

Н. В. БЕЛИЦЕР

ВАКУОЛЯРНАЯ СИСТЕМА КАК ЛИЗОСОМНЫЙ АППАРАТ РАСТИТЕЛЬНОЙ КЛЕТКИ

(Представлено академиком А. В. Палладиным 17 V 1971)

До сих пор нет единого мнения о структуре и функциях лизосом растительных клеток. По данным литературы, роль аналогов лизосом могут выполнять сферосомы (¹⁻³), микротела (⁴), кристаллсодержащие тельца (⁵), вакуоли (⁶⁻⁷). Обнаруженные с помощью световой микроскопии органеллы, обладающие гидролазной активностью или окрашивающиеся прижизненно нейтральным красным, часто называют «лизосомоподобными частицами» (^{8, 9}). В то же время некоторые авторы приходят к выводу об отсутствии морфологически различимых лизосом в растительных объектах (¹⁰).

Проведенное нами электронномикроскопическое изучение автолиза клеточных органелл, липидных включений и фрагментов цитоплазмы позволило уточнить некоторые закономерности этого процесса и выяснить роль в его осуществлении отдельных структурных компонентов растительной клетки.

Объектом исследования были клетки культуры ткани трех видов высших растений — *Harporappus gracilis*, *Crepis capillaris* и *Nicotiana tabacum*. Материал фиксировали 3% глутаральдегидом на фосфатном буфере (рН 6,9), дофиксировали 2% OsO₄ на том же буфере или 2% водным раствором KMnO₄, обезвоживали в сериях этанола и заливали в эпон или метакрилат. Срезы на сетках контрастировали цитратом свинца.

Анализ отдельных и серийных срезов органелл на разных стадиях автолиза позволил получить представление о динамике процесса их деструкции. Полученные данные можно интерпретировать следующим образом: подлежащая автолизу пластида или митохондрия сближается с мелкой (0,1—0,5 м в диаметре) вакуолью до соприкосновения их поверхностей; в месте контакта мембраны сливаются, после чего литический очаг распространяется внутри органеллы, оставаясь локализованным в пределах замкнутой системы, ограниченной слившимися мембранами (рис. 1а, б, в, г, ж). Замещение структурированного внутреннего содержимого органеллы электроннопрозрачной бесструктурной зоной, по-видимому, свидетельствует о переваривании его кислыми гидролитическими ферментами, присутствующими в растительных вакуолях (^{6, 7}), вплоть до образования низкомолекулярных воднорастворимых продуктов гидролиза. Процесс этот заканчивается превращением пластид и митохондрий в светлые вакуолеподобные структуры, иногда содержащие остатки мембран (рис. 1в). Гидролитическое переваривание липидных глобул, вероятно, происходит аналогичным образом (рис. 1з).

Происхождение вакуолей, непосредственно осуществляющих автолиз отдельных клеточных органелл, по нашим данным, связано не с эндоплазматическим ретикулулом, а преимущественно с аппаратом Гольджи, что хорошо согласуется с результатами выявления активности некоторых гидролитических ферментов в цистернах и производных диктиосом (^{7, 11, 12}). Присутствующие в тех же клетках вакуоли, образующиеся из

локальных расширений эндоплазматического ретикулума, часто достигают более крупных размеров, сохраняя связь с каналами шероховатого и гладкого ретикулума. Возможно, это до некоторой степени ограничивает их подвижность, а следовательно, и вероятность столкновения с подлежащими автолизу структурами; кроме того, концентрация гидролаз в таких вакуолях может быть значительно меньшей, чем в вакуолях аппарата Гольджи, специфически аккумулирующего и транспортирующего эти ферменты как в животных (¹³), так, по-видимому, и в растительных клетках (⁷, ¹⁴). Различия в происхождении, морфологии и химизме

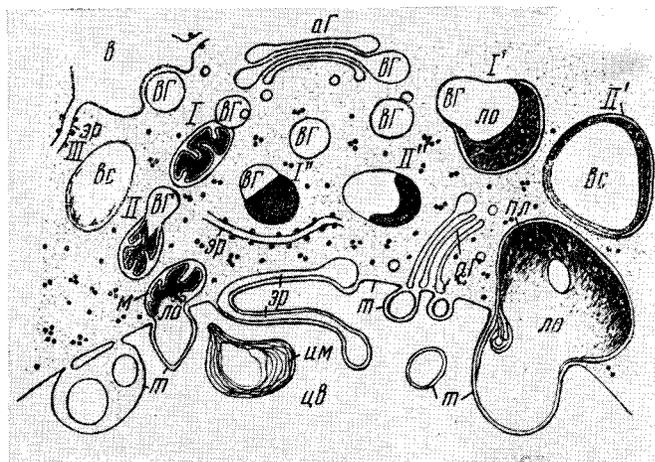


Рис. 2. Схема функциональной организации лизосомного аппарата растительной клетки. I, II, III — стадии гидролитического переваривания митохондрий, I', II' — плазмид, I'', II'' — липидных глобул. Обозначения те же, что и на рис. 1

вакуолей одной и той же клетки, очевидно, обуславливают и их функциональное отличие. Центральная и другие крупные вакуоли растительных клеток обладают способностью захватывать разрушающиеся митохондрии (рис. 1г), плазмиды (рис. 1ж), участки цитоплазмы (рис. 1е), фрагменты эндоплазматического ретикулума (рис. 1д), а также частично переваренные или интактные липидные глобулы. Образующий инвагинации тонопласт выполняет при этом функцию секреторно-экскреторного органа. В крупных вакуолях происходит постепенное завершение автолиза различных структур, что иногда приводит к накоплению большого количества интравакуолярных мембран, относительно резистентных к перевариванию (рис. 1и). Продуцируемые аппаратом Гольджи везикулы и вакуоли также могут включаться в центральную вакуоль и крупные вакуолеобразные расширения эндоплазматической сети, обогащая их содержимое гидролитическими ферментами.

Результаты проведенного исследования обобщены на схеме последовательных стадий автолиза митохондрий, плазмид и липидных глобул, осуществляемого вакуолями аппарата Гольджи, и включения различных цитоплазматических компонентов в центральную вакуоль (рис. 2).

Суммируя изложенное, можно утверждать, что совокупность всех элементов вакуольной системы функционирует как единый лизосомный аппарат растительной клетки. Кислые гидролитические ферменты, синтезируемые на рибосомах гранулярного эндоплазматического ретикулума, по-видимому, поступают в аппарат Гольджи с помощью каналов и цистерн гладкого ретикулума. Здесь происходит аккумуляция их и затем секреция с противоположной стороны диктиосомы в составе отде-

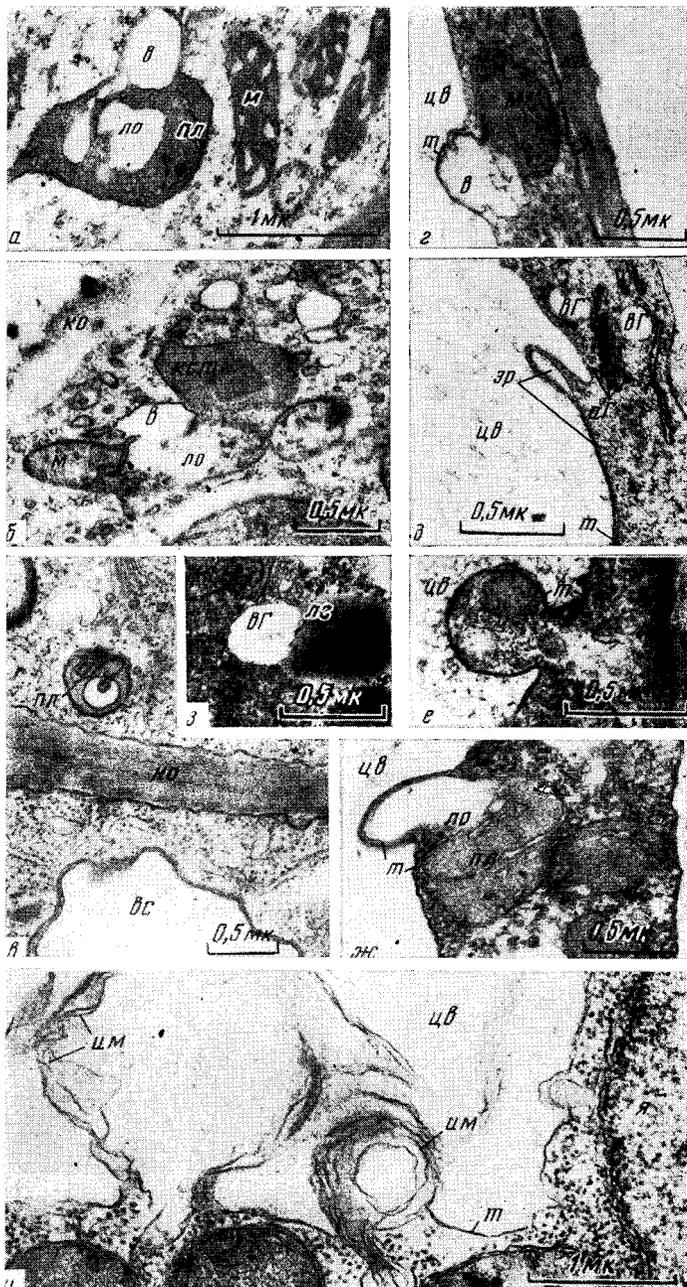


Рис. 1. Автолитические процессы в клетках культуры ткани высших растений. а — автолиз пластиды; б — автолиз митохондрии; в — завершение автолиза пластиды; г — ж — включение разрушающихся цитоплазматических компонентов в центральную вакуоль; з — автолиз липидной глобулы; и — интравacuолярные мембраны в центральной вакуоли. аГ — аппарат Гольджи; в — вакуоль; вГ — вакуоль Гольджи; вс — вакуолеподобная структура; ил — интравacuолярные мембраны; ко — клеточная оболочка; кст — кристаллосодержащее тельце; лг — липидная глобула; ло — литический очаг; м — митохондрия; лл — пластида; т — тонопласт; цв — центральная вакуоль; эр — эндоплазматический ретикулум; я — ядро.

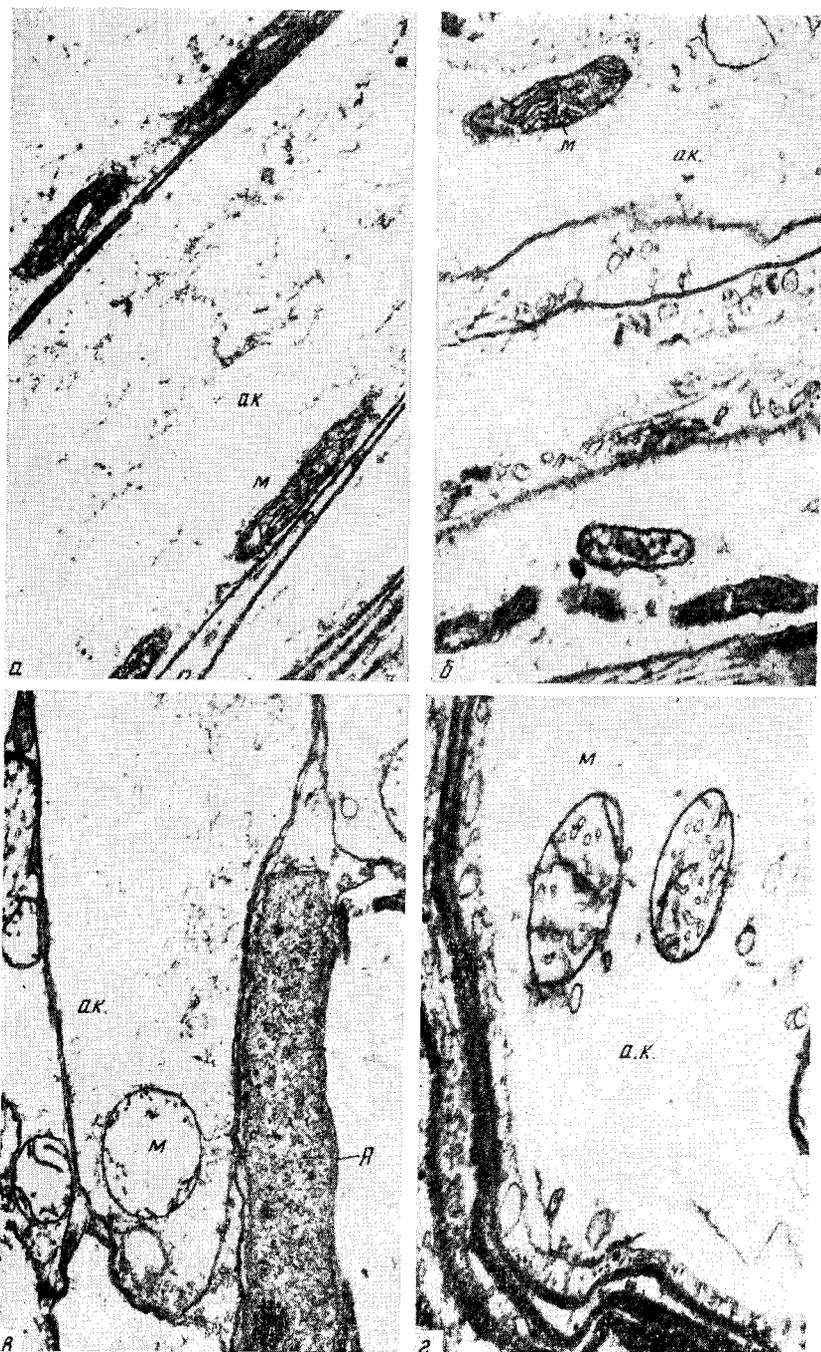


Рис. 1. *а* — нерв, подвергавшийся действию 5-минутного раздражения, 22 000 \times ; *б* — раздражавшийся в состоянии непроводимости, вызванной действием постоянного тока, 26 000 \times ; *в* — раздражавшийся в состоянии непроводимости, вызванной повышением температуры, 30 000 \times ; *г* — раздражавшийся в состоянии непроводимости, вызванной действием 2,4-ДНФ, 40 000 \times . *М* — митохондрии, *ак* — цитоплазма, *Я* — ядро шванновской клетки

ляющихся от краев цистерн Гольджи везикул и вакуолей. Используя терминологию, разработанную для клеток животных ⁽¹⁵⁾, обладающие гидролитической активностью производные аппарата Гольджи можно назвать первичными лизосомами. Объединенный общей мембраной комплекс вакуоли Гольджи и подвергающейся автолизу органеллы соответствует вторичной лизосоме. Вакуолеобразные структуры, являющиеся конечным результатом лизиса органелл и сохраняющие активность гидролаз, также можно отнести к группе вторичных лизосом, способных вступать в следующий цикл автолиза. Центральная вакуоль и другие крупные вакуоли растительных клеток аналогичны автофаговым вакуолям клеток животных. При этом следует отметить, что, хотя термин «автофаговая» или «автолитическая» вакуоль обычно употребляется при описании процессов автолиза как в клетках животных, так и в клетках растений ⁽¹⁶⁾, понятия эти совпадают лишь функционально. Происхождение и морфология автофаговых вакуолей у животных и растений совершенно различны. В первом случае имеется в виду окруженный одинарной или двойной мембраной участок цитоплазмы, содержание которого подвергается деструкции. В растительной же клетке роль автофаговых вакуолей выполняют крупные водные включения, окруженные одной мембраной — тонопластом, т. е. истинные вакуоли, и главным образом — центральная вакуоль. Приняв концепцию о вакуолярной системе как лизосомном аппарате растительной клетки ⁽¹⁷⁾, изолированные участки цитоплазмы, подобные автофаговым вакуолям животных клеток, лучше именовать «цитосегресомами». Этот термин точнее передает морфологическое содержание данного понятия и устраняет путаницу, неизбежно возникающую, если в вакуолизированной растительной клетке вакуолями называть также участки цитоплазмы. Выяснение механизмов образования цитосегресом, их дальнейшей судьбы и роли в процессах автолиза требует дальнейших исследований; однако наши наблюдения дают возможность предположить, что по крайней мере в некоторых случаях в цитосегресомах происходит не собственно лизис заключенных в них структур, а постепенная деградация их как результат изолированности от основной массы цитоплазмы.

Институт ботаники
Академии наук УССР
Киев

Поступило
12 V 1971

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ P. Matile, J. P. Balz et al., Zs. Naturforsch., 20, 7, 693 (1965). ² H. P. Sorokin, S. Sorokin, J. Histochem. Cytochem., 16, 12, 791 (1968). ³ C. L. Wilson, D. L. Stiers, G. G. Smith, Phytopathology, 60, 2, 216 (1970). ⁴ P. Coulomb, J. Microsc., 8, 123 (1969). ⁵ J. Cronshaw, Protoplasma, 59, 318 (1964). ⁶ P. Matile, Planta, 79, 3, 181 (1968). ⁷ N. Poux, J. Microsc., 9, 3, 407 (1970). ⁸ P. V. Gahan, A. J. Maple, J. Exp. Bot., 17, 50, 151 (1966). ⁹ P. K. Саляев, А. С. Романенко, Физиол. раст., 17, 2, 425 (1970). ¹⁰ M. Dawalder, W. G. Whally, J. E. Kerhart, J. Cell. Sci., 4, 2, 455 (1969). ¹¹ A. Nougarede, P. E. Pilet, C. R., D265, 663 (1967). ¹² L. Geneves, J. Microsc., 9, 4, 571 (1970). ¹³ D. S. Friend, M. L. Farquhar, J. Cell. Biol., 35, 2, 357 (1967). ¹⁴ J. D. Pickett-Haps, J. Ultrastr. Res., 18, 287 (1967). ¹⁵ C. de Duve, R. Wattiaux, Ann. Rev. Physiol., 28, 435 (1966). ¹⁶ Ю. В. Гамалей, Цитология, 13, 3, 278 (1971). ¹⁷ P. Matile, H. Moor, Planta, 80, 2, 159 (1968).