

СТРОМУЛОПОДОБНЫЕ ВЫПЯЧИВАНИЯ МЕМБРАННОЙ ОБОЛОЧКИ ПЛАСТИД В КЛЕТКАХ КОРНЯ

© Г. А. Великанов,¹ А. А. Пономарева, Л. П. Белова, Т. М. Ильина

Казанский институт биохимии и биофизики Казанского научного центра РАН;

¹электронный адрес: velikanov@mail.knc.ru

Представлены результаты визуализации с помощью электронного микроскопа стромулоподобных выпячиваний мембранной оболочки пластид в клетках корня. Обсуждаются случаи возникновения длинного узкого выпячивания наружной мембраны, внутри которого располагалось более короткое выпячивание внутренней мембраны пластидной оболочки. Рассмотрена возможная роль цитоскелета и пласто-скелета в формировании соответственно «наружного» и «внутреннего» выпячиваний. Сделано заключение о том, что вопросы структуры и функций стромул в растительных клетках надо рассматривать в единстве со структурой и функциями внутриполостного пространства эндоплазматического ретикулума.

Ключевые слова: *Triticum aestivum* L., клетки корня, пластиды, стромулы, эндоплазматический ретикулум, электронная микроскопия.

Принятые сокращения: ЭР — эндоплазматический ретикулум, GFP — green fluorescent protein.

С помощью конфокальной лазерной сканирующей микроскопии у пластид в живых растительных клетках были обнаружены динамичные тонкие выпячивания мембранной оболочки. Наблюдаемые выпячивания внешне были похожи на исходящие из органоида длинные изгибающиеся щупальца, вытягивающиеся на расстояния, часто намного превышающие размеры самого органоида (Köhler et al., 1997). В последующих исследованиях такие динамичные выпячивания — трубочки, имеющие в диаметре 0.35—0.85 мкм, из-за предполагаемого заполнения их внутренней полости пластидной стромой были названы стромулами (Köhler, Hanson, 2000). Стромулы — это высокодинамичные структуры. Они быстро изменяют длину и форму и варьируют от коротких выступов до линейных или разветвленных структур вплоть до 220 мкм в длину (Waters et al., 2004), иногда соединяя различные пластиды в той же клетке. Изображения динамичных стромул в реальном времени, полученные с помощью конфокальной микроскопии или с помощью видеотехники, скомбинированной с дифференциальной интерференционной микроскопией при фазовом контрасте, стали широко доступны благодаря записям на DVD-дисках (Gunning, 2007).

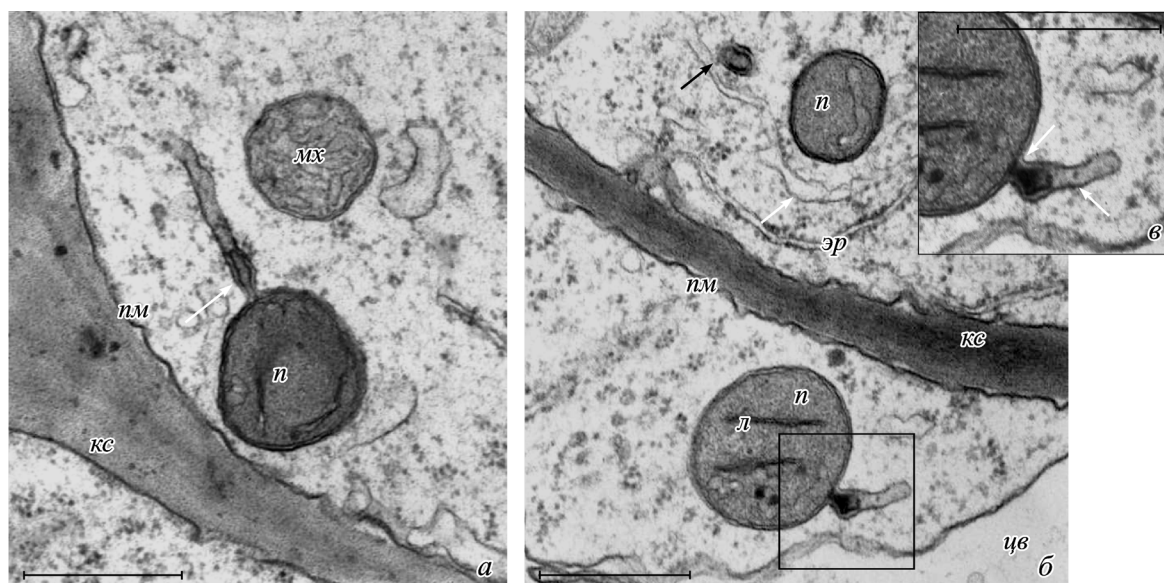
Структура и свойства стромул стали активно исследоваться благодаря легкости, с которой их можно визуализировать в трансгенных растениях с введенным в строму пластид белком, флуоресцирующим зеленым светом (GFP). Сформировалось представление о том, что стромулы — это не содержащие тилакоидов трубчатые выпячивания стромы, ограниченные двумя мембранами оболочки пластид (Gray et al., 2001; Natesan et al., 2005; Hanson, Sattarzadeh, 2008).

Проблемы функционального назначения стромул в последнее десятилетие активно обсуждаются в литерату-

ре (Gray et al., 2001; Kwok, Hanson, 2004a; Gunning, 2005; Natesan et al., 2005; Holzinger et al., 2007a, 2007b; Hanson, Sattarzadeh, 2008), однако авторы перечисленных работ сходятся во мнении, что функции стромул, особенно тех, которые не соединяют пластиды, до сих пор являются предметом предположений, равно как и условия, вызывающие появление стромул. Был осуществлен критический анализ современных экспериментальных данных о структуре стромул (Гамалей, 2004, 2006, 2009; Великанов, 2009). По результатам такого анализа было сделано заключение о том, что доминирующее представление о двух мембранах в оболочке стромул, равно как и о заполнении внутренней стромул стромой самих пластид, может быть подвергнуто ревизии, и представлена альтернативная гипотеза о том, что оболочкой стромул может быть мембрана эндоплазматического ретикулума (ЭР).

Стромулы наблюдали во всех растениях, исследованных на их присутствие, и нет причины думать, что стромулы не являются нормальным свойством всех растительных видов (Natesan et al., 2005). Однако у хлоропластов в мезофилле листьев некоторых видов растений, например томата (Pyke, Howells, 2002), короткие стромулы выявлялись очень редко, но они были более длинными и многочисленными в органах тех же растений с незелеными пластидами. В специальном исследовании на *Nicotiana tabacum* (Köhler, Hanson, 2000) также было установлено, что стромулы редко встречались у хлорофиллсодержащих пластид, но были количественно обильно представлены в свободных от хлорофилла пластидах, особенно в клетках лепестков цветов или в клетках корней.

Таким образом, стромулы количественно более распространены в клетках с незелеными пластидами (Köhler, Hanson, 2000; Kwok, Hanson, 2004a; Hanson, Sattarzadeh, 2008). Однако электронно-микроскопические исследова-



Два типа стромулоподобных выпячиваний мембранной оболочки пластид в паренхимных клетках центрального цилиндра корня пшеницы.

а — внутри длинного выпячивания, ограниченного одной мембраной, виден похожий на бусину и ограниченный своей мембраной фрагмент (*стрелка*), по плотности соответствующий строме пластиды и, возможно, отделившийся от стромы посредством перетяжки внутренней мембраны пластиды. *б* — выпячивание наружной мембраны пластиды, внутри которого располагается более короткое выпячивание, представляющее собой, вероятно, выпячивание стромы, ограниченное внутренней мембраной; выпячивание наружной мембраны качественно и по диаметру похоже на элемент гладкого ЭР (*белая стрелка*); *черной стрелкой* показано, возможно поперечное, сечение какого-то одного из двух типов стромулоподобных выпячиваний (*а* или *б*), исходящего либо из близлежащей на срезе пластиды, либо из пластиды, расположенной по нормали к плоскости среза. *в* — увеличена часть снимка, помещенная в *рамку*; отчетливо виден переход (*верхняя стрелка*) наружной мембраны пластиды в единственную мембрану длинной области выпячивания (*нижняя стрелка*). *цв* — центральная вакуоль, *кс* — клеточная стенка, *мх* — митохондрия, *п* — пластида, *пм* — плазматическая мембрана, *л* — ламеллярная система пластиды, *эр* — эндоплазматический ретикулум. *Масштабный отрезок* — 0.5 мкм.

ния структуры стромул, подтверждающие представление о двух мембранах в их оболочке, выполнены на зеленых клетках листьев риса (Bourett et al., 1999) или *Arabidopsis* (Holzinger et al., 2007a). Возникает вопрос о том, почему электронно-микроскопические исследования структуры стромул оказались более удачными на зеленом объекте, где из-за меньшего количества стромул вероятность того, что стромула окажется в плоскости ультратонкого среза, должна быть ниже, чем в незеленых клетках.

В настоящей работе представлены результаты визуализации с помощью электронного микроскопа стромулоподобных выпячиваний мембранной оболочки у пластид в клетках корня с первоочередной задачей — обсудить выявленные нами случаи возникновения длинного выпячивания наружной мембраны, внутри которого располагалось существенно более короткое выпячивание внутренней мембраны пластидной оболочки.

Материал и методика

В работе использовали корни 5-суточных проростков пшеницы *Triticum aestivum* L. сорта Люба, выращенные в темноте на дистиллированной воде с добавкой CaCl_2 (0.25 мМ). За 16 ч до опытов включали свет (люминесцентный, 10 тыс. лк). При этом свет получали все органы проростков, в том числе и корни.

Для электронно-микроскопических исследований брали отрезки корней длиной 2 мм, отступая на 9 мм от кончика корня. Образцы фиксировали сразу после отсечения в 2.5%-ном растворе глутаральдегида (Serva, Германия) на 0.1 М фосфатном буфере (0.2 мМ NaH_2PO_4 и 0.2 мМ Na_2HPO_4 , pH 7.3) в течение 2 ч. Постфиксацию

осуществляли в 1%-ном растворе четырехоксида осмия на том же буфере с добавлением сахарозы (25 мг/мл) в течение 2 ч. Затем образцы дегидрировали, используя этиловый спирт, ацетон и окись пропилена, и полимеризовали в эпоксидной смоле Эпон-812 (Serva, Германия) при 37, 45 и 60 °C в течение 3 сут. Срезы получали на ультрамикротоме LKB-III и контрастировали насыщенным водным раствором уранил-ацетата в течение 10 мин при 60 °C, а затем цитратом свинца 10 мин при комнатной температуре. Препараты просматривали на электронном микроскопе Jem-1200EX (Joel Ltd., Япония). Опыт повторяли трижды.

Результаты

Планируя исследования морфологии пластид в клетках корня, мы обратили внимание на ряд существующих предположений об условиях формирования стромул. В частности, на предположение о том, что причиной появления у хлоропластов коротких и более широких, чем «истинные» стромулы, бестилакоидных выпячиваний стромы могут явиться неблагоприятные факторы внешней среды — высокая температура, условия высокогорья и т. п. (Holzinger et al., 2007a, 2007b). Предположили также, что наблюдаемые широкие выпячивания могут быть ранней стадией формирования стромул. Продолжает ли широкое выпячивание становиться стромулой более типичных длины и диаметра, может зависеть от неизвестных факторов, которые вызывают рост стромул (Holzinger et al., 2007a). В клетках генетически трансформированного растения *Arabidopsis thaliana* с мутацией гена деления хлоропластов обнаружили аномально узкие стро-

мулы (40—50 нм в диаметре) (Holzinger et al., 2008). Причины появления у хлоропластов широких или узких бесстилакоидных выпячиваний оболочки, равно как и причины формирования истинных стромул, являются предметом предположений (Gray et al., 2001; Kwok, Hanson, 2004a; Gunning, 2005; Natesan et al., 2005; Holzinger et al., 2007a, 2007b; Hanson, Sattarzadeh, 2008), однако условия внешней среды, вероятно, играют в этом какую-то роль. Это обстоятельство вселяло нам надежду на то, что некоторые переходные режимы функционирования растения могут инициировать начальный процесс образования стромул.

Наиболее показательными в этом смысле оказались опыты, выполненные на этиолированных проростках пшеницы, за 16 ч до фиксации растительного материала подвергшихся воздействию света. Свет получали все органы проростков, в том числе и корни. Исследовали клетки паренхимы центрального цилиндра корня. Пластиды исследуемых клеток имели преимущественно округлую форму с двумя мембранами в оболочке. Их строма менее прозрачна, чем матрикс митохондрий. Внутри пластид уже начала формироваться ламеллярная система (см. рисунок, *а*). В морфологии 2 из 450 просмотренных в трех повторах опыта пластид были обнаружены узкие стромулоподобные выпячивания мембранной оболочки. Оба выявленных в разных повторах опыта выпячивания простирались на расстояния, сопоставимые с размером основного тела пластиды и имели ширину (диаметр) 45—55 нм (см. рисунок, *а, б*). Примерно такую же ширину (диаметр) имеют трубчатые элементы ЭР, в особенности гладкий ЭР, на который указывает *белая стрелка* на рисунке, *б*. На увеличенном фрагменте клетки (см. рисунок, *в*) хорошо видно выпячивание внешней мембраны пластиды, внутри которого располагается более короткое выпячивание, представляющее собой, возможно, выпячивание стромы, ограниченное внутренней мембраной. На рисунке, *в* отчетливо виден переход внешней мембраны пластиды (показан *верхней стрелкой*) в единственную мембрану длинной области выпячивания, на которую указывает *нижняя стрелка*. На рисунке, *а* виден похожий на вздутие (бусину) и ограниченный мембраной фрагмент, по плотности соответствующий строме пластиды (указан *стрелкой*), возможно начавший отделяться от стромы посредством перетяжки мембраны и находящийся внутри длинного выпячивания, ограниченного одной мембраной. *Темная стрелка* на рисунке, *б* указывает, возможно, на поперечное сечение выпячивания, подобного одному из двух представленных, но исходящего либо из близлежащей на срезе пластиды, либо из пластиды, расположенной по нормали к плоскости среза. При этом плоскость сечения проходит либо по области выпячивания с начавшим отделяться фрагментом стромы (аналог области, на которую указывает *стрелка* на рисунке, *а*), либо по области выпячивания самой стромы (аналог области, на которую указывает *верхняя стрелка* на рисунке, *в*).

Обсуждение

Главной причиной, препятствующей надежной визуализации стромул с помощью электронного микроскопа, исследователи считают очень малую вероятность попадания в плоскость среза фиксированного материала достаточно длинного участка исходно динамичной извивающейся в пространстве клетки стромулы вместе с малой

зоной непосредственного выхода тонкой трубочки-стромулы из органоида. Действительно, даже для получения изображения стромул с помощью конфокальной микроскопии часто возникала потребность сложения многочисленных оптических срезов, т. е. фактически изображение приходилось реконструировать из большого числа конфокальных срезов (Hanson, Sattarzadeh, 2008). По этой причине низкая встречаемость на срезах клеток обнаруженных нами стромулоподобных выпячиваний мембранной оболочки у пластид не может быть аргументом против их существования и важной роли в жизнедеятельности клеток в корне.

Описанные в литературе стромулы пластид очень динамичны в пространстве клетки, часто меняют длину и направление (Köhler et al., 1997; Gunning, 2007; Hanson, Sattarzadeh, 2008). Было показано, что движение и морфология стромул контролируются и обеспечиваются ассоциированными с ними элементами цитоскелета (Kwok, Hanson, 2003, 2004b; Natesan et al., 2005; Gunning, 2007). Тесную ассоциацию стромул и микрофиламентов цитоплазмы наблюдали с помощью дифференциальной интерференционной сканирующей микроскопии (Gunning, 2007), а также устанавливали, анализируя взаимодействие между GFP-мечеными микрофиламентами и стромулами (Kwok, Hanson, 2003, 2004b). Предполагается, что движение стромул зависит не только от актинового цитоскелета, но и от АТФазной активности миозина (Gray et al., 2001; Natesan et al., 2005). Стромулы двигаются по сети микрофиламентов, как по рельсам (Gunning, 2007). Существует некоторое доказательство того, что не только движение, но и само формирование стромул зависит от активности элементов цитоскелета (Kwok, Hanson, 2003, 2004b).

Известно также, что внутри пластид содержатся белки, подобные цитоскелетным белкам, которые, в частности, вовлечены в деление хлоропластов (Kwok, Hanson, 2004a; Glynn et al., 2007). Появились данные о существовании в пластидах соответствующей сети пластоскелета (Reski, 2002; Gremillon et al., 2007). Требуется ли белки пластоскелета для формирования стромул, неизвестно, однако предполагается, что стромулы могут быть сформированы или изнутри белками пластоскелета, выталкиваемыми стромой из тела пластиды, или снаружи элементами цитоскелета, прикрепленными к наружной мембране оболочки и вытягивающими ее от основного пластидного тела (Hanson, Sattarzadeh, 2008). Гипотеза «вытягивания» для формирования стромулы с двумя мембранами в оболочке требует, чтобы внутренняя и внешняя мембраны оболочки пластиды были жестко связаны между собой. Хотя некоторые сайты связи между двумя этими мембранами действительно существуют (Schnell, Blobel, 1993), механизм простого вытягивания для формирования стромулы с двумя мембранами в ее оболочке маловероятен, поскольку широко известно, что две мембраны оболочки пластиды могут быть отделены небольшим осмотическим градиентом.

Структура стромулоподобных выпячиваний из пластид, представленных на рисунке, в связи с вышесказанным, наводит на мысль, что и цитоскелет, и пластоскелет могут быть ответственными за формирование стромул. По-видимому, имеет место случай формирования опережающего по длине выпячивания наружной мембраны оболочки пластиды с отставанием соответствующего выпячивания стромы (см. рисунок, *б*), т. е. могут работать как механизм вытягивания снаружи, так и как механизм

выталкивания изнутри. Искривленный, клювоподобный вид выпячивания наружной мембраны (см. рисунок, б), возможно, является следствием того, что движущие силы «наружного» и «внутреннего» выпячиваний временно работают в несколько различающихся направлениях. Это дополнительно может свидетельствовать о разной природе соответствующих движущих сил.

Электронно-микроскопические исследования структуры стромул, подтверждающие представление о двух близко расположенных мембранах в их оболочке, а также о полном (плотном) заполнении их внутреннего пространства пластидной стромой, выполнены на зеленых клетках листьев риса (Bourett et al., 1999), или *Arabidopsis* (Holzinger et al., 2007a). В литературе также представлено большое количество полученных с помощью электронного микроскопа визуализаций более широких и более узких, чем истинные стромулы, выпячиваний пластидной оболочки, не содержащих тилакоидов и полностью (плотно) заполненных стромой (Holzinger et al., 2007a, 2007b; Lutz, Engel, 2007). Однако все эти исследования выполнены на фотосинтезирующих клетках. В нефотосинтезирующих клетках при исследованиях оптическими методами наблюдалась несколько иная картина заполнения внутреннего пространства стромул. Так, в зрелых плодах трансгенного томата с внедренным в строму пластид GFP наблюдали присутствие цепочки бусиноподобных структур, которые явно были не связаны друг с другом и с телом пластиды (хромопласта). Другими словами, стромулы представляли собой гирлянду отдельных флуоресцирующих фрагментов (бусин) стромы, содержащих GFP (Pyke, Howells, 2002). Иногда отдельные GFP-содержащие бусины были отдалены от тела пластиды и не имели очевидной связи с ним (Pyke, Howells, 2002).

Нельзя исключать, что подобный фрагмент стромы (бусина) начал формироваться внутри выпячивания наружной мембраны пластидной оболочки (стрелка на рисунке, а). Имея в виду данные из литературы (Pyke, Howells, 2002), можно также предполагать, что такие бусиноподобные выпячивания стромы могут находиться на разном расстоянии от начала выпячивания и попасть в плоскость ультратонкого среза на некотором удалении от пластиды (черная стрелка на рисунке, б).

С помощью двухфотонной корреляционной спектроскопии было выполнено детальное изучение вопроса о транспорте GFP через стромулы в суспензионной культуре клеток табака (Köhler et al., 2000). В результате проведенных исследований внутри стромул были выявлены отдельные «пучки» GFP молекул. Предполагается, что такие пучки являются мембранными везикулами, содержащими GFP (Köhler et al., 2000; Pyke, Howells, 2002; Великанов, 2009). На везикулярную структуру внутренности стромул обращали внимание ранее (Hanson, Sattarzadeh, 2008) и обсуждали вопрос о том, что в стромулах могут содержаться как крупные бусиноподобные структуры, отмеченные выше, так и более мелкие группы флуоресцентных молекул GFP (Pyke, Howells, 2002). С содержимым стромы (с молекулами GFP, внедренными именно в строму) как мелкие везикулы (не видимые световой оптикой), так и более крупные бусины, выявляемые в оптических исследованиях (Pyke, Howells, 2002), могут отшнуровываться только от внутренней мембраны пластид (Великанов, 2009). Возможно, именно в использовании механизма активного отшнуровывания (выталкивания) везикул или более крупных фрагментов внутренней мембраны с заключенными в них элементами стромы может

заключаться роль пластоскелета в формировании стромул — имеет место специфический экзоцитоз.

Наиболее важной из предполагаемых функций стромул является их транспортная функция — способность транспортировать элементы стромы между пластидами (Köhler et al., 1997; Gunning, 2005) и, возможно, в другие компартменты клетки и даже в соседние клетки (Kwok, Hanson, 2004c). Вполне вероятно, что наличие свободного пространства (не занятого стромой) внутри выпячивания наружной мембраны (см. рисунок, а, б) может быть характерно только для стромул нефотосинтезирующих пластид, у которых потребность в экспорте ассимилятов может быть значительно ниже, чем у хлоропластов. Подтверждение тому, что внутреннее пространство стромул у нефотосинтезирующих пластид может быть не полностью занято стромой, можно усмотреть в результатах наблюдения отдельных, не связанных с пластидой бусин GFP в клетках зрелых плодов томата (Pyke, Howells, 2002). Стромулы, полностью заполненные пластидной стромой и с двумя близко расположенными мембранами в оболочке, с помощью электронного микроскопа наблюдали у фотосинтезирующих пластид (Bourett et al., 1999; Holzinger et al., 2007a, 2007b; Lutz, Engel, 2007). По-видимому, необходимо иметь в виду разные причины, вызывающие выпячивания наружной и внутренней мембран пластидной оболочки. У фотосинтезирующих пластид для обеспечения оттока большого количества фотоассимилятов лидерство в формировании стромул может принадлежать пластоскелету — стромулы полностью заполнены стромой, выпячиваются обе мембраны одновременно. У нефотосинтезирующих пластид может доминировать запрос на ассимиляты со стороны других органоидов клетки, реализуемый цитоскелетом, — внутреннее пространство выпячивания наружной мембраны пластидной оболочки заполняется содержимым стромы с отставанием от запроса или дискретно или вообще долго не заполняется.

Подтверждение высказанным соображениям о доминирующей роли пластоскелета в формировании стромул у фотосинтезирующих пластид можно усмотреть в следующих фактах. 1. Прямая информация о заякоривании стромул на цитоскелет получена на незеленых пластидах в эпидермальных клетках гипокотыля *Nicotiana tabacum* (Kwok, Hanson, 2003) или *Arabidopsis* (Kwok, Hanson, 2004b), растущих в темноте. 2. В зеленых клетках исследована связь с цитоскелетом только для самих пластид, а не стромул (Malec et al., 1996; Yokota et al., 2001; Holweg, Nick, 2004; Wang, Pesacreta, 2004). 3. Элементы цитоскелета (ни актиновые, ни тубулиновые) не были вовлечены в образование и морфологию широких бестилакоидных хлоропластных выпячиваний в клетках листьев *Oxyria digyna* (Holzinger et al., 2007b), а сообщений, свидетельствующих о важной роли цитоскелета в образовании и подвижности стромул у хлоропластов зеленых клеток, мы в литературе не нашли. Напрашивается почти естественное объяснение этим фактам: в фотосинтезирующих клетках пластоскелет действительно доминирует над цитоскелетом в процессе формирования стромул, и существенной необходимости в заякоривании на цитоскелет стромул, образующихся при фотосинтезе, просто не существует.

Заслуживает внимания и тот факт, что у пластид корневых клеток в наших исследованиях наблюдались стро-мулоподобные выпячивания, по размерам соответствующие диаметру трубчатых элементов ЭР и не отличимые от гладкого ЭР по внешнему виду (см. рисунок, а, б). Вполне вероятно, что именно в этом факте может быть за-

ключен ответ на вопрос, сформулированный во вступительном разделе настоящей работы: стромулы нефотосинтезирующих пластид на ультратонких срезах трудно или вообще невозможно отличить от трубчатых элементов ЭР. Не случайно было отмечено, что в суспензионных клетках табака разветвленная сеть стромул подобна сложно запутанной сети ЭР (Köhler, Hanson, 2000). Если сравнить имеющиеся в литературе описания динамики ЭР и взаимодействия его с цитоскелетом (см., например: Voeltz et al., 2002) с описанием динамики стромул и их связи с цитоскелетом (см., например: Hanson, Sattarzadeh, 2008), то вряд ли можно обнаружить разницу в предметах исследования. Создается впечатление, что разные исследователи независимо друг от друга описывают одну и ту же внутриклеточную структуру.

Стромулы обычно визуализируются как трубочки, исходящие из пластиды, но иногда тонкие трубчатые GFP-меченые структуры видны так, что не выглядят прикрепленными к телу пластиды (Pyke, Howells 2002; Hanson, Sattarzadeh, 2008). Это явление было названо *tip shedding* (Gunning, 2005). Судьба отделившегося куска стромулы неизвестна (Hanson, Sattarzadeh, 2008). Драматизм этих наблюдений свидетельствует о том, что такие отделившиеся куски стромул и трубочки ЭР на ультратонких срезах клеток могут быть неразличимы по внешнему виду.

Здесь будет полезно не обойти вниманием еще одно интересное наблюдение. Мы имеем в виду DVD-сюжет в позиции 14.1.5. (Gunning, 2007). ЭР был помечен GFP и визуализирован конфокальной микроскопией. На видеосюжете отчетливо видно, что крупные красные хлоропласты (естественное свечение) плотно обжаты зеленой ниточкой мембраны ЭР (флуоресценция GFP). Если отсутствуют какие-либо артефакты в методике или специфичности GFP-мечения мембраны ЭР, это наблюдение может оказаться сильным аргументом в пользу более категоричного заключения — наружная мембрана пластиды является мембраной ЭР.

Представление о тождестве наружной мембраны стромул мембране ЭР может быть корректно еще и по следующей причине. Трудно представить, что стромулы — очень динамичные, быстро изменяющие длину и вытягивающиеся на большие расстояния от пластид мембранные структуры — формируются только за счет механической эластичности мембран. Нужна быстрая поставка строительного материала. Липиды синтезируются на ЭР. Если наружная мембрана стромул является мембраной ЭР, проблема устраняется автоматически. Строительный материал на удлинение наружной мембраны стромулы может поставляться быстрой латеральной диффузией, а на удлинение (выталкивание) внутренней — транспортом липидов с наружной мембраны оболочки пластиды на внутреннюю через узкую щель (Holthuis, Levine, 2005).

В настоящем сообщении мы акцентировали внимание на стромулоподобных выпячиваниях наружной мембраны оболочки пластид в клетках корня. Высказанные здесь соображения о структуре и механизмах формирования стромул, безусловно, нуждаются в тщательной экспериментальной проверке по многим аспектам. Однако вряд ли подлежит сомнению, что при такой проверке проблемы структуры и функций стромул в растительных клетках надо рассматривать в единстве с проблемами структуры и транспортно-распределительной функции внутриклеточного пространства ЭР. Возможно, гипотеза о

локализации пластид внутри ЭР (Гамалей, 1994, 1997, 2006, 2009) получает новый стимул.

Работа выполнена при финансовой поддержке бюджета РАН.

Список литературы

- Великанов Г. А. 2009. Стромулы: их природа, структура и функции в растительной клетке. Биол. мембраны. 26 (6): 468—478.
- Гамалей Ю. В. 1994. Эндоплазматическая сеть растений. Происхождение, структура, функции. СПб.: Наука. 80 с.
- Гамалей Ю. В. 1997. Надклеточная организация растений. Физиол. раст. 44 (6): 819—846.
- Гамалей Ю. В. 2004. Транспортная система сосудистых растений. СПб.: Изд-во СПб. ун-та. 424 с.
- Гамалей Ю. В. 2006. Подвижная сетевая организация пластид и митохондрий в клетках растений. Цитология. 48 (4): 271—282.
- Гамалей Ю. В. 2009. Природа пищевого тракта сосудистых растений. Цитология. 51 (5): 375—387.
- Bourett T. M., Czymmek K. J., Howard R. J. 1999. Ultrastructure of chloroplast protuberances in rice leaves preserved by high-pressure freezing. *Planta*. 208: 472—479.
- Glynn J. M., Miyagishima S., Yoder D. W., Osteryoung K. W., Vitha S. 2007. Chloroplast division. *Traffic*. 8: 451—461.
- Gray J. C., Sullian A., Hibbert M., Hansen M. R. 2001. Stromules: mobility protrusions and interconnections between plastids. *Plant Biol*. 3: 223—233.
- Gremillon L., Kiessling J., Hause B., Decker E. L., Reski R., Sarmighausen E. 2007. Filamentous temperature-sensitive Z (FtsZ) isoforms specifically interact in the chloroplasts and in the cytosol of *Physcomitrella patens*. *New Phytologist*. 176: 299—310.
- Gunning B. E. S. 2005. Plastid stromules: video microscopy of their outgrowth, retraction, tensioning, anchoring, branching, bridging, and tip-shedding. *Protoplasma*. 225: 33—42.
- Gunning B. E. S. 2007. Plant cell biology on DVD: information for students and a resource for teachers, July 2007. www.plant-cellbiologyondvd.com.
- Hanson M. R., Sattarzadeh A. 2008. Dynamic morphology of plastids and stromules in angiosperm plants. *Plant Cell and Environment*. 31: 646—657.
- Holthuis J. C. M., Levine T. P. 2005. Lipid traffic: floppy droves and superhighway. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol*. 6: 209—220.
- Holweg C., Nick P. 2004. *Arabidopsis* myosin XI mutant is defective in organelle movement and polar auxin transport. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 101: 10 488—10 493.
- Holzinger A., Buchner O., Lütz C., Hanson M. R. 2007a. Temperature-sensitive formation of chloroplast protrusions and stromules in mesophyll cells of *Arabidopsis thaliana*. *Protoplasma*. 230: 23—30.
- Holzinger A., Kwok E., Hanson M. R. 2008. Effects of *arc3*, *acc5* and *arc6* mutations on plastid morphology and stromule formation in green and nongreen tissues of *Arabidopsis thaliana*. *Photochem. Photobiol.* 84: 1324—1335.
- Holzinger A., Wasteneys G. O., Lütz C. 2007b. Investigating cytoskeletal function in chloroplast protrusion formation in the alpine plant *Oxyria digyna*. *Plant Biol*. 9: 400—410.
- Köhler R. H., Cao J., Zipfel W. R., Webb W. W., Hanson M. R. 1997. Exchange of protein molecules through connections between higher plant plastids. *Science*. 276: 2039—2042.
- Köhler R. H., Hanson M. R. 2000. Plastid tubules of higher plant are tissue-specific and developmentally regulated. *J. Cell Sci*. 113: 81—89.
- Köhler R.H., Schwille P., Webb W.W., Hanson M.R. 2000. Active protein transport through plastid tubules: velocity quantified by fluorescence correlation spectroscopy. *J. Cell Sci*. 113: 3921—3930.
- Kwok E., Hanson M. R. 2003. Microfilaments and microtubules control the morphology and movement of non-green plastids and stromules in *Nicotiana tabacum*. *Plant J*. 35: 16—26.

- Kwok E., Hanson M. R. 2004a. Stromules and the dynamic nature of plastid morphology. *J. Microsc.* 214 : 124—137.
- Kwok E., Hanson M. R. 2004b. In vivo analysis of interaction between GFP-labeled microfilaments and plastid stromules. *BMC Plant Biol.* 4: 2; <http://www.biomedcentral.com/1471-2229/4/2>.
- Kwok E., Hanson M. R. 2004c. Plastid and stromules interact with the nucleus and cell membrane in vascular plants. *Plant Cell Rep.* 23 : 188—195.
- Lutz C., Engel L. 2007. Change in chloroplast ultrastructure in some high-alpine plants: adaptation to metabolic demands and climate? *Protoplasma.* 231 : 183—192.
- Malec P., Rinalgi R. A., Gabrys H. 1996. Light-induced chloroplast movement in *Limna trisulca*. Identification of the motile system. *Plant Sci.* 20 : 127—137.
- Natesan S. K. A., Sullivan J. A., Gray J. C. 2005. Stromules: a characteristic cell-specific feature of plastid morphology. *J. Exp. Bot.* 56 : 787—797.
- Pyke K. A., Howells C. A. 2002. Plastid and stromules morphogenesis in tomato. *Ann. Bot.* 90 : 559—566.
- Reski R. 2002. Rings and networks: the amazing complexity of FtsZ in chloroplasts. *Trends Plant Sci.* 7 : 103—105.
- Schnell D. J., Blobel G. 1993. Identification of intermediates in the pathway of protein import into chloroplasts and their localization to envelope contact sites. *J. Cell Biol.* 120 : 103—115.
- Voeltz G. K., Rolls M. M., Rapoport T. A. 2002. Structural organization of the endoplasmic reticulum. *EMBO Rep.* 3 : 944—950.
- Wang Z. Y., Pesacreta T. C. 2004. A subclass of myosin XI is associated with mitochondria, plastids, and the molecular chaperone subunit TCP-1a in maize. *Cell Motil. Cytoskeleton.* 57 : 218—232.
- Waters M. T., Fray R. G., Pyke K. A. 2004. Stromule formation is dependent upon plastid size, plastid differentiation status and the density of plastids within the cell. *Plant J.* 39 : 655—667.
- Yokota E., Sonobe S., Orli H., Yuasa T., Inada S., Shimmen T. 2001. The type and the localization of 175 kDa miosin in tobacco cultured cell BY-2. *J. Plant Res.* 114 : 115—116.

Поступила 15 VII 2010

STROMULES-LIKE PROTRUSIONS OF THE MEMBRANE ENVIRONMENT OF PLASTIDS
IN THE ROOT CELLSG. A. Velikanov,¹ A. A. Ponomareva, L. P. Belova, T. M. Il'inaKazan Institute of Biochemistry and Biophysics, Kazan Scientific Center RAS;
¹ e-mail: velikanov@mail.kcn.ru

The results of visualization of the stromules-like protrusions of the membrane environment of plastids in the root cells with the help of an electronic microscope are submitted. The cases of occurrence of long narrow protrusion of the external membrane with more short protrusion of the internal membrane of plastid environment inside it are discussed. The possible role of cytoskeleton and plastoskeleton in formation, accordingly, of «external» and «internal» protrusions is considered. The conclusion that the structure and functions of stromules in plant cells should be considered in unity with the structure and functions of the endoplasmic reticulum internal space is made.

Key words: *Triticum aestivum* L., root cells, plastids, stromules, endoplasmic reticulum, electron microscopy.