*, 13, 27—44.
- Meyer A., 1883. *Das Chlorophyllkorn in chemischer, morphologischer und biologischer Beziehung* Leipzig, A. Felix.
- Młodzianowski F., Ponitka A., 1973. *Z. Pflanzenphysiol.*, 69, 13—25.
- Młodzianowski F., 1974. Wpływ cytokinin na strukturę organelli komórkowych. *Uniwersytet A. Mickiewicza w Poznaniu, Wydz. Biologii i Nauk o Ziemi. Ser. Biol.*, nr 5.
- Mühlthaler K., 1966. *The ultrastructure of the plastid lamellae. W: Biochemistry of chloroplasts* (ed. T. W. Goodwin) t. 1, 49—64. Academic Press, New York, London.
- Olszewska M. J., 1971. *Cytologia roślin. PWN — Warszawa.*
- Paolillo D. J., Jr., Falk R. H., 1966. *Amer. J. Bot.* 53, 173—180.
- Paolillo D. J., Jr., Reighard J. A., 1967. *Can. J. Bot.*, 45, 773—782.
- Paolillo D. J., Jr., 1970. *J. Cell Sci.*, 6, 243—255.
- Park R. B., Sane P. V., 1971. *An. Rev. Plant Physiol.*, 22, 395—430.
- Salema R., 1971. *Public. do Inst. de Botânica „Dr. Goncalo Sampaio” Da Faculdade de Ciências da Universidade do Porto. Ser. 3 nr 22.*
- Schimper A. J. W., 1885. *Jb. Wiss. Bot.*, 16, 1—247.
- Sjolund R. D., Smith D. D., 1974. *J. Cell Biol.*, 60, 285—292.
- Steinmann E., 1952a *Expl. Cell Res.*, 3, 367—372.
- Steinmann E., 1952 b. *Experientia* 8, 300—301.
- Staehelin L. A., 1975. *Biochim. Biophys. Acta* 408, 1—11.
- Staehelin L. A., 1976. *J. Cell Biol.*, 71, 136—158.
- Stetler D. A., Laetsch W. M., 1965. *Science* 149, 1387—1388.
- Thomson W. W., 1965. *J. Exp. Bot.*, 16, 169—176.
- Wehrmeyer W., 1963a. *Z. Naturforsch.* 18b, 60—66.
- Wehrmeyer W., 1963b. *Planta* 59, 280—295.
- Wehrmeyer W., 1964a. *Planta* 63, 13—30.
- Wehrmeyer W., 1964b. *Planta* 62, 272—293.
- Weier T. E., 1936. *Amer. J. Bot.*, 23, 645—652.
- Weier T. E., 1961. *Amer. J. Bot.*, 48, 615—630.
- Weier T. E., Stocking C. R., 1962. *Amer. J. Bot.*, 49, 24—32.
- Weier T. E., Thomson W. W., 1962. *J. Cell Biol.*, 13, 89—108.
- Weier T. E., Engelbrecht A. H. P., Harrison A., Risley E. B., 1965. *J. Ultr. Res.*, 13, 92—111.
- Weier T. E., Stocking C. R., Shumway L. K., 1966. *Brookhaven Symp. Biol.*, 19, 353—374.
- Wellburn F. A., Wellburn A. R., 1971. *J. Cell Sci.*, 9, 271—287.
- Więckowski S. 1975. *Postępy Biol. Kom.*, 2 (2), 147—164.
- Woźny A. Szweykowska A., 1975. *Biochem. Physiol. Pflanzen* 168, 195—209.