

УДК 576.36

ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

А. А. ШАХОВ, В. А. ЗЕНЧЕНКО, М. Б. ЧУРИНА,
Б. М. ГОЛУБКОВА, Т. Я. КОГАН

О СТРУКТУРЕ И ФУНКЦИИ ПЕРОКСИСОМ

(Представлено академиком А. Л. Курсановым 14 III 1972)

Для познания участия световой энергии в жизни растений все большее значение приобретают нефотосинтетические процессы (¹, ²). Они являются дополнительным к фотосинтезу источником увеличения энергетических ресурсов растений. Изучение механизма нефотосинтетического использования света растениями, столь важного для разработки теории фотозенергетики растений, частично следует связывать с фотодыханием.

В последнее время фотодыхание у растений предположительно связывают с особыми органеллами — пероксисомами в силу наличия в них гликолатоксидазы (³). Установленная нами чувствительность изолированных пероксисом семян клещевины к свету (⁴) является веским доводом в пользу предположения о локализации фотодыхания в пероксисомах. Сказанное побудило исследовать ультраструктуру пероксисом, реакцию их на интенсивное освещение и условия проявления их фотостимуляции и фотодыхания целых тканей клещевины.

Для электронномикроскопических исследований пероксисом (в клетках эндосперма семян клещевины через 3 дня после их прорастания) материал фиксировали 2% $KMnO_4$. Контрастирование проводили фосфорновольфрамовой кислотой, объекты заключали в эпон. Срезы получали на микротоме LKB-4801 и просматривали в электронном микроскопе JEM 5g при увеличении 28 800.

Пероксисомы (глиоксисомы) эндосперма клещевины представляют собой органоиды сферической формы с гранулярным гомогенным матриксом средней плотности, окруженным одинарной мембраной (рис. 1 а). Но встречаются пероксисомы с уплотнением в виде ядра, внутри которого содержится еще более плотная часть (рис. 1 б). В матриксе некоторых пероксисом наблюдается структура, отличающаяся от структуры матрикса (рис. 1 б).

Таблица 1

Влияние светового импульсного облучения на окислительную активность
изолированных пероксисом в отсутствие гликолата
(дат. O_2 на 1 г сырого веса эндоспермов за 1 час)

Продолжи- тельность облучения семян, мин.	Продолжи- тельность проращива- ния семян, дни	Концентра- ция кислоро- да, мМ	Поглощение кислорода		
			без облучения (контроль)	облучение	повышение поглощения кислорода между конт- ролем и облучением
10	3	0,203	0,080	0,096	0,016
10	3	0,168	0,007	0,014	0,007
30	5	0,204	0,015	0,058	0,045
30	5	0,159	0,219	0,249	0,030
30	5	0,134	0,008	0,038	0,030
Среднее	—	—	0,066	0,091	0,025 ± 0,006

Можно предположить, что эти уплотнения в матриксе являются местом концентрации ферментов подобно нуклеоидам кристаллической структуры, наблюдаемым в пероксисомах табака, содержащих каталазу⁽⁵⁾ или уратоксидазу в пероксисомах животной ткани⁽⁶⁾.

Возможно, что пероксисомы с разным состоянием сердцевин (нуклеоида), а значит с разным содержанием ферментов, отражают стадии развития этого органоида и определяют интенсивность его деятельности. Но интенсивность последней, вероятно, зависит и от влияния на пероксисомы других органоидов, с которыми имеется непосредственный контакт, ибо одни пероксисомы тесно примыкают к эндоплазматическому ретикулуму (рис. 1в), другие соприкасаются с лейкопластами (рис. 1а) и промитохондриями.

Вывявленная нами зависимость активности пероксисом от света побудила подвергнуть семена клещевины предпосевному световому импульсному облучению⁽⁸⁾. Изучение окислительной способности изолированных пероксисом^{*} показало, что облучение статистически достоверно (доверительная вероятность по Стьюденту выше 95%) повышает интенсивность эндогенного поглощения кислорода изолированными пероксисомами, которое осуществляется без добавления гликолата извне за счет внутренних эндогенных субстратов (табл. 1).

Добавление гликолата сильно (в среднем в 10 раз) и при том достоверно (в среднем на $0,600 \pm 0,148$ мк атома O_2 с доверительной вероятностью по Стьюденту более 99,9%) увеличивает поглощение O_2 пероксисомами (табл. 2). Можно полагать, что поглощение кислорода пероксисомами в присутствии гликолата осуществляется в основном благодаря окислению этого субстрата гликолатоксидазой. Вероятно, и без добавления гликолата поглощение O_2 пероксисомами обусловлено также окислением внутреннего гликолата. Световый импульсный облучение семян статистически достоверно (доверительная вероятность по Стьюденту более 95%) повышает окислительную активность пероксисом в присутствии гликолата почти при всех изученных концентрациях кислорода, за исключением очень низких (0,032 мМ). Гликолат статистически достоверно (доверительная вероятность по Стьюденту более 95%) усиливает влияние светового импульсного облучения на активность пероксисом в среднем на 0,175 мк ат. O_2 , так что, по крайней мере в этой части, увеличение их активности связано с повышением активности гликолатоксидазы. В соответствии с этим, как видно

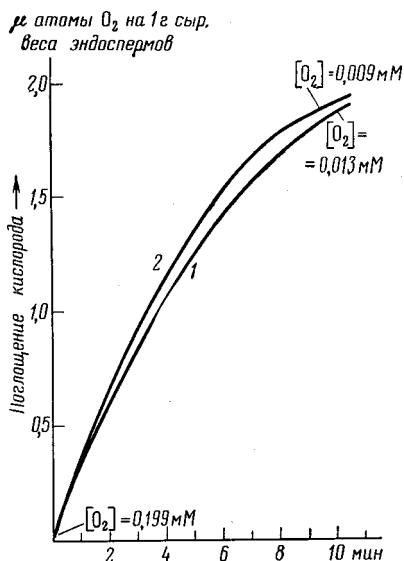


Рис. 2. Влияние светового импульсного облучения семян на поглощение кислорода изолированными пероксисомами. Пероксисомы необлученных семян (1) и облученных семян (2)

из сравнения полярограмм одного из опытов (рис. 2), суммарное поглощение кислорода у пероксисом облученных семян на протяжении всего эксперимента (и даже при очень низких концентрациях кислорода, близких к его исчерпанию), остается более высоким, чем у пероксисом семян необлученных. К концу опыта в суспензии пероксисом облученных семян

* Изолированные пероксисомы (глиоксисомы) выделяли из эндоспермов прорастающих семян при помощи ультрацентрифугирования в градиенте плотности по ранее описанной методике⁽⁴⁾. Их окислительную способность определяли полярографически.

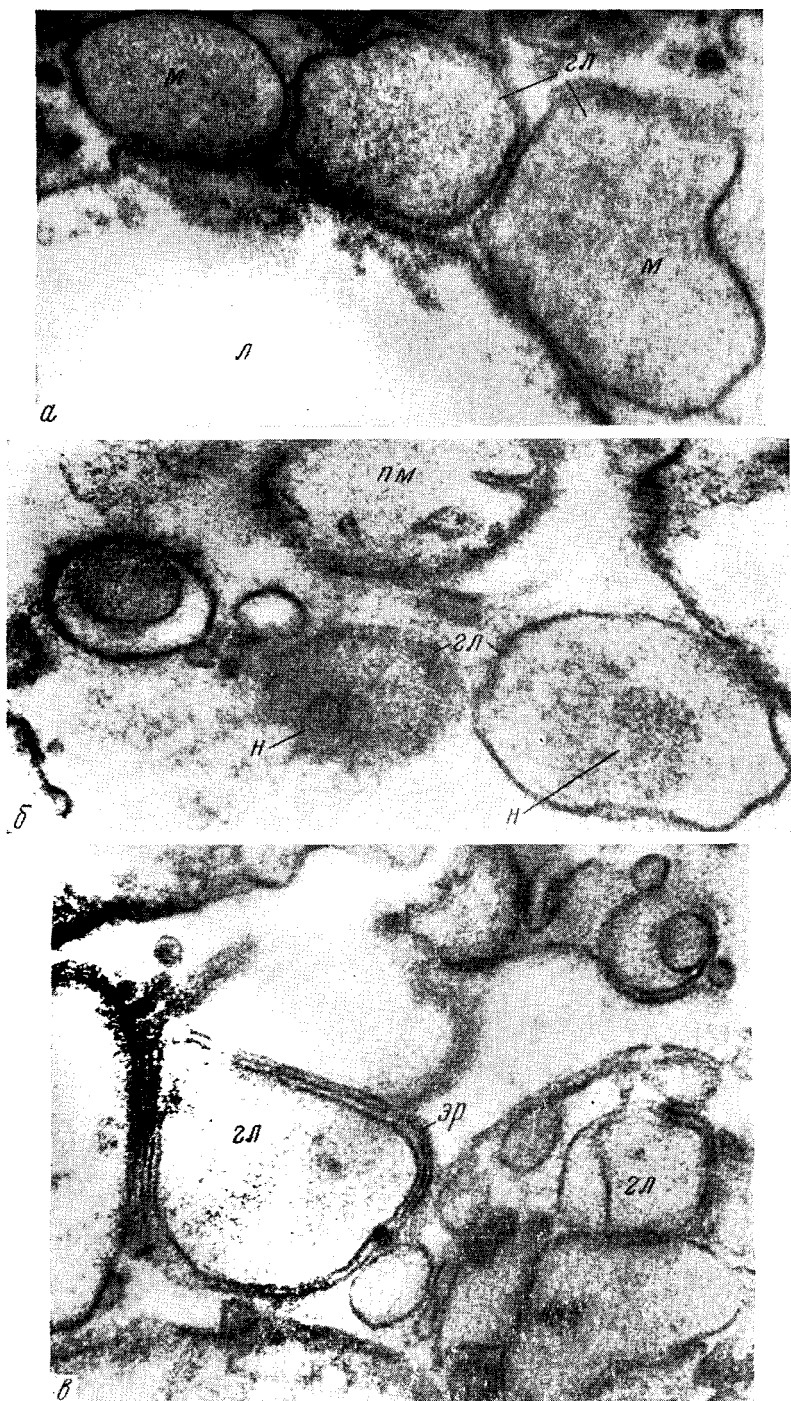


Рис. 1. Peroxisomes эндосперма 3-дневных прорастающих семян клеверины, 57 600 $\times$. Структура пероксисом (а); видны уплотнения в матриксе пероксисом. (б); предпосевное световое импульсное 10-минутное облучение (в), гп — глиоксисомы (пероксисомы), пм — промитохондрии, л — лейкопласты, эр — эндоплазматический ретикулум, м — матрикс пероксисом, н — уплотнения, локализованные внутри матрикса пероксисом

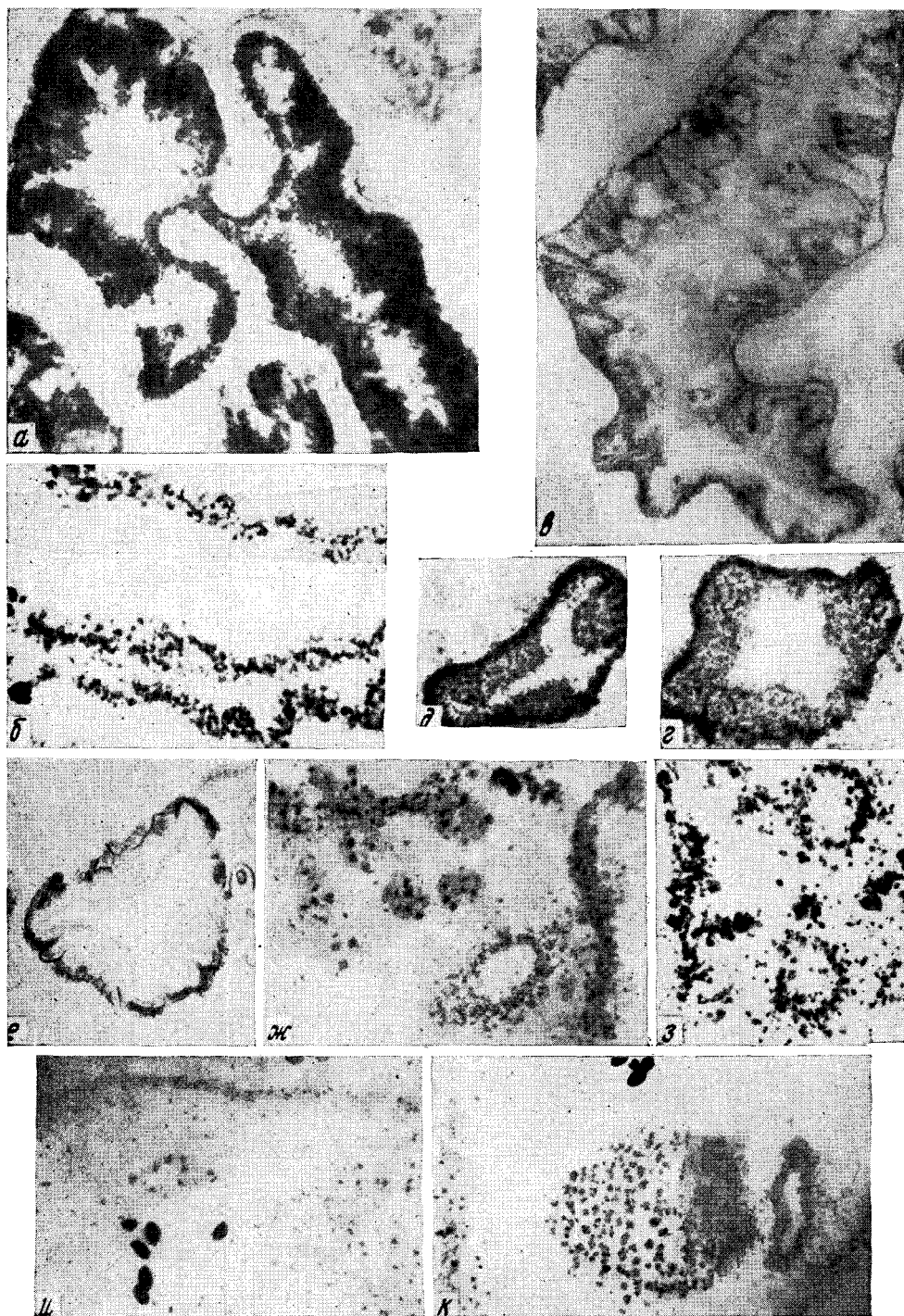


Рис. 1. Липолитическая активность в кишечных клетках нематод и трематод. Свиная аскарида: а — твин 85, б — твин 60, в — твин 60 после обработки фенолом; куриная аскарида: г — твин 85, д — твин 60, е — твин 80; фасциола обыкновенная: ж — твин 85, з — твин 60; дикроцелий: и — твин 85, к — твин 60; реакция по Гомори, 10 × 8

Таблица 2

Влияние светового импульсного облучения на окислительную активность изолированных пероксисом в присутствии гликолата

(ц.ат. O_2 на 1 г сырого веса эндоспермов за 1 час)

Продолжительность облучения семян, мин.	Продолжительность проращивания семян, дни	Концентрация гликолата, мМ	Концентрация кислорода, мМ	Поглощение кислорода		
				без облучения (контроль)	облучение	повышение поглощения кислорода между контролем и облучением
10	3	7,000	0,166	0,057	0,182	0,125
10	3	0,200	0,163	0,346	0,359	0,013
10	3	0,200	0,113	0,362	0,405	0,043
10	3	0,200	0,078	0,376	0,425	0,049
30	5	0,200	0,195	1,262	1,853	0,591
30	5	0,200	0,164	1,445	0,991	0,546
30	5	0,100	0,128	0,030	0,113	0,083
30	5	0,200	0,088	1,062	1,505	0,443
30	5	0,200	0,056	0,887	1,076	0,189
30	5	0,200	0,044	0,804	0,958	0,154
30	5	0,200	0,032	0,700	0,662	-0,038
Среднее	—	—	—	0,666	0,866	$0,200 \pm 0,067$

Таблица 3

Влияние гликолата низкой концентрации и света на дыхание срезов эндоспермов клебевины

(ц.л O_2 на 1 г сырого веса за 1 час)

Продолжительность проращивания семян, дни	Продолжительность опыта, мин.	Темнота без гликолата, дыхание	Темнота + гликолат		Свет без гликолата		Свет + гликолат		Влияние гликолата на действие света
			дыхание	действие гликолата	дыхание	действие света	дыхание	действие света	
6	120	542	526	-16	619	77	616	90	13
7	40	425	400	-25	430	5	450	50	45
7	50	353	338	-15	386	33	384	46	13
7	80	615	632	17	574	-41	666	34	75
7	90	531	539	8	544	13	588	49	36
7	115	549	507	-42	522	-27	507	0	27
7	120	554	566	12	619	65	618	52	-13
7	135	787	778	-9	699	-88	739	-39	49
7	139	541	537	-4	518	-23	559	22	45
7	180	447	490	43	468	21	509	19	-2
7	180	464	471	7	505	41	526	55	14
7	240	621	659	38	565	-56	615	-44	12
8	90	601	608	7	566	-35	622	14	49
8	95	382	411	29	480	98	548	137	39
8	122	429	453	24	555	126	546	93	-33
8	125	593	567	-26	570	-23	643	76	99
14	170	487	470	-17	433	-54	493	23	77
14	180	464	436	-28	449	-15	439	3	18
14	222	515	501	-14	511	-4	503	2	6
Среднее	—	—	—	-1 ± 5	—	6 ± 13	—	36 ± 10	30 ± 7

оставалось на 30% кислорода меньше, чем у необлученных, т. е. пероксисомы после облучения семян полнее используют оставшийся кислород.

Повышение активности пероксисом после светового импульсного облучения может служить косвенным указанием на их чувствительность к свету. Прямое доказательство такой чувствительности дано ранее (*). Однако это еще не означает, что пероксисомы реально участвуют в фотоды-

Таблица 4

Влияние гликолата высокой концентрации и света на дыхание срезов эндоспермов клещевины (мл O_2 на 1 г сырого веса за 1 час)

Продолжительность проращивания семян, дни	Продолжительность опыта, мин.	Темнота без гликолата, дыхание	Темнота + гликолат		Свет без гликолата		Свет + гликолат		Влияние гликолата на действие света
			дыхание	действие гликолата	дыхание	действие света	дыхание	действие света	
7	120	537	559	22	524	—13	485	—74	—61
8	140	567	589	22	549	—18	620	31	49
11	240	442	485	43	522	80	494	9	—71
20	180	500	528	28	518	18	494	—34	—52
Среднее	—	—	—	29 ± 5	—	17	—	—17	—34

хании эндоспермов. Для выяснения этой их роли необходимо было изучить влияние света на дыхание тканей эндоспермов*. Из табл. 3 видно, что освещение срезов эндоспермов, погруженных в среду без гликолата, вызывает лишь слабое усиление дыхания в пределах ошибки опыта. Действие света на срезы эндоспермов в среде с гликолатом низкой концентрации ($8,5 \cdot 10^{-9}$ — $17 \cdot 10^{-9}$ М) вызывает заметное и статистически достоверное (доверительная вероятность по Стьюденту более 99%) усиление дыхания. Таким образом, гликолат в малых концентрациях, которые в темноте на дыхание существенно не влияют**, достоверно (доверительная вероятность по Стьюденту более 99,9%) повышает стимулирующее действие света на дыхание.

Добавление гликолата высокой концентрации ($2 \cdot 10^{-6}$ М) вызывает достоверное (доверительная вероятность по Стьюденту более 95%) повышение дыхания эндоспермов (табл. 4). Это указывает на их способность окислять экзогенный гликолат, несмотря на наличие собственного гликолата, и свидетельствует об активном функционировании гликолатоксидазы. Однако стимулирующее действие света на дыхание эндоспермов утрачивается. По нашим данным⁽⁸⁾, свет, усиливающий гликолатоксидазную активность изолированных пероксисом при низких концентрациях гликолата, при большом избытке его перестает оказывать такое действие.

Сходство в условиях проявления стимулирующего действия света на окислительную активность изолированных пероксисом и на дыхание эндоспермов дает нам возможность рассматривать его как доказательство участия пероксисом в фотодыхании эндоспермов клещевины.

Институт физиологии растений
им. К. А. Тимирязева
Академии наук СССР
Москва

Поступило
13 III 1972

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ А. А. Шахов, В сборн. Биохимия и биофизика фотосинтеза, Иркутск, 1971, стр. 206. ² Повышение урожайности концентрированным светом, А. А. Шахов (ред.), М., 1972. ³ N. E. Tolbert, R. K. Yamazaki, Ann. N. Y. Acad. Sci., **168**, 325 (1969). ⁴ А. А. Шахов, В. А. Зенченко, М. Б. Чурина, ДАН, **201**, 994 (1971). ⁵ A. Matsushima, J. Electron Microscopy, **20**, 120 (1971). ⁶ H. Tsukada, S. Koyama et al., J. Ultrastr. Res., **36**, 159 (1971). ⁷ Г. И. Кособоков, С. А. Станко и др., Сборн. Светоимпульсное облучение растений, «Наука», 1967, стр. 141. ⁸ В. А. Зенченко, М. Б. Чурина, А. А. Шахов, Физиол. раст., **19**, № 4 (1972). ⁸ M. Dixon, Biochim. et biophys. acta, **226**, 259 (1971).

* Дыхание измерялось в аппарате Варбурга у срезов эндоспермов прорастающих семян клещевины, погруженных в раствор флавиномонуклеотида (0,01 мМ) с добавлением и без добавления гликолата.

** На фоне собственного внутреннего гликолата эндоспермов.