

УДК 581.1.032

ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

Н. Н. ИШМУХАМЕТОВА, В. И. ХИСАМУТДИНОВА, И. М. ВАСИЛЬЕВА

**ВЗАИМОСВЯЗЬ СОСТОЯНИЯ ВОДЫ И ДЫХАНИЯ
ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ**

(Представлено академиком А. Л. Курсановым 10 IV 1973)

Работами (^{1, 2}) было показано, что увеличение содержания связанной воды в тканях определяет устойчивость растений против неблагоприятных условий; физиологическая активность организма зависит от количества свободной воды. В настоящее время существует мнение о том, что высокая ферментативная активность имеет место при определенном соотношении форм воды (³⁻⁵).

В данной работе сделана попытка выяснить взаимосвязь состояния воды в клетке и дыхания растений. Опыты проводились на листьях 7—10-дневных проростков пшеницы «Ульяновка». Состояние воды в клетке изучалось методом диэлектрических измерений (⁶). Измерение диэлектрической постоянной (д.п.) проводилось в области сверхвысоких частот (с.в.ч.) методом Радина (⁷). Увеличение д.п. образца по отношению к контролю означает уменьшение «связанной» воды, а уменьшение д.п.—увеличение «связанной» воды (⁸). Для изучения изменений, происходящих в «свободной» воде, были произведены измерения температурных зависимостей действительной ϵ' и мнимой ϵ'' частей д.п. на с.в.ч. На основе

Таблица 1

Влияние ингибиторов на интенсивность дыхания и д. п. листа

	1 вариант			2 вариант			3 вариант		
	без инфильтрации	инфильтрация водой (рН 5,6)	инфильтрация NaF	без инфильтрации	инфильтрация водой (рН 5,6)	инфильтрация 2,4-ДНФ	без инфильтрации	инфильтрация водой (рН 7,2)	инфильтрация диоксана
Интенсивность дыхания, $\mu\text{л}$ в 1 час на 1 г сырого веса	211 $\pm$ 5	240 $\pm$ 6	170 $\pm$ 5	248 $\pm$ 7	302 $\pm$ 7	413 $\pm$ 8	384	330	190
Диэлектрическая постоянная	30,6 $\pm$ 1,5	34,3 $\pm$ 0,3	33 $\pm$ 0,2	31,5 $\pm$ 1,0	33,8 $\pm$ 1,6	32,2 $\pm$ 1,6	31,8 $\pm$ 1,0	31,8 $\pm$ 1,5	29,3 $\pm$ 1,4
Интенсивность дыхания, % от водного контроля	—	—	70	—	—	136	—	—	57

этих измерений были вычислены времена диэлектрической релаксации молекул свободной воды и энергии активации этого процесса (⁹). Изучение интенсивности дыхания производилось манометрическим методом. Стимуляторы (глюкоза 10%, янтарная кислота $6 \cdot 10^{-2}$ М, галактоза 10%, фруктоза 10%, хинин $5 \cdot 10^{-4}$ М) и ингибиторы (NaF $5 \cdot 10^{-2}$ М, 2, 4-ДНФ $4 \cdot 10^{-4}$ М, диоксан 8%) вводились в листья методом вакууминфильтрации.

* В данной концентрации хинин стимулировал дыхание.

Таблица 2

Влияние стимуляторов на интенсивность дыхания и д. п. листа

	1 вариант			2 вариант			3 вариант			4 вариант			5 вариант		
	без инфильтрации	инфильтрация (рН 7,2)	инфильтрация пингвином	без инфильтрации	инфильтрация (рН 7,2)	инфильтрация пингвином	без инфильтрации	инфильтрация (рН 5,6)	инфильтрация пингвином	без инфильтрации	инфильтрация (рН 7,2)	инфильтрация пингвином	без инфильтрации	инфильтрация (рН 5,6)	инфильтрация пингвином
Интенсивность дыхания, $\mu\text{л}$ в 1 час на 1 г сырого веса	180 ± 3	160 ± 4	281 ± 7	225 ± 4	223 ± 6	319 ± 8	231 ± 4	264 ± 3	508 ± 8	178 ± 4	157 ± 3	288 ± 7	248 ± 4	303 ± 5	448 ± 40
Диэлектрическая постоянная	$32,2 \pm 1,0$	$32,5 \pm 1,5$	$41,7 \pm 3,0$	$32,2 \pm 1,0$	$31,4 \pm 1,5$	$36,4 \pm 3,0$	$32,0 \pm 1,6$	$33,6 \pm 1,0$	$39,4 \pm 2,9$	$32,2 \pm 1,0$	$32,5 \pm 1,2$	$30,6 \pm 3,0$	$31 \pm 1,0$	$33,8 \pm 1,2$	$37,7 \pm 1,2$
Повышение интенсивности дыхания, %	—	—	75	—	—	43	—	—	100	—	—	83	—	—	47

Было проведено 12 серий опытов. Повторность каждого опыта 8—10-кратная при измерении д.п. и 3-кратная при определении интенсивности дыхания. Показания манометров снимались через каждые 15 мин. в течение 2—2,5 час. Результаты опытов изложены в табл. 1, 2.

Как следует из данных табл. 1 и 2, существует, как правило, корреляция между снижением д.п. и интенсивностью дыхания при введении ингибиторов и повышением д.п. и интенсивностью дыхания при введении стимуляторов. Это свидетельствует о том, что интенсивность дыхания связана с гидратацией высокополимерных компонентов клетки. Усиление дыхания происходит при уменьшении их гидратации, а понижение дыхания — при ее увеличении. Противоречие наблюдалось для образцов, в которые инфильтрировалась вода. Инфильтрация воды в клетке растений должна приводить к нарушению д.п. (⁹). Однако однозначных результатов при этом не получалось. Интенсивность дыхания в этом случае или не менялась, или незначительно понижалась. Это привело к предположению о том, что при инфильтрации воды, рН которой не отличается от рН клеточной воды, ее молекулы не проникают внутрь клетки, а остаются в межклетниках. Поэтому в дальнейших опытах производилась инфильтрация подкисленной водой (рН 5,6). В результате была достигнута корреляция между интенсивностью дыхания и количеством «связанной» воды (д.п.) для этого варианта. Влияние 2,4-ДНФ не укладывается в общую схему, об этом будет сказано ниже.

Результаты опытов подтверждают работу (³), в которой показана роль воды в биологическом катализе на примере α -амилазы *Asp. oryzae*. Вода, являясь структурным элементом биополимеров, поддерживает конформацию ферментов и принимает участие в образовании энзим-субстратного комплекса. Через сеть водородных связей воды осуществляется передача электронов от фермента к субстрату. Таким образом, от состояния воды в клетке зависит интенсивность биохимических реакций.

Введение стимуляторов дыхания, видимо, приводит сначала к некоторому обезвоживанию ферментов за счет конкуренции гидроксильных групп этих веществ за водородные связи воды и затем они, являясь субстратами дыхания,

приводят к его усилению. Некоторое усиление дыхания происходит при введении подкисленной воды, которая нарушает структуру воды вокруг фермента и тем самым усиливает каталитические процессы за счет ресурсов самого растения.

Введение в клетку ингибитора дыхания фтористого натрия, который воздействует на фосфопируватгидратазу и другие ферменты, блокирует гликолиз и вызывает гидратацию ферментов (д.п. при этом снижается). По-видимому, фтористый натрий изменяет конформацию ферментов.

Раствор диоксана оказывает ингибирующее действие на дыхание растений, и при этом наблюдается снижение д.п., т. е. усиление гидратации высокополимерных компонентов клетки. В работе (¹⁰) было показано, что диоксан относится к типу веществ, которые, разрушая структуру воды, приводят к усилению гидратации ионов в растворах электролитов. Очевидно, в нашем случае наблюдается аналогичное явление.

Результаты изучения состояния свободной воды видны из данных по изучению энергии активации диэлектрической релаксации молекул свободной воды в клетках листа при 20° (Ф, ккал/моль):

Без инфильтрации	3,4±0,3	Инфильтрация	NaF	3,8±0,4
Инфильтрация водой	4,4±0,4	»	хинином	4,6±0,4
» 2,4-ДНФ	3,6±0,3	»	фруктозой	4,6±0,4

Из этого следует, что усиление гидратации и понижение интенсивности дыхания снижает энергию активации диэлектрической релаксации молекул свободной воды и, наоборот, усиление каталитической активности связано с уменьшением гидратной воды, что приводит к повышению энергии активации этого процесса.

Для объяснения этого факта мы привлекли 3-слойную модель гидратации в растворах электролитов (¹¹). Согласно этой модели, вода вокруг иона располагается в три слоя. К иону примыкает слой упорядоченной гидратной воды, в наружном слое находится обычная жидкая вода, а между ними располагается промежуточная область, молекулы которой находятся под влиянием двух конкурирующих взаимодействий, в результате чего этот слой оказывается более разупорядоченным, чем обычная вода. Число молекул воды в разупорядоченном слое всегда больше, чем в гидратном слое, в силу геометрических соображений, поэтому средняя энергия активации, рассчитанная по значениям энергий молекул, входящих во все 3 слоя, оказывается ниже, чем энергия активации молекул обычной воды. Подобные расчеты приведены в работе (¹²). На основе этой модели можно объяснить результаты наших опытов. Усиление гидратации фермента и снижение его каталитической активности сопровождается увеличением числа молекул в разупорядоченном слое. И, наоборот, уменьшение гидратного слоя приводит к уменьшению числа молекул в разупорядоченном слое, а следовательно, и к восстановлению водородных связей воды в этом слое. При этом каталитическая активность фермента возрастает.

Более сложным является влияние ДНФ на растение. Введение ДНФ приводит к увеличению интенсивности дыхания, но при этом д.п. растений снижается, т. е. усиливается гидратация высокополимерных компонент клетки. Возможным объяснением этого факта является то, что 2,4-ДНФ, разобщая окисление с фосфорилированием, снижает энергетическое снабжение клетки. Это приводит к усилению гидратации экзотермического процесса, как ответной реакции растения на неблагоприятные воздействия. Такое предположение согласуется с данными Жолкевича (¹³), которые показывают, что под влиянием засухи происходит увеличение количества связанной воды и разобщение окисления с фосфорилированием.

В работе (¹⁴) получены аналогичные данные, указывающие на усиление гидратации коллоидов протоплазмы при пониженном энергетическом уровне в клетках растений.

Итак, полученные данные свидетельствуют о наличии взаимосвязи между состоянием воды в клетке и процессами метаболизма (дыханием) листьев растений.

Казанский институт биологии
Академии наук СССР

Поступило
28 III 1973

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ А. М. Алексеев, Водный режим растений и влияние на него засухи, Казань, 1948. ² Н. А. Гусев, Некоторые закономерности водного режима растений, Изд. АН СССР, 1959. ³ И. Д. Иванов, Г. А. Молодова, Е. Е. Рахлеева, Изв. АН СССР, сер. биол., № 2, 257 (1965). ⁴ И. Г. Сулейманов, Л. П. Хохлова, Н. С. Елисеева, В сборн. Физиология водообмена и устойчивости растений, в. 2, Казань, 1971, стр. 131. ⁵ Н. С. Елисеева, И. Г. Сулейманов, В сборн. Зависимость физиологической роли воды от ее состояния, Казань, 1972, стр. 9. ⁶ Н. Н. Ишмухаметова, Автореф. кандидатской диссертации, Казань, 1971. ⁷ Ю. П. Радин, Изв. высш. учебн. завед., Радиофизика, 1, № 5—6, 1977 (1957). ⁸ Н. Н. Ишмухаметова, А. В. Страцева, ДАН, 200, № 4 (1971). ⁹ Н. Н. Ишмухаметова, Л. П. Хохлова, Физиол. раст., 18, № 1, 169 (1971). ¹⁰ М. В. Вдовенко, Ю. В. Гуриков, Е. К. Легин, ЖСХ, 10, № 4, 427 (1969). ¹¹ Н. S. Frank, Disc. Farad. Soc., 24, 133 (1957). ¹² А. И. Торяник, В. В. Кисельник, Теоретич. и эксп. хим., 5, № 3, 411 (1969). ¹³ В. Н. Жолкевич, Энергетика дыхания высших растений в условиях водного дефицита, «Наука», 1968. ¹⁴ Ф. Д. Самуилов, В сборн. Вопр. водообмена культурных растений, Казань, 1965, стр. 84.