

Д. Б. ВАХМИСТРОВ, Л. Н. ВОРОБЬЕВ, П. В. МЕЛЬНИКОВ

**K⁺-ТЕРМОДИНАМИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ И ДИСКРЕТНЫЕ
УРОВНИ МЕМБРАННЫХ ПОТЕНЦИАЛОВ КОРНЕВЫХ КЛЕТОК
TRIANEA BOGOTENSIS**

(Представлено академиком А. Л. Курсановым 18 I 1974)

Изучение процессов регулирования ионного транспорта в растениях ставит перед исследователями ряд вопросов об электрохимических градиентах ионов на цитоплазматических мембранах (1-4) и соотношении пассивного и активного ионного транспорта. Широко распространенный термодинамический критерий активного транспорта (5) предполагает, прежде всего, знание внутриклеточной активности ионов и мембранных потенциалов, что позволяет количественно оценить возможные энергетические затраты, если трансмембранный ионный обмен отклоняется от равновесного состояния.

В условиях равновесия, когда приток и отток ионов K⁺ равны друг другу, термодинамический K⁺-равновесный потенциал ($E_K = \frac{RT}{F} \ln \frac{K_0}{K_i}$),

где K₀ и K_i — активности ионов K⁺ во внешней среде и внутри клетки, R, T, F — стандартные обозначения) должен быть равен одновременно измеренному мембранныму потенциалу (1, 2); электрохимический градиент ионов K⁺ между клеткой и средой при этом отсутствует. Если же в системе клетка — среда существует чистый приток или чистый отток калия, то в условиях стационарного состояния должен быть равен нулю суммарный трансмембранный перенос различных ионов. Одним из признаков такого стационарного состояния клетки может быть установившийся на каком-то отрезке времени уровень трансмембранный разности потенциалов.

В литературе высказывались гипотезы (6-9) о существовании лабильных стационарных уровней в живых системах. Это означает, что электрохимические потенциалы ионов K⁺ в живой клетке, определяемые соотношением относительно устойчивых уровней K⁺-равновесного потенциала (2, 10) (E_K) и изменяющихся стационарных уровней мембранныного потенциала (E_m), могут периодически изменять как свою величину, так и направление.

Особый интерес этот аспект исследования регулирования трансмембранный ионного обмена представляет для функционально различных клеток корневого эпидермиса: трихобластов, образующих корневые волоски, и атрихобластов, не образующих их.

Объектом наших исследований были эпидермальные клетки высшего пресноводного растения *Trianea bogotensis*. Растения выращивали в стандартных условиях на питательном растворе, содержащем (в м M): K₂HPO₄ 0,1; NaHCO₃ 1,0; Ca(NO₃)₂ 0,4; MgCl₂ 0,2. Для экспериментов были выбраны следующие группы клеток: молодые корневые волоски (отношение диаметра к длине не менее 1:2), вакуолизированные «стареющие» корневые волоски (отношение не более 1:10) и безволосковые клетки как в зоне молодых, так и в зоне вакуолизированных корневых волосков. Опыты проводили на целом растении, которое помещали на

столике микроскопа в камеру с проточной системой. С помощью стандартной микроэлектродной техники (2) измеряли разность потенциалов между внешней (питательный раствор) и внутренней средой эпидермальных клеток. Внутриклеточную активность ионов K^+ определяли одновременно введением микроэлектрода — солевого мостика и точечного K^+ -чувствительного микроэлектрода осадочного типа (10).

Анализ результатов (табл. 1) показал, что для морфологически различных типов клеток корневого эпидермиса характерна дифференциация по степени накопления ионов K^+ : безволосковые клетки < молодые корневые волоски < вакуолизированные волоски. При этом можно, по-видимому, думать, что чем больше размеры и возраст корневых волосков, тем больше у них внутриклеточная активность ионов K^+ . Такая дифференциация позволяет предполагать функциональные различия между волосковыми и безволосковыми клетками.

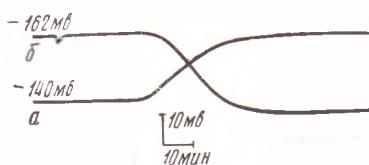


Рис. 1. Спонтанное изменение стационарного уровня мембранных потенциалов корневого волоска.
а — гиперполяризация, б — деполяризация

может происходить спонтанное увеличение (по абсолютной величине, рис. 1, а) или, что встречается реже, уменьшение (рис. 1, б) величины E_m . В других опытах измеряемая разность мембранных потенциалов сразу достигала почти максимальных величин, указанных в табл. 1, или поддерживалась на уровне -130 мв в течение нескольких часов.

Обработка результатов измерений E_m позволила выявить три группы стационарных мембранных потенциалов: M_1 , M_2 , M_3 (рис. 2), разница между средними значениями которых E_{m1} , E_{m2} , E_{m3} статистически досто-

Таблица 1
Разности потенциалов (E_m) и внутриклеточные активности ионов K^+ (a_K) в эпидермальных клетках корня *Trianea bogotensis*

Тип клеток	E_m , мв	a_K , мм
Молодые корневые волоски Вакуолизированные волоски	$-122 \div -220$ (74) $-110 \div -200$ (59)	97 ± 8 (29) 133 ± 7 (18)
Безволосковые клетки	$-120 \div -214$ (112)	74 ± 4 (11)

Приложение. Для величин E_m указаны диапазоны вариации, для a_K — $M \pm m$, в скобках указано число измерений. Данные по волосковым клеткам относятся к цитоплазме, по безволосковым — к вакуоли. Безволосковые клетки в зоне молодых и вакуолизированных корневых волосков статистически не различались, поэтому и сведены в одну графу.

верна ($P < 0,01$). Используя статистические критерии (11), установили, что в каждом типе эпидермальных клеток корня *T. bogotensis* мы имеем дело с тремя разными статистическими совокупностями. Границы и средние значения ряда вариантов представлены в табл. 2.

Следует заметить, что общая совокупность вариант E_m (табл. 1) не подчиняется закону нормального распределения по значениям коэффициентов асимметрии и эксцесса (11), в связи с чем в табл. 1 не указаны средние значения E_m . Отсутствие нормального распределения — дополнительный довод в пользу необходимости разбивки общей совокупности

на несколько, каждая из которых подчиняется закону нормального распределения.

Сопоставление стационарных уровней мембранных потенциалов (E_m) и расчетных значений K^+ -равновесных потенциалов (E_k) позволяет рассмотреть состояние электрохимических градиентов ионов K^+ в клетках эпидермиса. Обращает на себя внимание следующее.

1. E_{m2} всех типов клеток весьма близок к E_k (E_k для молодых корневых волосков равно -171 мв, для безволосковых клеток -166 мв), что

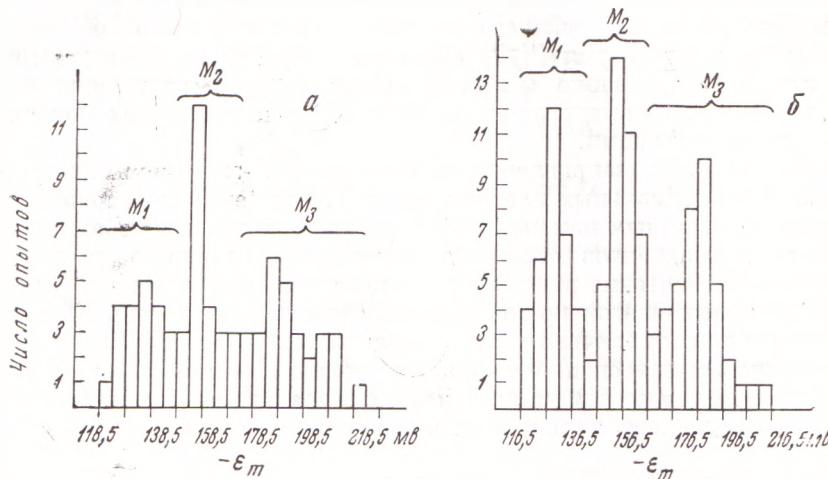


Рис. 2. Гистограмма величин измеренных мембранных потенциалов. *а* — молодые корневые волоски, *б* — безволосковые клетки. M_1 , M_2 , M_3 — группы измеренных потенциалов

может свидетельствовать о минимальных энергетических затратах клеток на поддержание данного стационарного состояния, которое, по-видимому, энергетически наиболее выгодно.

2. Переход мембранного потенциала на верхний стационарный уровень (E_{m3}), который существенно выше E_k ($E_{m3} - E_k = -20 \div -23$ мв), означа-

Таблица 2
Деление вариант E_m (мв) на три статистические совокупности

Тип клеток	Группа	Границы совокупности	Среднее значение E_m	Объем совокупности
Молодые корневые волоски	M_1	$-118,5 \div -148,5$	-134 ± 2	19
	M_2	$-143,5 \div -173,5$	-158 ± 2	26
	M_3	$-168,5 \div -223,5$	-194 ± 3	29
Безволосковые клетки	M_1	$-116,5 \div -146,5$	-130 ± 2	34
	M_2	$-141,5 \div -176,5$	-158 ± 2	42
	M_3	$-171,5 \div -216,5$	-188 ± 2	36

ет, что K^+ -электрохимический градиент направлен внутрь клетки, способствуя притоку ионов K^+ . Разность $E_{m3} - E_k$ характеризует, вероятно, вклад электрогенной э.д.с., генерирование которой связано с расходованием энергии метаболических процессов.

3. Мембранные потенциалы на уровне E_{m1} ниже E_k , что может объясняться увеличением проницаемости клеток для других катионов (например, для натрия) или для анионов по сравнению с калием. K^+ -электрохимический градиент в этом случае направлен из клетки в среду, облегчая возможный отток ионов K^+ . Для удержания стационарного уровня калия

клетка должна расходовать энергию (~ 1000 кал/моль). Такое состояние может продолжаться в течение многих часов — до тех пор, пока ионообменные процессы не перейдут на энергетически более выгодный уровень E_{m_2} .

Одновременное измерение мембранных потенциалов в двух клетках одного и того же корня *T. bogotensis* дало возможность установить, что они могут занимать в одно и то же время разные стационарные уровни E_{m_1} , E_{m_2} , E_{m_3} биоэлектрических потенциалов. Следовательно, между клетками корня могут существовать значительные электрические и K^+ -концентрационные (табл. 1) градиенты. Сделанный ранее вывод об эквипотенциальности клеток корня (¹²⁻¹⁴) основывался на сравнении усредненных значений E_m . Усреднение может нивелировать существующую в какой-либо конкретный момент времени разность электрических потенциалов между двумя клетками.

Таким образом, направление и величина K^+ -электрохимических градиентов в эпидермальных клетках корня *T. bogotensis* подвержены периодическим спонтанным изменениям. Описываемые нами колебания электрохимических градиентов отражают, возможно, присущие растительным клеткам периодические включения процессов активного транспорта ионов. Для волосковых клеток по мере накопления калия уровень K^+ -равновесного потенциала увеличивается и приближается ($E_k = -183$ мв у «стареющих» корневых волосков) к верхнему уровню E_{m_3} мембранных потенциалов, указывая тем самым на изменение с возрастом вклада метаболической энергии в регулирование ионного транспорта.

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

Поступило
15 I 1974

Московский государственный университет
им. М. В. Ломоносова

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ J. Dainty, Ann. Rev. Plant. Physiol., v. 13, 379 (1962). ² Л. Н. Воробьев, Тр. МОИП, т. 45, 30 (1970). ³ Д. Б. Вахмистров, Ю. Я. Мазель, Итоги науки и техники, Физиол. раст., т. 1, 164 (1973). ⁴ N. Higinbotham, Ann. Rev. Plant. Physiol., v. 24, 25 (1973). ⁵ T. Rosenberg, Symp. Soc. Exp. Biol., v. 8, 27 (1954). ⁶ Э. С. Баур, Теоретическая биология, М., 1935. ⁷ K. Oda, Sci. Reports Tōhoku Univ., Ser. 4, Biol., v. 28, 1, 1 (1962). ⁸ И. Тасаки, Нервное возбуждение, М., 1971. ⁹ Г. А. Волков, Л. А. Милюк, ДАН, т. 175, № 6, 1379 (1967). ¹⁰ Ю. А. Хитров, Л. Н. Воробьев, Физиол. раст., т. 18, в. 6, 1169 (1971). ¹¹ В. Ю. Урбах, Биометрические методы, М., 1964. ¹² B. I. H. Scott, H. Gulline, C. K. Pallaghy, Austral. J. Biol. Sci., v. 21, 2, 185 (1968). ¹³ J. Dunlop, D. J. F. Bowling, J. Exp. Bot., v. 22, 71, 434 (1971). ¹⁴ М. С. Красавина, Физиол. раст., т. 21, 1, 5 (1974).