

Б. П. СМЕРНОВ, Р. П. ИВАНОВА

ВЛИЯНИЕ ИОНОВ КАЛЬЦИЯ НА ДЫХАНИЕ ИЗОЛИРОВАННЫХ ХЛОРОПЛАСТОВ

Кальций является одним из минеральных элементов, который необходим для нормальной жизнедеятельности растений. Особенно острая потребность в кальции наблюдается на кислых подзолистых и торфянистых почвах. Исследования, проведенные с Ca^{45} показали, что он в первую очередь поступает в молодые листья и побеги (1).

Кальций участвует в формировании клеточных структур и протоплазмы в целом. Анализ хлоропластов различных растений показывает, что в золе этих структур содержится много кальция. Так, у *Trifolium pratense* зола хлоропластов составляет 8,04%, а содержание кальция 6,15% к сухому весу золы, у *Arctiune minus* зола — 5,32%, кальций в золе — 9,62%, у *Onoclea sensibilis* зола — 5,23%, кальций в золе — 6,33% (8). Как видно из представленных данных, кальцию, по-видимому, принадлежит важная роль в жизнедеятельности протоплазменных структур и клетки в целом. Чибнелл и Ченнен (7) установили, что основная масса выделенных из листьев капусты фосфатидов липидной фракции представлена в виде солей кальция.

Работ, посвященных исследованию функциональной роли кальция в хлоропластах растений, нет, несмотря на то, что в настоящее время многие исследователи заняты изучением данных структур в жизнедеятельности растительной клетки. Исследования последних лет показали, что хлоропласты участвуют не только в процессе фотосинтеза (6), но и в синтезе белков (4), липидов (3) и в ряде других функциональных отправлениях растительной клетки.

В данной работе представлены результаты исследований по влиянию ионов кальция на дыхание изолированных хлоропластов подсолнечника.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЙ

Выделение хлоропластов из тканей растений проводилось методом дифференциального центрифугирования. 30 г листьев или семян подсолнечника растирались со стеклянным порошком в фарфоровой ступке с 60 мл 0,3 М KCl — боратного буфера pH 7,1, содержащего ЭДТА (этилендиаминтетрауксусная кислота) в концентрации 0,01М. Растертая зеленая масса отжималась через трехслойную марлю и центрифугировалась в течение 2 мин при 150 x g. Осадок отбрасывался, а надосадочная жидкость для осаждения хлоропластов центрифугировалась в течение 15 мин при 4000 x g. Полученный осадок

растирался в 22 мл KCl — боратного буферного раствора, аналогичного использованному ранее. Выделение хлоропластов проводилось при t 2—4°.

Интенсивность дыхания хлоропластов определялась манометрически на аппарате Варбурга (5). Опытные пробы содержали 1,5 мл суспензии хлоропластов и различные количества $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0,05—20,0 мг в пересчете на Ca). Объем инкубационной смеси доводился до 2,1 мл KCl — боратым буферным раствором. Время инкубации 1 ч при t 25,4°.

Азот хлоропластов определялся методом изотермической перегонки в чашках Конвея (2). Коэффициент пересчета от количества найденного азота к количеству белка — 6,25.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При инкубации изолированных хлоропластов из листьев подсолнечника в среде, содержащей хлористый кальций в количестве 2 мг Ca^{++} , было установлено, что происходит увеличение поглощения кислорода в 2—3 раза по сравнению с контролем (суспензия хлоропластов). Встал вопрос о влиянии ЭДТА на кальциевый эффект. Были поставлены следующие опыты: выделение и инкубацию хлоропластов проводили в присутствии 0,01 М ЭДТА и без нее. Как видно из данных рис. 1, ЭДТА не снимает действия ионов кальция на поглощение кислорода хлоропластами. Все последующие эксперименты проводились в присутствии 0,01 М

ЭДТА, являющейся комплексообразователем ионов тяжелых металлов.

Затем были поставлены опыты с различными концентрациями ионов кальция. Как видно из данных рис. 2, ионы кальция в концентрации 0,05—0,2 мг в пробе не оказывают стимулирующего действия на дыхание изолированных хлоропластов. Начиная с концентрации ионов кальция 0,4 мг, кривая интенсивности дыхания идет вверх, достигает максимального значения при концентрации 0,8 мг, а затем остается практически на одном уровне вплоть до концентрации 10 мг ионов кальция в пробе, а при 20 мг Ca^{++} наблюдается уменьшение интенсивности дыхания хлоропластов.

Дальнейшие исследования показали (табл. 1),

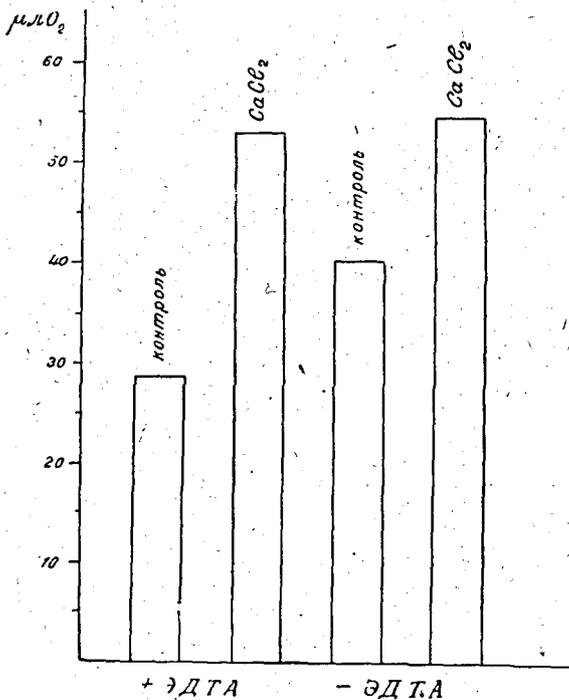


Рис. 1. Влияние этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТА) на интенсивность дыхания хлоропластов подсолнечника в присутствии ионов кальция. Хлоропласты выделялись из листьев взрослых растений. Содержание белка хлоропластов в отдельных опытах соответствовало 8,7 мг. Содержание ионов кальция — 2,0 мг.

что левулиновокислый кальций оказывает значительно меньшее активирующее воздействие на интенсивность дыхания изолированных хлоропластов по сравнению с CaCl_2 , что, по-видимому, связано с различной степенью диссоциации данных солей кальция.

Таблица 1

Влияние хлористого и левулиновокислого кальция на интенсивность дыхания изолированных хлоропластов листьев 15-дневных проростков подсолнечника

Соли кальция	Содержание Ca^{++} (мг)	Количество O_2 (мл)		% к контролю
Хлористый кальций	2,0	37,0	39,2	201,0
То же	2,0	41,4		
Левулиновокислый кальций	2,0	23,6	24,9	122,6
То же	2,0	26,3		
Контроль (без Ca^{++})	—	19,3	19,5	100,0
То же	—	19,7		

Примечание. В каждом из опытов суспензия хлоропластов содержала 9,5 мг белка.

При постановке опытов с хлоропластами, выделенными из зеленых семядолей 3—4-дневных проростков подсолнечника, выяснилось, что ионы кальция ингибируют дыхание данных хлоропластов. При графическом изображении зависимости интенсивности дыхания хлоропластов семядолей подсолнечника от концентрации ионов кальция в инкубационной среде оказалось (рис. 3), что характер кривой совершенно иной, чем в случае хлоропластов, выделенных из листьев под-

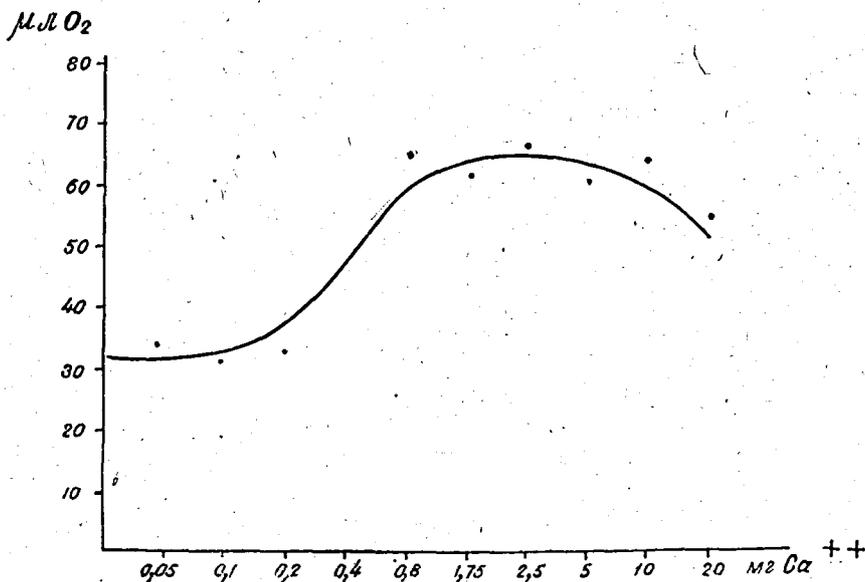


Рис. 2. Влияние различных концентраций ионов кальция на интенсивность дыхания хлоропластов листьев взрослых растений подсолнечника. Содержание белка хлоропластов в отдельных опытах соответствовало 8,9 мг.

солнечника (рис. 2). Так, если концентрация ионов кальция 0,8 мг в опыте стимулирует дыхание хлоропластов листьев подсолнечника, то та же концентрация ионов кальция ингибирует дыхание хлоропластов, выделенных из семян подсолнечника.

Как видно из табл. 2, кальциевый эффект различен в зависимости от возраста растений. Чем взрослее растение, тем ярче выражено стимулирующее влияние ионов кальция на интенсивность дыхания хлоропластов.

Результаты, полученные с хлоропластами из листьев взрослых растений подсолнечника и с хлоропластами семян подсолнечника, на первый взгляд кажутся противоречивыми. Для хлоропластов зеленых семян подсолнечника отмечено ингибирование дыхания ионами кальция, для хлоропластов же, выделенных из листьев взрослых растений, наоборот, отмечено стимулирующее воздействие ионов кальция на интенсивность дыхания. Противоположное действие ионов кальция на дыхание хлоропластов зеленых семян и листьев взрослых растений подсолнечника, вероятно, связано с различием в направленности биохимических процессов в клетках тканей, из которых выделялись хлоропласты. В прорастающем семени преобладают процессы, связанные с использованием запасных веществ на рост и развитие растительного организма, а во взрослом растении преобладают синтетические процессы, связанные с новообразованием

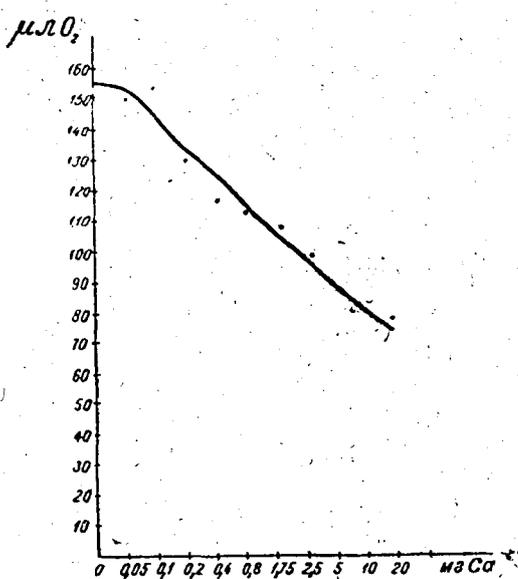


Рис. 3. Влияние различных концентраций ионов кальция на интенсивность дыхания хлоропластов зеленых семян проростков подсолнечника. Содержание белка хлоропластов в отдельных опытах соответствовало 9,5 мг.

Таблица 2

Влияние ионов кальция на дыхание изолированных хлоропластов листьев подсолнечника в зависимости от возраста растений

Возраст растений в днях со времени появления первых листьев	м.л. O ₂ за 1 ч инкубации		K = $\frac{\text{опыт}}{\text{контроль}}$
	опыт (2 мг Ca ⁺⁺)	контроль (без Ca ⁺⁺)	
3	103,1	154,8	0,7
8	165,0	109,5	1,5
15	29,7	13,0	2,3
28—30	92,0	26,8	3,4
более 30	80,4	25,0	3,3

Примечание. В каждом из опытов суспензия хлоропластов содержала 8,1 мг белка.

органического вещества. По-видимому, и в хлоропластах семян подсолнечника фотосинтетическая функция выражена еще в недостаточной степени и обмен веществ их отличается от обмена веществ хлоропластов, выделенных из листьев взрослых растений.

Возможно и другое объяснение наблюдаемого кальциевого эффекта. Процессы новообразования в хлоропластах листьев взрослых растений происходят настолько интенсивно, что запас и поступление

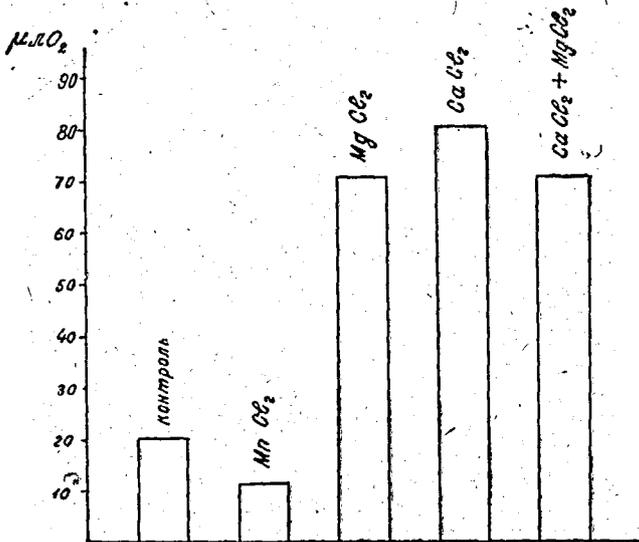


Рис. 4. Влияние различных двухвалентных ионов на интенсивность дыхания хлоропластов подсолнечника. Содержание белка хлоропластов в отдельных опытах — 9 мг, содержание каждого из ионов в отдельных опытах соответствовало 2 мг.

кальция в растения становятся недостаточными для формирования новых протоплазменных структур. На ранних же фазах развития растений подсолнечника потребности в кальции удовлетворяются за счет его запаса в семенах растений.

Представленные данные о влиянии ионов кальция на интенсивность дыхания хлоропластов указывают на важное значение кальция как одного из элементов минерального питания растений.

Для выяснения вопроса о специфическом действии ионов кальция на интенсивность дыхания хлоропластов растений были поставлены опыты с различными двухвалентными ионами (магний, марганец, кальций). Как следует из данных рис. 4, сходным действием с ионами кальция обладают и ионы магния, с ионами марганца данный эффект не наблюдается. Ионы кальция и магния вместе взятые не дают дополнительного увеличения в интенсивности дыхания хлоропластов. Таким образом, наблюдаемый кальциевый эффект в отношении увеличения интенсивности дыхания хлоропластов, не является специфическим для данного иона, а это свойство двухвалентных ионов кальция и магния.

ВЫВОДЫ

Показано, что ионы кальция увеличивают интенсивность дыхания изолированных хлоропластов листьев подсолнечника.

В зависимости от возраста растений влияние ионов кальция на дыхание хлоропластов различно. Наибольшее увеличение интенсив-

ности дыхания отмечено для хлоропластов, выделенных из листьев взрослых растений.

Сходным с ионами кальция стимулирующим действием на дыхание изолированных хлоропластов подсолнечника обладают также ионы магния.

На интенсивность дыхания хлоропластов, выделенных из зеленых семян подсолнечника, ионы кальция оказывают ингибирующее действие.

*Лаборатория биохимии липидов
Института биологии Карельского
филиала АН СССР*

*Поступила в редакцию
3/IX 1959*

ЛИТЕРАТУРА

1. Красинский Н. П., Баранов Г. В., Киселев В. Е., Севрова О. К. Доказательство при помощи метода меченых атомов реутилизированности кальция в растениях. В сб.: «Физиология растений». Агрехимия. Почвоведение. М., Изд. АН СССР, 1958.
2. Мешкова Н. П., Северин С. Е. Практикум по биохимии животных. М., «Советская наука», 1950.
3. Сисакян Н. М., Смирнов Б. П. Синтез и окисление жирных кислот в изолированных хлоропластах. «Биохимия», 21, 273, 1956.
4. Сисакян Н. М., Филиппович И. И. Синтез белка в изолированных структурах растительной клетки. «Биохимия», 22, 375, 1957.
5. Умбрейт В. В., Буррис Р. Х., Штауффер Дж. Ф. Манометрические методы изучения тканевого обмена. М., Изд-во иностр. лит., 1951.
6. Allen M. V., Arnon D. I., Capindale J. V., Whatley F. R., Durham Z. J. Photosynthesis by isolated chloroplasts. III. Evidence for complete photosynthesis. J. Amer. chem. soc., 77, 4149, 1955.
7. Chibnall A. C., Channon H. I. LXIX, The ethersoluble substances of cabbage leaf cytoplasm. III. The fatty acids., Biochem. J., 21, 479, 1927.
8. Rabinowitch E. J., Photosynthesis, vol. I, Interscience publishers, New York, 1945.