

О. О. ЛЯЛИН, И. Н. КИТОРОВА

**ВЛИЯНИЕ pH ПИТАТЕЛЬНОГО РАСТВОРА  
НА МЕМБРАННЫЙ ПОТЕНЦИАЛ КЛЕТКИ КОРНЕВОГО ВОЛОСКА**

(Представлено академиком А. Л. Курсановым 19 VI 1970)

Поглощение минеральных ионов корнем растения в сильной степени зависит от pH питательного раствора, однако механизм влияния pH остается неясным. Возможно, это влияние осуществляется через изменение мембранного потенциала (м.п.) клеток, контактирующих с внешним раствором. Действительно, в литературе имеется большой материал, показывающий связь транспорта ионов с м.п. (1). В то же время зависимость м.п. от pH исследована недостаточно, а работы, проведенные на наружных клетках корня, отсутствуют вовсе.

Исследования, проведенные на клетках водоросли *Nitella* (2), показали относительную нечувствительность м.п. к ионам калия и высокую чувствительность к водородным ионам. Был сделан вывод, что клетка ведет себя подобно водородному электроду.

Изучен м.п. клеток coleoptилей овса (3). В противоположность данным, полученным на *Nitella*, было обнаружено, что увеличение концентрации водородных ионов в физиологическом диапазоне (pH изменяли от 7,0 до 3,6) приводит лишь к небольшой гиперполяризации, не превышающей 8 мв на единицу pH.

В опытах с корневыми волосками мы обнаружили более сильное влияние pH (4), что и заставило нас провести настоящее исследование.

Методика проведения опытов (не считая некоторых неприципиальных усовершенствований) была аналогична описанной ранее (4): при помощи микроманипулятора в клетку вводили микроэлектрод и на самопишущем потенциометре записывали разность электрических потенциалов между вакуолью корневого волоска *Triaena bogotensis* и омывающим раствором при последовательных сменах растворов с уменьшающимся pH. Основную серию опытов провели без добавления посторонних ионов и буферных смесей, т. е. с чистыми растворами HCl, при этом проводили специальный контроль кислотности, особенно при pH, близких к нейтральным. Кислотность раствора, вытекающего из экспериментальной камеры (объем камеры 0,4 мл) при скорости протока 0,1 мл/сек отличалась от исходной кислотности не более чем на 0,2 ед. pH, что считалось удовлетворительным.

В параллельных опытах действие ионов  $H^+$  сравнивали с влиянием ионов калия. Использовали чистые растворы KCl с pH 6,0—6,5.

На рис. 1 приведены результаты серии опытов с чистыми растворами KCl и HCl, а также с HCl на фоне постоянной концентрации 2—4-динитрофенола (ДНФ), равной  $5 \cdot 10^{-5}$  M.

Данные показывают, что водородные ионы так же, как и калиевые, уменьшают м.п. приблизительно пропорционально логарифму концентрации, однако в случае ионов  $H^+$  это снижение происходит в области меньших концентраций.

При некоторых допущениях (5) можно сравнить экспериментальные данные с кривыми, рассчитанными по формуле Гольдмана:

$$E = 59 \lg \frac{[K]_i}{[K]_o + \alpha [H]_o + \beta [Cl]_i}, \quad (1)$$

где  $E$  — величина м.п. в милливольтгах;  $[K]_i$  и  $[Cl]_i$  — внутриклеточные концентрации катионов и анионов соответственно;  $[K]_o$  и  $[H]_o$  — меняющиеся во внешнем растворе концентрации ионов  $K^+$  и  $H^+$  ( $C_o$ );  $\beta$  — относительный коэффициент проницаемости для внутриклеточных анионов (коэффициент проницаемости для анионов, деленный на коэффициент проницаемости для катиев);  $\alpha$  — относительный коэффициент проницаемости для ионов  $H^+$ .

Если принять, что  $[K]_i = [Cl]_i = 100 \text{ мМ}$  и  $\beta = 0,005$ , то водородной кривой соответствует коэффициент  $\alpha = 50$ ; это означает, что проницаемость для ионов  $H^+$  приблизительно в 50 раз больше, чем для ионов калия.

Представляло интерес как-либо экспериментальным приемом изменить коэффициент  $\alpha$ . Были приведены опыты с ДНФ, о котором известно, что он увеличивает водородную проницаемость искусственных фосфолипидных мембран (<sup>5</sup>) и в то же время снижает м.п. клеток высших растений (<sup>3, 4</sup>).

Представленные на рис. 1 результаты говорят о том, что введение  $5 \cdot 10^{-3} \text{ М}$  ДНФ в раствор  $\text{HCl}$  увеличило коэффициент  $\alpha$  приблизительно до 200.

Описанные выше опыты были проведены осенью 1969 г. Интересно сравнить их с результатами, полученными на том же объекте весной 1968 г.

На рис. 2 представлена зависимость м.п. от концентрации

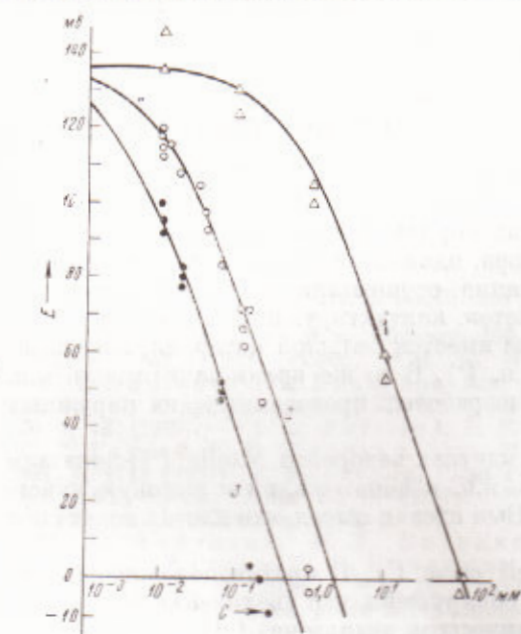


Рис. 1. Зависимость мембранного потенциала от концентрации катионов в растворе (серия опытов, проведенных осенью 1969 г.). 1 — ионы калия, 2 — ионы водорода, 3 — ионы водорода на фоне  $5 \cdot 10^{-3} \text{ М}$  ДНФ. Кривые рассчитаны по уравнению  $E = 59 \lg 100 / (\alpha C_o + 0,5)$  при значениях коэффициента  $\alpha$ : для калия  $\alpha = 1$ , для водорода  $\alpha = 50$ , для водорода с ДНФ  $\alpha = 200$

$\text{KCl}$  (при  $\text{pH} = 6,0-6,5$ ) и от концентрации ионов  $H^+$  в  $1 \text{ мМ}$  растворе уксуснокислого натрия ( $\text{pH}$  изменяли добавлением  $\text{NaOH}$  или  $\text{HCl}$ ). В отличие от данных рис. 1, наклонные участки кривых существенно сдвинуты влево по оси концентраций. Теоретические кривые построены при следующих значениях параметров:  $[K]_i = [Cl]_i = 30 \text{ мМ}$ ;  $\beta = 0,005$ ;  $\alpha = 200$  (кроме того для водородной кривой добавлен член  $\alpha_{\text{Na}} [Na]_o$  при  $\alpha_{\text{Na}} = 0,15$ ; для калиевой кривой  $\alpha [H]_o$  при  $[H]_o = 0,00075 \text{ мМ}$ , что соответствует  $\text{pH} 6,4$ ). Таким образом, в данном случае проницаемость по водороду в 200 раз больше калиевой проницаемости.

Причину расхождений результатов опытов, проведенных в разное время, можно искать в изменениях физиологического состояния объекта, связанных с возрастом, сезоном или с другими неучтенными факторами. В среднем для данного объекта можно принять  $\alpha = 10^2$ , в отличие от величины  $10^4$  на клетках *Nitella* (<sup>2</sup>).

Следует отметить, что теоретические водородные кривые, представленные на обоих рисунках, удовлетворительно совпадают с экспериментальными точками за исключением области со значениями  $E$ , близкими к нулю: здесь экспериментальные точки лежат значительно ниже рассчитанных кривых. Восстановление м.п. после такой сильной деполяризации происходит очень медленно и не бывает полным. Вероятно, эти отклонения

связаны с нарушением структуры мембран, при этом коэффициенты  $\alpha$  и  $\beta$  перестают быть постоянными.

В заключение рассмотрим возможную роль уменьшения м.п. в эффекте подавления ионами водорода поглощения катионов.

Пассивный поток какого-либо одновалентного катиона внутрь клетки (по градиенту электрического потенциала) можно записать в следующем виде (1):  $M_{\text{вн}} = PC_0A$ ; поток наружу  $M_{\text{нар}} = PC_1A'$ , где  $P$  — коэффициент проницаемости для данного катиона,  $C_0$  и  $C_1$  — концентрация данного катиона соответственно снаружи и внутри клетки,  $A$  и  $A'$  — члены, зависящие от  $E$  следующим образом:

$$A = \frac{EF/RT}{1 - \exp(-EF/RT)};$$

$$A' = \frac{-EF/RT}{1 - \exp(EF/RT)} \quad (2)$$

( $R$  — газовая постоянная,  $F$  — число Фарадея,  $T$  — абсолютная температура).

Допустим, что  $E$  изменился от 106 до 56 мв, а  $P$ ,  $C_0$  и  $C_1$  остались постоянными. По данным рис. 2, это происходит при изменении рН от 6,5 до 5,0. В соответствии с (2) имеем\*:  $A_{106} = 4,19$ ;  $A'_{106} = 0,068$ ;  $A_{56} = 2,46$ ;  $A'_{56} = 0,278$ . Отсюда следует, что поток внутрь составит  $A_{56}/A_{106} = 2,46/4,17 = 0,59$  от первоначального потока, а поток наружу увеличится в  $A'_{56}/A'_{106} = 0,278/0,068 = 4,1$  раза.

Таким образом, хорошо известный эффект подавления поглощения катионов водородными ионами, который обычно рассматривают как результат конкуренции за переносчики (5), по крайней мере отчасти может быть объяснен изменениями пассивных потоков, зависящих от м.п.

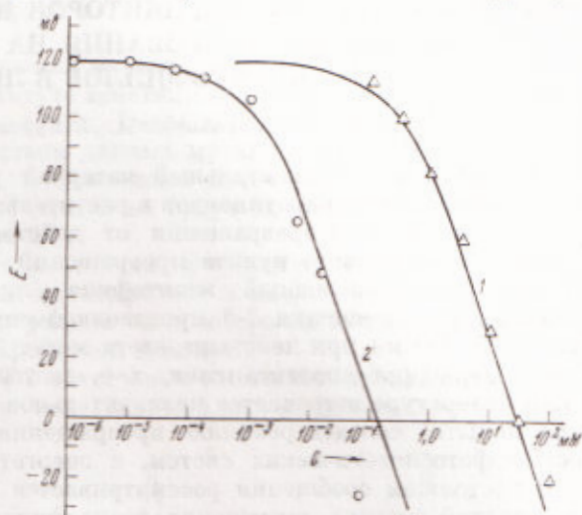


Рис. 2. Зависимость мембранного потенциала от концентрации катионов в растворе (опыт, проведенный весной 1968 г.). 1 — ионы калия, 2 — ионы водорода. Кривые рассчитаны по уравнению  $E = 59 \lg 30 / (\alpha C_0 + 0,3)$  при значениях коэффициента  $\alpha$ : для калия  $\alpha = 1$ , для водорода  $\alpha = 200$

Агрофизический институт  
Всесоюзной академии сельскохозяйственных наук  
им. В. И. Ленина  
Ленинград

Поступило  
19 VI 1970

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- 1 О. О. Лялин, В сборн. Вопросы экспериментальной биофизики и кибернетики растений, Л., 1969, стр. 144. 2 Н. Kitasato, Gen. Physiol., 52, № 1 (1968). 3 N. Higinbotham, V. Etherton, K. Foster, Plant Physiol., 39, № 2 (1964). 4 О. О. Лялин, И. Н. Ктиторова, Физиол. раст., 16, № 2 (1969). 5 Е. А. Либберман, В. П. Топалы, Биофизика, 13, № 6 (1968). 6 Д. Ф. Сатклифф, Поглощение минеральных солей растениями, М., 1964.

\* Численные значения  $A$  для  $E$  от 0 до 200 мв приводятся в приложении к работе (1).