

Ф. Д. САМУИЛОВ, В. И. НИКИФОРОВА

**ИССЛЕДОВАНИЕ СОСТОЯНИЯ ВОДЫ В РАСТЕНИЯХ  
С ПРИМЕНЕНИЕМ ТЯЖЕЛОЙ ВОДЫ  $D_2O$  И МЕТОДА Я. М. Р.**

(Представлено академиком А. Л. Курсановым 6 XII 1973)

В литературе имеются разноречивые сведения о состоянии воды в биологических системах (<sup>1</sup>). По мнению одних исследователей, вода в клетках находится в особом структурированном состоянии, в котором молекулы воды и биологические макромолекулы составляют единую упорядоченную систему. Другие исследователи отрицают повышенную упорядоченность воды в биологических системах и исходят из существования только близкой упорядоченности (мономолекулярной гидратации). Исходя из представления о структурированности воды в клетках, в ряде исследований (<sup>2, 3</sup>) отмечается, что причиной изотопных эффектов при изменении изотопного состава воды организмов может быть изменение структурного состояния воды в клетках. Предполагается, что соответствие между биомacroмолекулами и молекулами воды может существенно нарушаться при неравномерном изотопном составе воды в клетке.

Учитывая, что экспериментальные данные в этом направлении могут представлять интерес для выяснения вопроса о состоянии воды в клетках, в настоящей работе ставилась цель — исследовать с помощью метода ядерного спинового эха изменения в состоянии воды в клетках при замене ее на тяжелую воду  $D_2O$ , а также выяснить влияние такой замены на поступление воды в растение.

Опыты проводились на кукурузе Стерлинг в фазе 5–8 листьев, выращенной в гравийной культуре на питательном растворе Чеснокова и Базыриной. Опытные растения подразделялись на варианты и помещались в растворы с различной концентрацией тяжелой воды с целью замены  $H_2O$  тканей на  $D_2O$ : в опытах по изучению состояния воды в клетках — на 24 часа, а в опытах по изучению влияния  $D_2O$  на поглощение воды растениями — на 48 час. Для характеристики состояния воды в тканях растений проводили определение коэффициентов самодиффузии воды ( $D$ ) и времен протонной релаксации ( $T_1$  и  $T_2$ ). Коэффициенты самодиффузии молекул воды измерялись по методу изменения градиента  $G$  внешнего магнитного поля при постоянном промежутке времени  $\tau$  между 90–180°-ными импульсами (<sup>4</sup>), а время спин-спиновой и спин-решеточной релаксации определялось по методу Хана (<sup>5–6</sup>). Для изучения поглощения воды растениями использовали высокочувствительный электронный прибор, работающий по принципу емкостного уровнемера (<sup>7</sup>). Использование прибора основано на изменении диэлектрической проницаемости среды между пластинами конденсатора при изменении уровня жидкости в тонкой трубке, соединяющейся с сосудом, в который помещается корневая система растения.

Результаты и обсуждение. Чтобы выявить изменения в состоянии воды в растениях под действием  $D_2O$ , проводили определение в тканях коэффициентов самодиффузии воды и времен протонной релаксации (табл. 1). Из таблицы видно, что изменения коэффициентов самодиффузии воды в тканях листьев под влиянием  $D_2O$  незначительны и находятся в пределах ошибки опыта. В тканях корней и в стебле под влиянием

ем тяжелой воды наблюдается тенденция к снижению величины коэффициента самодиффузии воды, что свидетельствует об уменьшении скорости трансляционного движения молекул воды в тканях корней и стебля. Это может быть обусловлено снижением проницаемости клеточных мембран при замене  $H_2O$  клеток на  $D_2O$  вследствие изменения метаболических процессов в клетках под влиянием  $D_2O$ . Так, установлено (8) снижение интенсивности дыхания и скорости аэробного окисления янтарной кислоты после помещения объектов в  $D_2O$ , возможно обусловленное изменениями в процессе переноса электронов по дыхательной цепи. Показано также (9) возникновение специфического ингибирования некоторых ферментативных реакций в интактных митохондриях под действием 92—96%  $D_2O$ , в частности в зависящей от энергии трансгидрогеназной реакции. Последнее указывает на возможность влияния  $D_2O$  на состояние клеточных мембран через посредство биоэнергетических процессов (10, 11). Однако имеются данные, на основании которых можно судить о возможности прямого влияния  $D_2O$  на проницаемость клеточных мембран. Установлено (12), что энергия активации клеточной воды выше  $4,6 \text{ ккал} \cdot \text{моль}^{-1}$ , т. е. больше, чем энергия активации для диффузии чистой жидкой воды. В ряде работ (13—15) показано, что замена в воде протонов дейтронами приводит к упрочению водородных связей — действие, подобное охлаждению. Такая стабилизация структуры воды должна снижать проницаемость клеток и их мембран.

Таким образом, возможно, что при проникновении воды через клеточные мембраны (через протопласт) решающую роль играет структура воды. Предполагается (12), что в мембранах имеются пути воды (выстланные полярными протениновыми группами), которые не являются каналами или порами в полном смысле, а представляют фазы молекул воды, водородные связи которых взаимодействуют с веществами мембраны и структурный порядок которых повышается прежде всего неполярными компонентами мембраны. В связи с этим представляет интерес рассмотрение изменений времен протонной релаксации в тканях.

Характерно, что изменение времен релаксации под влиянием  $D_2O$  в различных органах растений происходит не одинаково. В стеблях кукурузы, где среди основной паренхимы находятся проводящие пучки с довольно крупными сосудами и в тканях преобладает содержание свободной воды, при повышении содержания  $D_2O$  в клетках наблюдается увеличение времени спин-решеточной релаксации  $T_1$  в соответствии с теорией Бломбергена (16). В таком же направлении изменяется в тканях стеблей и время  $T_2$ .

Таблица 1

Изменение коэффициента самодиффузии воды и времен протонной релаксации в тканях растений под влиянием тяжелой воды  $D_2O$

Содержание дейтерия в воде тканей, ат. %	Листья			Стебли			Корни		
	$D \cdot 10^5 \pm 3\%$ , см <sup>2</sup> /сек	$T_1 \pm 5\%$ , мсек.	$T_2 \pm 5\%$ , мсек.	$D \cdot 10^5 \pm 3\%$ , см <sup>2</sup> /сек	$T_1 \pm 5\%$ , мсек.	$T_2 \pm 5\%$ , мсек.	$D \cdot 10^5 \pm 3\%$ , см <sup>2</sup> /сек	$T_1 \pm 5\%$ , мсек.	$T_2 \pm 5\%$ , мсек.
0,015	1,24	750	108	1,05	1200	142	1,00	1030	95
10,10	1,31	710	100	0,98	1290	164	0,90	950	92
19,80	1,23	650	98	0,90	1390	173	0,94	890	88
41,35	1,33	620	90	0,88	1420	198	0,80	840	79

В листьях и в корнях растений, ткани которых отличаются активным метаболизмом и более высоким содержанием связанной воды, по сравнению с тканями стебля, под влиянием  $D_2O$  наблюдается сокращение време-

ни спин-решеточной релаксации. Это может быть следствием усиления гидратации в результате изотопного обмена, повышения структурированности воды путем образования дополнительных водородных связей и перехода плотноупакованной (более подвижной) фракции воды в решеточно-упорядоченную фракцию. Такое предположение согласуется с имеющимися в литературе данными (<sup>13-15</sup>).

О возможности изменения соотношения решеточно-упорядоченной и плотноупакованной фракций воды под влиянием D<sub>2</sub>O можно судить в известной степени по изменению времени спин-спиновой релаксации — T<sub>2</sub>. Величина T<sub>2</sub> в тканях листьев и корней кукурузы под влиянием тяжелой воды сокращается, что может быть связано с увеличением содержания решеточно-упорядоченной фракции воды. Изменение времен протонной релаксации в тканях при замене H<sub>2</sub>O клеток на тяжелую воду D<sub>2</sub>O свидетельствует о том, что состояние внутриклеточной воды, ее структурированность может изменяться при неравномерном изотопном составе воды в клетках.

Влияние замещения воды тканей тяжелой водой D<sub>2</sub>O на поглощение воды растениями кукурузы показано на рис. 1. Результаты опытов показывают, что высокие концентрации D<sub>2</sub>O заметно подавляют процесс поглощения воды растениями, что согласуется с рассмотренными выше данными об уменьшении скорости трансляционного движения молекул воды в тканях корней и стебля при изотопном обмене.

В настоящее время имеется большое число данных, свидетельствующих о зависимости поглощения воды

растениями от их метаболизма и состояния цитоплазмы в клетках (<sup>17-20</sup>). В связи с этим для объяснения результатов наших опытов особый интерес представляют исследования, в которых установлено изменение биохимических процессов растений при замене изотопного состава воды в клетках (<sup>8, 9</sup>). Наряду с этим полученные данные показывают, что на процесс поглощения воды могут влиять изменения в состоянии воды в клетках растений, происходящие под влиянием тяжелой воды. Эти изменения могут зависеть как от структурированности воды в клетках, так и от состояния (проницаемости) клеточных мембран, определяющих подвижность молекул воды.

Таким образом, на основании рассмотренных данных можно сделать вывод, что высокие концентрации D<sub>2</sub>O оказывают влияние на состояние воды в клетках растений, ее структурированность, на клеточную проницаемость и, в конечном счете, на скорость процессов поглощения и передвижения воды в растениях.

Казанский сельскохозяйственный институт им. М. Горького

Поступило  
15 XI 1973

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> Н. А. Гусев, Л. П. Хохлова и др., Бот. журн., т. 54, № 1, 53 (1969). <sup>2</sup> G. Hübnner, Kernenergie, Н. 4/5, 379 (1962). <sup>3</sup> С. З. Рогинский, С. Э. Шноль, Изотопы в биохимии, Изд. АН СССР, 1963. <sup>4</sup> D. E. Woessner, Rev. Sci. Instrum., v. 31, № 10, 1146 (1960). <sup>5</sup> E. L. Hahn, Phys. Rev., v. 80, 580 (1950). <sup>6</sup> E. L. Hahn, Physics to day, v. 6, 4 (1953). <sup>7</sup> Н. Н. Попов, В сборн. Вопросы физиологии сельскохоз. растений, Казань, 1965. <sup>8</sup> H. Laser, E. C. Slater, Nature, v. 187, 1115 (1960). <sup>9</sup> J. A. Margolis, G. Lenaz, H. Baum, Arch. Biochem. and Biophys., v. 118, 224 (1967). <sup>10</sup> А. Ленин-

джер, Митохондрия. Молекулярные основы структуры и функции, М., 1966. <sup>11</sup> В. П. Скулачев, Трансформация энергии в биомембранах, «Наука», 1972. <sup>12</sup> J. Weigl, Zs. Naturforsch., B. 22, № 8, 885 (1967). <sup>13</sup> G. Nemethy, H. A. Scheraga, J. Chem. Phys., v. 43, № 3, 680 (1964). <sup>14</sup> В. М. Вдовенко, Ю. П. Гуриков, Е. К. Легин, В сборн. Структура и роль воды в живом организме. Л., 1966. <sup>15</sup> R. F. Henderson, T. R. Henderson, В. М. Woodfin, J. Biol. Chem., v. 245, № 15, 3733 (1970). <sup>16</sup> А. Лёше, Ядерная индукция, ИЛ, 1963. <sup>17</sup> А. М. Алексеев, В сборн. Водный режим растений и их продуктивность, «Наука», 1968. <sup>18</sup> А. М. Алексеев, Водный режим клеток растения в связи с обменом веществ и структурированностью цитоплазмы, «Наука», 1969. <sup>19</sup> Ф. Д. Самуилов, Водный обмен и состояние воды в растениях в связи с их метаболизмом и условиями среды, Автореф. докторской диссертации, Казань, 1969. <sup>20</sup> Л. В. Можалева, Н. В. Пильщикова, Изв. ТСХА, в. 3, 3 (1972).