

УДК 537.533.35:581.557.24

ЦИТОЛОГИЯ

М. А. ПРОЦЕНКО

ЭЛЕКТРОННО-МИКРОСКОПИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ЛОКАЛИЗАЦИИ КИСЛОЙ ФОСФАТАЗЫ В ПЕРЕВАРИВАЮЩИХ ГРИБ КЛЕТКАХ МИКОРИЗЫ ГОРОХА

(Представлено академиком А. И. Опариным 12 II 1973)

Процесс разрушения микоризообразующего гриба в клетках корня гороха имеет некоторые черты морфологического сходства с процессом фагоцитирования чужеродных тел клетками животных (^{1, 2}).

При фагоцитозе важная роль отводится лизосомам — органеллам, содержащим комплекс гидролитических ферментов (^{3, 4}). Один из этих ферментов — кислую фосфатазу — довольно легко определить гистохимически. Поэтому его часто считают индикатором лизосом. В фагоцитирующих клетках этот фермент обнаруживают и в органеллах, имеющих непосредственное отношение к разрушению инородного тела (лизосомы, фagosомы, остаточные тела), и в структурах, которые, как предполагается, участвуют в синтезе лизосомных ферментов и в формировании лизосом (эндоплазматическая сеть, диктиосомы). Увеличение количества лизосом и активности кислой фосфатазы отмечено также при многих патологических процессах (⁵).

Относительно наличия и структуры лизосом в растительных клетках нет единого мнения. Однако опубликовано значительное количество данных, на основании которых можно предполагать наличие в растительной клетке лизосомоподобных структур, участвующих в таких же процессах, как лизосомы в клетках животных (⁶). Поэтому представляет интерес изучение локализации лизосомных ферментов в переваривающих гриб клетках микоризы. В микоризе гороха мы определяли локализацию одного из этих ферментов — кислой фосфатазы.

Материал и метод. Микоризные растения гороха выращивали в теплице в почве, взятой с поля, где растения были естественно микоризными.

Для определения локализации кислой фосфатазы (фосфогидролазы моноэфиров ортофосфата 3.1.3.2) мы остановились на процедуре, применявшейся ранее на корнях тыквы (⁷). Она представляет собой модификацию метода Гомори. После фиксации глутаральдегидом материал промывается цитратным буфером для удаления фосфатов. Одновременно проводится постепенное снижение pH растворов от pH 7,4 фиксирующего раствора до pH 5,0 среды инкубации. Тщательная промывка проводится также после инкубации в среде Гомори с β -глицерофосфатом натрия в качестве субстрата. В течение всей процедуры поддерживается определенное осмотическое давление используемых растворов посредством добавления сахарозы. В качестве контроля используется инкубация материала в среде Гомори, не содержащей субстрата, а также в среде с субстратом и с добавлением 0,01 M NaF. После инкубации и промывки материал готовится для электронной микроскопии по обычной методике.

Результаты. В клетке корня, содержащей арбускулу микоризообразующего гриба, кислая фосфатаза выявляется в органеллах с одинарной мембраной и зернистым содержимым (рис. 1). Как правило, осадок фосфата свинца располагается в виде отдельных зерен внутри органеллы

и отсутствует на ее мембране. Осадок никогда не занимает всей органеллы. Всегда можно видеть на свободных от осадка участках ее зернистое содержимое. В тех же клетках можно встретить такие же органеллы без осадка фосфата свинца.

Часто осадок фосфата свинца обнаруживается также в эндоплазматической сети (рис. 2). В диктиосомах активность фермента выявляется только при длительной инкубации, как правило, в концевых участках цистерн. В ядрах микоризных клеток осадок фосфата свинца обнаруживается в некоторых случаях. Однако в литературе нет единого мнения относительно того, является ли этот осадок результатом ферментативной реакции или артефактом. Иногда осадок локализован только в ядерной оболочке, тогда как остальная часть ядра свободна от него. В вакуолях клетки, как правило, активность кислой фосфатазы не выявляется, хотя есть многочисленные данные о наличии в них фермента⁽⁸⁾. Авторы, применявшие метод, использованный нами, также не обнаруживали активности кислой фосфатазы в вакуолях дифференцированных клеток^(7, 9). В клеточных стенках растения осадок фосфата свинца можно заметить не часто и особенно при длительной инкубации.

В ветвях гиф гриба, образующих арбускулу, локализация фермента различна, по-видимому в зависимости от состояния гриба. В гифах, имеющих ненарушенную структуру, активность фермента отмечена в органеллах с зернистым содержимым и одинарной мембраной — лизосомоподобных органеллах (рис. 3). Локализация продуктов реакции внутри органеллы такая же, как и в лизосомоподобных органеллах клетки-хозяина. В остальных органеллах и в цитоплазме гриба активность фермента не выявляется. Интересно отметить, что в ядрах гиф никогда не обнаруживается осадок фосфата свинца, тогда как в ядрах клеток корня он присутствует часто. Высокая активность фермента отмечена в пространстве между плазмалеммой гриба и его клеточной стенкой (рис. 2).

В тех гифах, где цитоплазма гриба в значительной степени разрушена, высокая активность выявляется в вакуоли, занимающей большую часть объема гифы (рис. 3). Иногда в зоне, окружающей такие гифы, между стенкой гифы и мембраной, ограничивающей зону, также обнаруживается осадок фосфата свинца (рис. 4).

В контрольных препаратах осадок фосфата свинца не выявляется.

Таким образом, в переваривающей гриб клетке микоризы гороха активность кислой фосфатазы обнаруживается в органеллах, сходных с лизосомами животных, а также в других органеллах, которые считаются функционально связанными с лизосомами, — в эндоплазматической сети и диктиосомах. При фагоцитозе кислая фосфатаза участвует в разрушении захваченного клеткой материала. В переваривающих гриб клетках микоризы она, судя по сходству локализации, выполняет такую же функцию. Следовательно, локализация кислой фосфатазы в переваривающих гриб

Рис. 1. Активность кислой фосфатазы в органелле с одинарной мембраной в переваривающей гриб клетке микоризного корня гороха. 45 600 $\times$. *г* — гифа гриба, *з* — зона, окружающая гифы гриба в клетке, *м* — митохондрия растения, *о.м* — органелла с одинарной мембраной в клетке растения

Рис. 2. Активность кислой фосфатазы в гифе гриба. Стрелками указан осадок фосфата свинца между плазмалеммой гриба и его клеточной стенкой. 31 900 $\times$. *м.г* — митохондрия гриба, *с.г* — клеточная стенка гриба, *ц* — цитоплазма растения. Остальные обозначения те же, что на рис. 1

Рис. 3. Кислая фосфатаза в вакуоли разрушающейся гифы гриба. 31 900 $\times$. *э.с* — эндоплазматическая сеть. Остальные обозначения те же, что на рис. 1 и 2

Рис. 4. Кислая фосфатаза в зоне, окружающей гифу гриба (указано стрелками). 31 900 $\times$. Обозначения те же, что на рис. 1 и 3

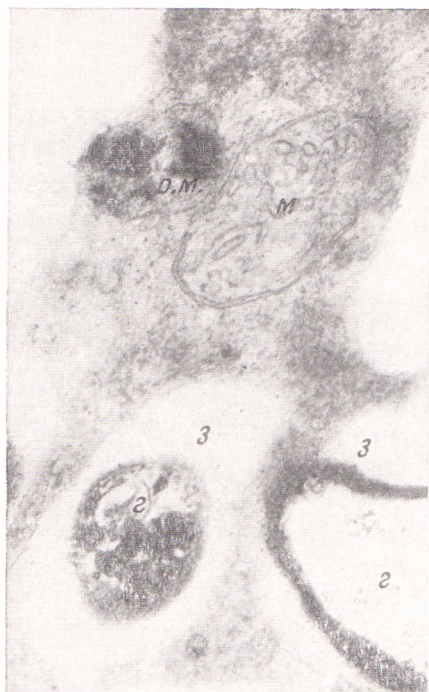


Рис. 1

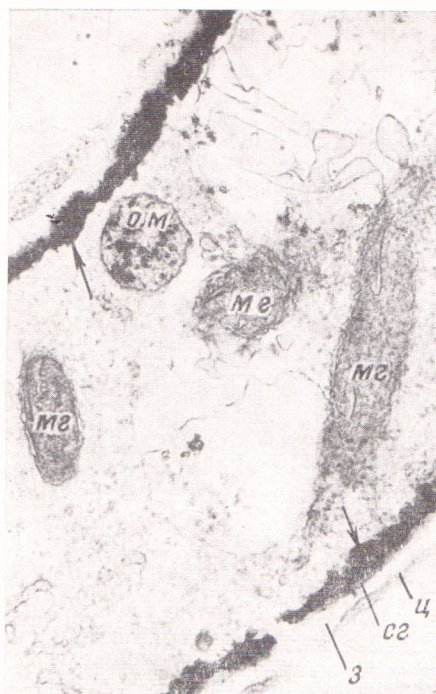


Рис. 2



Рис. 3

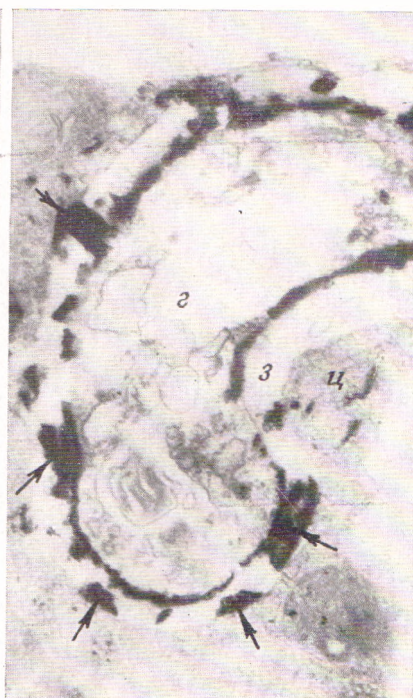


Рис. 4

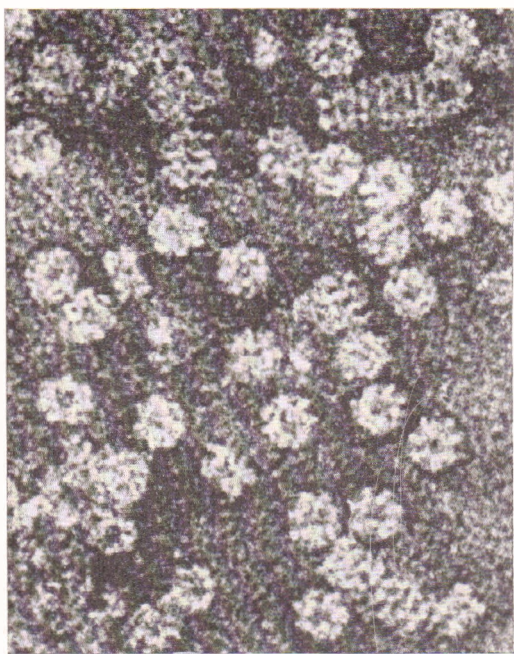


Рис. 1

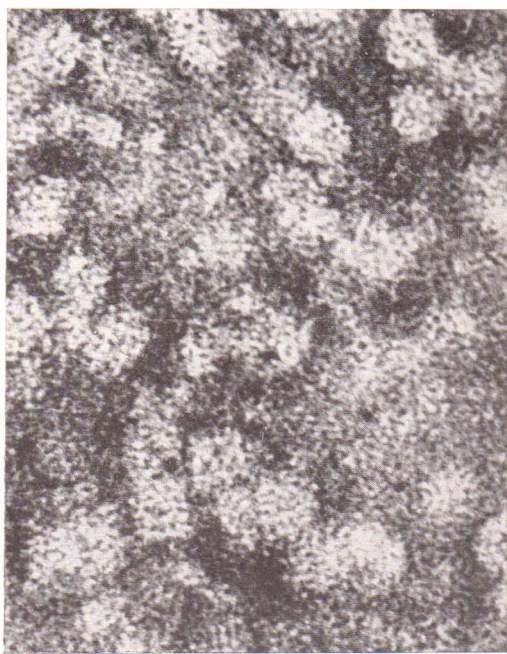


Рис. 2

Рис. 1. Исходные препараты нитрогеназы. Негативное контрастирование 2% ФВК. 700 000 $\times$

Рис. 2. Препараты нитрогеназы, обработанные 100 эквивалентами ПХМБ. Негативное контрастирование 2% ФВК. 700 000 $\times$

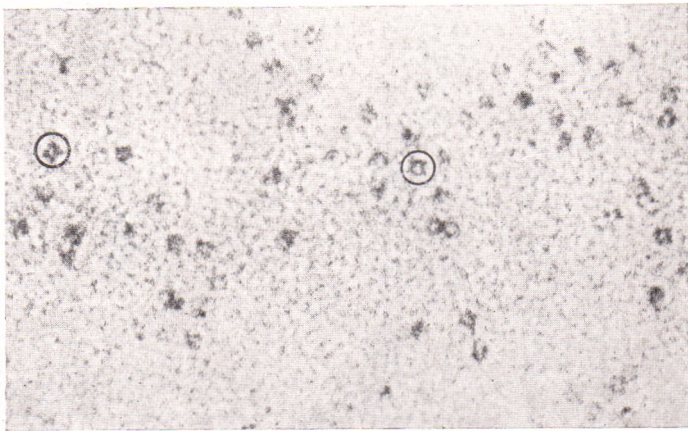
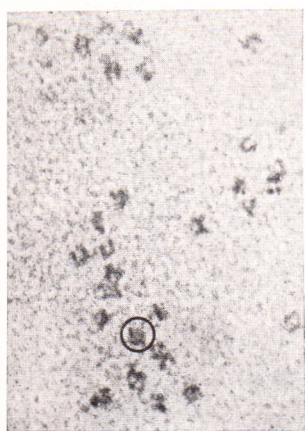


Рис. 3. Препараты нитрогеназы, обработанные 100 эквивалентами ПМХБ, но не контрастированные ФВК. 700 000 $\times$. Кругами обведены наиболее характерные кластеры

клетках микоризы гороха подтверждает вывод о сходстве процесса разрушения гриба с фагоцитозом, сделанный на основании изучения ультраструктуры таких клеток.

Высокая активность фермента в вакуолях разрушающихся гиф свидетельствует о возможном участии в этом процессе фермента самого гриба — автолизе.

Институт биохимии им. А. Н. Баха
Академии наук СССР
Москва

Поступило
2 II 1973

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ М. А. Проценко, Н. М. Шемаханова, Л. В. Метлицкий, ДАН, 199, № 3, 722 (1971). ² М. А. Проценко, Бот. журн., 58 (1973). ³ J. M. Allen, In: Lysosomes in Biology and Pathology, 2, 1969. ⁴ C. De Duve, Protoplasma, 63, 1/3, 95 (1967). ⁵ Л. А. Зотиков, В. Г. Пинчук, Цитология, 11, 10, 1205 (1969). ⁶ А. Е. Васильев, В сборн. Ультраструктура растительных клеток, «Наука», 1972. ⁷ P. Coulomb, J. Coulon, J. Microscopie, 10, 2, 203 (1971). ⁸ P. Matile, In: Lysosomes in Biology and Pathology, 1, 1969. ⁹ N. Poux, J. Microscopie, 9, 3, 407 (1970).