

УДК 577.3

ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

В. А. ОПРИТОВ, В. О. КРАУЗ

**О РОЛИ АТФазных БЕЛКОВ В ИЗМЕНЕНИИ ПРОНИЦАЕМОСТИ
ПОВЕРХНОСТНЫХ ПЛАЗМАТИЧЕСКИХ МЕМБРАН КОРНЕЙ
ДЛЯ ФОСФАТ-ИОНОВ ПОД ВЛИЯНИЕМ ПРИШЕДШЕЙ
ИЗ НАДЗЕМНОЙ ЧАСТИ ВОЛНЫ ВОЗБУЖДЕНИЯ**

(Представлено академиком А. Л. Курсановым 21 III 1974)

Установлено быстрое изменение поглощения фосфат-ионов корнями под влиянием пришедшей из надземной части волны возбуждения (¹). Данный феномен дает основание полагать, что потенциалу действия (п.д.) может принадлежать своеобразная сигнальная роль в регуляции поглощательной деятельности корней при действии на растение внешних факторов. Теоретический анализ явления позволил заключить, что оно в первую очередь связано с изменением активного транспорта фосфат-ионов через поверхностные плазматические мембраны корней (¹). В связи с этим представлялось важным исследовать состояние в них АТФазных белков.

Сейчас можно считать доказанным наличие в поверхностных мембранах корней АТФаз, чувствительных к моновалентным катионам (²). Получены результаты, свидетельствующие о возможном участии этих ферментов в активном поглощении корнями ионов (⁴), в частности ионов ортофосфата (⁵). Поэтому можно ожидать, что установленный нами факт быстрого изменения корневого поглощения R_n под влиянием п.д. в значительной мере связан с перестройками в системе АТФазных белков поверхностных плазматических мембран.

Опыты проводили с семидневными проростками вики (*Vicia sativa* L.), выращенными на $\frac{1}{5}$ смеси Кнопа и за день до опыта перенесенными на водопроводную воду. Определение АТФазной активности мембран наружной поверхности корней осуществляли по описанной в литературе методике (⁵, ⁶) путем учета R_n отщепленного корнями при погружении их на определенное время в 10^{-3} М раствор АТФ с оптимальным значением рН 6,0. Известно, что АТФ наружной среды взаимодействует главным образом с поверхностными плазматическими мембранами клеток (⁷). В каждом опыте использовали по пять проростков вики. Корни выдерживали в растворе АТФ 15 мин., после чего верхушки проростков раздражали путем микроинъекции 1 М раствора KCl и регистрировали п.д. на основании стебля примененным ранее методом (¹). Импульсы достигали корневой системы за 40–50 сек. и имели параметры, приведенные в работе (⁸). Через определенные интервалы времени брали пробы для анализа R_n по Фиске и Субарроу. Контрольные эксперименты показали, что на полученные результаты не оказывают заметного влияния процессы поглощения и выделения R_n корнями, так как количество отщепленного от АТФ R_n велико по сравнению с его количеством, участвующим в названных процессах. Для выявления Na^+-K^+-ATP азы и миозиноподобных АТФаз корни предварительно обрабатывали в течение 30 мин. соответственно $1,1 \cdot 10^{-4}$ М раствором строфантина К или 10^{-4} М раствором *n*-парахлормеркурибензоата (ПХМБ). Изучение поглощения фосфат-ионов проводили изотопной методикой из $2 \cdot 10^{-3}$ М раствора $KH_2P^{32}O_4$ с удельной активностью 0,4 мкС/мл. Спустя 3 мин. после погружения корневых

систем в радиоактивный раствор верхушки проростков раздражали 1 М КСl и регистрировали п.д. В известные моменты времени производили взятие проб корней для учета радиоактивности. Надземные части проростков для анализа не использовали, поскольку за время опыта P^{32} в них практически не успевал поступить.

На рис. 1 представлены результаты проведенного в одних и тех же условиях сопоставления действия пришедшей из надземной части волны возбуждения на динамику поверхностной АТФазной активности корней и

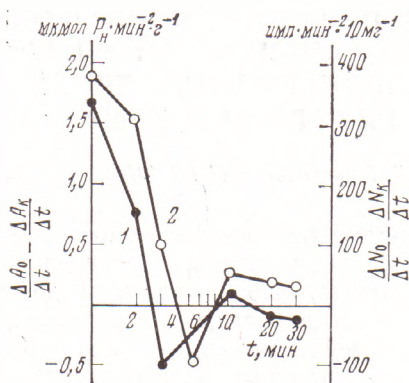


Рис. 1. Влияние раздражения верхушек проростков вики 1 М раствором КСl на поверхностную АТФазную активность корней (1) и поступление в них P^{32} (2). Раздражение нанесено за 1 мин. до начала отсчета. $\frac{\Delta A_0}{\Delta t} - \frac{\Delta A_K}{\Delta t}$ — разность приращений АТФазной активности в единицу времени между опытом и контролем; $\frac{\Delta N_0}{\Delta t} - \frac{\Delta N_K}{\Delta t}$ — то же для радиоактивности P^{32} .

поступление в них P^{32} . Они выражены однотипно в виде разницы приращений обеих величин в единицу времени между опытом и контролем и позволяют сделать два заключения: 1) под влиянием пришедшей из надземной части волны возбуждения происходит двухфазное изменение поверхностной АТФазной активности корней; 2) имеется большое сходство изменения АТФазной активности и поглощения P^{32} корнями. Таким образом, причастность АТФазных белков мембран наружной поверхности корня к установленному изменению поглощения фосфат-ионов под влиянием п.д. получает основательное подкрепление.

Среди поверхностных АТФаз важная роль в изучаемом явлении принадлежит, по-видимому, миозиноподобным белкам, которым придается существенное значение в поглонительной деятельности корневой системы⁽⁹⁾. Обработка корней 10^{-4} М раствором ПХМБ, ингибирующим в первую очередь миозиноподобные АТФазы, чувствительные к двухвалентным катионам⁽¹⁰⁻¹²⁾, значительно уменьшает влияние п.д. на поверхностную АТФазную активность (рис. 2а).

Особого внимания заслуживает тот факт, что влияние возбуждения на способность АТФаз наружной поверхности корней гидролизовать экзогенную АТФ резко тормозится $1,1 \cdot 10^{-4}$ М раствором строфантина К (рис. 2а), являющимся специфическим ингибитором $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{АТФазы}$ ^(13, 14). Последняя, как известно, проявляет свою активность на внутренней стороне плазматических мембран. Поэтому этот эффект можно понять лишь допуская, что $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{АТФазе}$ принадлежит важное место в развитии акта возбуждения и что благодаря ее участию облегчается влияние п.д. на экто-АТФазы и проникновение P_n из наружной среды в корни. В соответствии с этим предположением можно было ожидать, что обработка строфантином К вызовет уменьшение влияния п.д. не только на поверхностную АТФазную активность корней, но и на поступление в них P^{32} . Как видно из приведенных результатов, это явление действительно имеет место (рис. 2б).

Итак, мы можем, по-видимому, говорить о возникновении при возбуждении в системе АТФазных белков поверхностных плазматических мембран корней цепи взаимосвязанных изменений, имеющих отношение к наблюдаемым сдвигам проницаемости для фосфат-ионов.

Быстрота наступления данного эффекта указывает на то, что в его основе могут лежать структурные перестройки в макромолекулах ферментов. В условиях наших экспериментов их следует, очевидно, связать с электротоническим влиянием п.д. При этом меняется поляризация поверхностных мембран корней, что в соответствии с имеющимися данными (15-17) находит выражение в закономерных сдвигах трансмембранного потенциала и ионных соотношений. Значение первого фактора возможно в свете развиваемых представлений о влиянии потенциала покоя (п.п.)

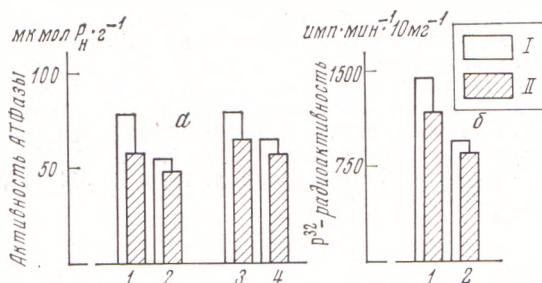


Рис. 2. Изменение поверхностной АТФазной активности корней (а) и поступления в них R^{32} (б) через 2 мин. после раздражения надземной части проростков вики 1 М раствором KCl. Для а: 1, 3 — фон (10^{-3} М АТФ + $2 \cdot 10^{-3}$ М $MgSO_4$ + $2 \cdot 10^{-2}$ М трис-малеатный буфер pH 6,0) ($P < 0,01$); 2 — фон + $1,1 \cdot 10^{-4}$ М строфантин К ($P > 0,1$); 4 — фон + 10^{-4} М ПХМБ ($P < 0,01$). Для б: 1 — фон ($2 \cdot 10^{-3}$ М $KH_2P^{32}O_4$ + $2 \cdot 10^{-2}$ М трис-малеатный буфер pH 6,0) ($P < 0,01$); 2 — фон + $1,1 \cdot 10^{-4}$ М строфантин К ($P > 0,1$). I — раздражение, II — контроль.

на состояние мембранных АТФаз (18). Что касается второго, то его роль не вызывает сомнений, поскольку действие ионного окружения на ферментативную активность прочно установлено.

Можно полагать, что при возбуждении в результате конформационных перестроек изменяется способность АТФаз поверхностных мембран реализовать энергию АТФ и, как следствие, активный транспорт R^{32} . Вместе с тем, структурные перестройки АТФазных белков, по-видимому, оказывают влияние на состояние мембраны и ее пассивную проницаемость для фосфат-ионов. Изменение пассивной проницаемости, наряду с активным транспортом, может приводить к некоторому отличию динамики поступления R^{32} в корни и АТФазной активности (рис. 1).

Вполне вероятно, что установленные изменения в системе мембранных АТФаз являются одним из ведущих факторов в действии волны возбуждения не только на поглощение веществ корнями, но и на другие физиологические процессы у растений. Влияя на структуру поверхностных мембран и на обеспечение энергией АТФ реакций, локализованных в самих мембранах и примембранных слоях протоплазмы, перестройки в системе АТФазных белков могут в конечном счете определять динамику переходного процесса в целом. Эти соображения следует пока рассматривать как рабочую гипотезу. Однако они, по нашему мнению, подводят конкретную основу под факты, природа которых у растений была совершенно неясной и, таким образом, намечают реальные пути для дальнейшего научного поиска.

Авторы выражают глубокую признательность Э. И. Вискребенцевой за ценные советы при написании данной статьи.

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ В. А. Оприлов, В. О. Крауз, В. М. Треушников, Физиол. раст., т. 19, в. 5, 961 (1972).
- ² T. K. Hodges, R. T. Leonard et al., Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A., v. 69, № 11, 3307 (1972).
- ³ F. A. Williamson, R. S. Wyn Jones, Isotop. and Radiat. in Soil-Plant Relationships, Vienna, 1972, p. 69.
- ⁴ М. С. Красавина, Э. И. Выхребенцева, Физиол. раст., т. 19, в. 5, 878 (1972).
- ⁵ Н. Г. Поганов, Е. А. Карпов, С.-х. биол., т. 6, № 2, 242 (1971).
- ⁶ Д. Б. Вазмистров, Н. Е. Мишустина и др., Физиол. раст., т. 20, в. 6, 1224 (1973).
- ⁷ W. Ullrich, Planta, v. 57, № 6, 713 (1962).
- ⁸ В. О. Крауз, В. А. Оприлов, Уч. зап. Горьковск. ун-в., в. 159, 33 (1972).
- ⁹ Л. В. Можеева, Е. М. Булычева, Изв. ТСХА, в. 2, 3 (1971).
- ¹⁰ Б. Ф. Поглазов, В. Билуши, Л. А. Баев, Биохимия, т. 23, в. 2, 265 (1958).
- ¹¹ М. Борстон, Гистохимия ферментов, М., 1965.
- ¹² О. М. Рожманова, Л. Н. Стельмах, Сборн. Биофизика мембран, ч. 1, Каунас, 1971, стр. 671.
- ¹³ R. L. Post, S. Kume et al., J. Gen. Physiol., v. 54, № 1, 306 (1969).
- ¹⁴ В. К. Лешко, М. К. Малышева, Н. М. Полякова, Укр. биохим. журн., т. 43, № 1, 17 (1971).
- ¹⁵ Э. И. Выхребенцева, А. М. Синюхин, Физиол. раст., т. 14, в. 5, 823 (1967).
- ¹⁶ В. В. Горчаков, Сборн. Вопросы тропич. и субтропич. с. х., М., 1971.
- ¹⁷ Г. Г. Мамулашвили, М. С. Красавина, О. О. Лялин, Физиол. раст., т. 19, в. 3, 551 (1972).
- ¹⁸ W. Junge, Europ. J. Biochem., v. 14, № 3, 582 (1970).