

В. И. АРТАМОНОВ

ВЛИЯНИЕ 2,4Д НА ПРОНИЦАЕМОСТЬ РАСТИТЕЛЬНЫХ ТКАНЕЙ

(Представлено академиком М. Х. Чайлахяном 6 XI 1974)

В настоящее время биологи различных специальностей все более приходят к выводу, что разнообразные эффекты, будь то возникновение рака (1), реализация действия стероидных гормонов (2), фитогормонов (3, 4) и др., имеют самое непосредственное отношение к явлениям проницаемости. Механизм действия гербицида 2,4Д, по-видимому, не является исключением. Между тем вопрос влияния галлоидфеноксикислот на проницаемость в опубликованной книге (5), к сожалению, остался неосвещенным. В связи с этим мы считали интересным изучить действие 2,4Д на проницаемость растительных тканей. При проведении исследований нас интересовал эффект таких концентраций 2,4Д, которые вызывают разрастание тканей. Согласно современным представлениям, изменения в проницаемости тканей являются основой для возникновения физиологических гиперплазий и реактивных пролиферационных процессов (4). Хотя между новообразованиями, индуцированными 2,4Д, и истинными опухолями, обладающими способностью к автономному росту, существуют известные принципиальные отличия, изучение физиолого-биохимических изменений в них представляет значительный интерес, связанный с раскрытием механизма действия гербицида. К тому же исследователи (6) обнаружили способность гербицида вызывать у прорастающих семян возникновение гормональной автономности, что говорит о более глубоких изменениях в тканях, нежели при каллюсообразовании.

Ранее нами (7) было показано, что наличие новообразований, индуцированных 2,4Д в зоне эпикотила фасоли, увеличивает подвижность флуоресцеина в тканях. Вместе с тем опрыскивание раствором гербицида растений гороха сопровождалось повышением электрического сопротивления междоузлий и уменьшением проницаемости их тканей для электролитов. Противоречивость полученных данных требовала проведения дополнительных исследований. Оставалось неясным, является ли изменение проницаемости первичным ответным актом клеток на действие 2,4Д.

Для более детального изучения проницаемости растительных тканей нами разработан новый метод ее измерения. Предварительно было установлено, что с помощью электронного флуорометра ЭФ-3, используя светофильтры для рибофлавина, можно обнаружить незначительные изменения концентрации флуоресцеина в растворе. Это обстоятельство использовано для изучения проницаемости растительных тканей при кратковременном воздействии на них раствором 2,4Д.

Опыты проводились на отделенных корешках 2-дневных проростков фасоли длиной 1 см. Если такие проростки в течение некоторого времени выдержать в растворе 2,4Д концентрации 30 мг/л, то в их подсемядольной части возникнут утолщения. Динамика их появления показана на рис. 1. Отделенные от проростков корешки на 1,5 часа погружались в раствор флуоресцеина для насыщения клеток флуорохромом. Затем корешки тщательно отмывались дистиллированной водой от флуоресцеина, адсорбированного на поверхности клеток, и по 10 (в других опытах по

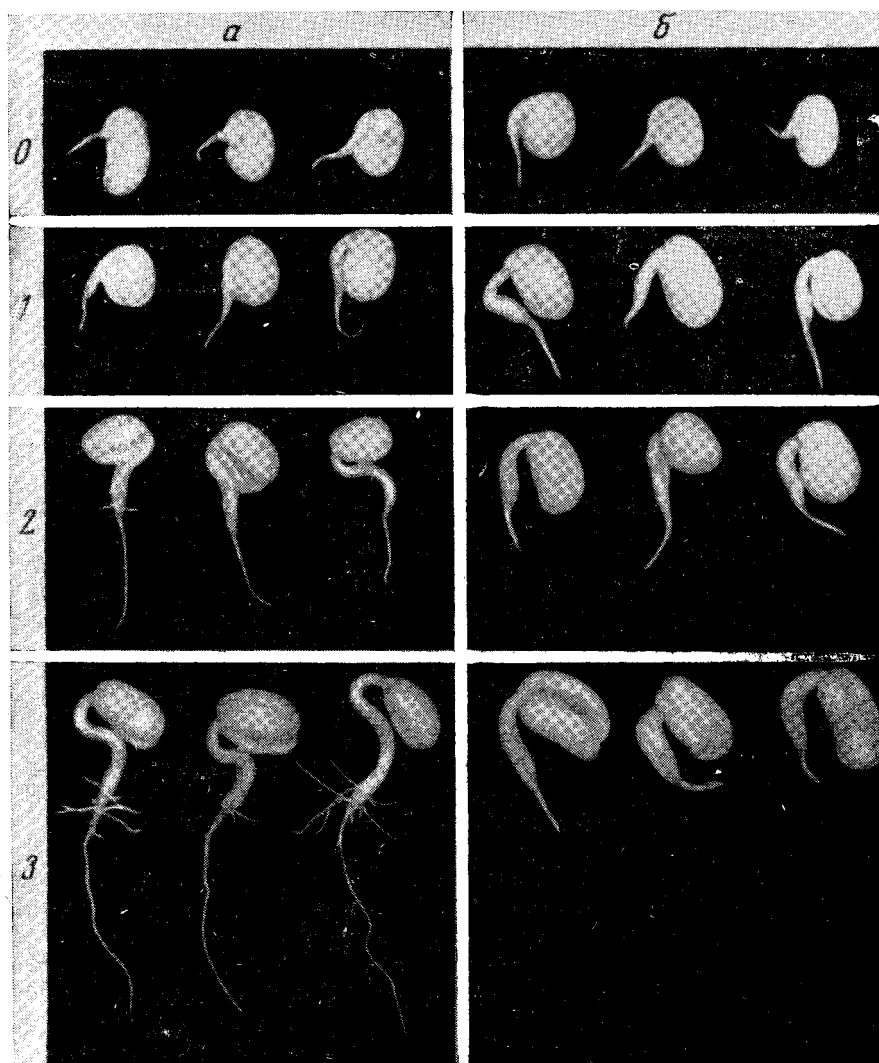


Рис. 1. Динамика утолщения подсемядольной части проростков фасоли под действием 2,4Д (а — контроль, б — 2,4Д; 0, 1, 2, 3 — дни после обработки)

15) штук помещались в кварцевые кюветы, содержащие по 10 мл дистиллированной воды или раствора гербицида концентрации 1, 10, 25 мг/л. Для того чтобы выходящий из тканей флуоресценин не концентрировался вокруг корешков и не ограничивал скорость диффузии, кюветы встряхивались на качалке. Измерения концентрации флуоресценина в кюветках проводились каждые 5 мин. Результаты опыта иллюстрирует рис. 2.

Как показывают приведенные данные, 2,4Д в концентрации 1 мг/л почти не влияет на выход флуоресценина. Значительно подавляется его проникновение в раствор при концентрации гербицида 10 мг/л. Еще большая разница обнаружена при действии раствора 2,4Д концентрации 25 мг/л. Весьма важно, что влияние гербицида осуществляется очень быстро: уже через 15 мин. после начала опыта мы фиксировали заметные различия между вариантами.

Можно предположить, что действие 2,4Д связано либо с изменением проницаемости цитоплазматических мембран, либо с тушением флуоресценции флуоресценина, выходящего из тканей, вследствие его разрушения, подобно тому, как снижается интенсивность флуоресценции рибофлавина

в присутствии 2,4Д⁽⁸⁾. Однако экспериментальная проверка второго предположения не подтвердила его. Поместив кварцевые кюветы с раствором флуоресцеина (концентрация 0,4 мг/л) без гербицида и с 2,4Д (концентрация 25 мг/л) под лампы дневного света (освещенность 3000 лк), мы в течение 2,5 час. не наблюдали снижения интенсивности флуоресценции, в то время как в аналогичных условиях интенсивность флуоресценции раствора рибофлавина заметно снижалась, причем в присутствии 2,4Д скорость фотодеградации рибофлавина существенно возрастала (табл. 1). Та-

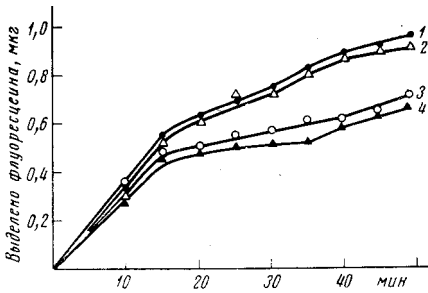


Рис. 2

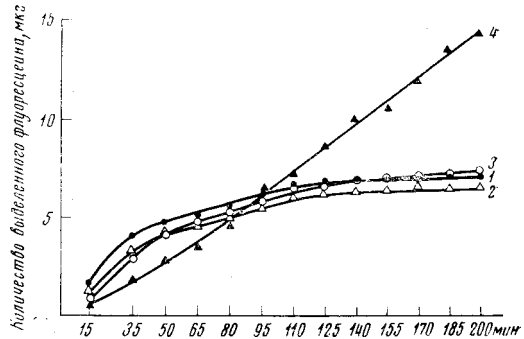


Рис. 3

Рис. 2. Влияние 2,4Д на выделение флуоресцеина изолированными корешками двухдневных проростков фасоли. 1 — контроль (вода), 2 — 2,4Д, 1 мг/л, 3 — 2,4Д, 10 мг/л, 4 — 2,4Д, 25 мг/л

Рис. 3. Изменение проницаемости корешков двухдневных проростков фасоли при длительном воздействии растворов 2,4Д. 1 — контроль (вода), 2 — 2,4Д, 5 мг/л, 3 — 2,4Д, 25 мг/л, 4 — 2,4Д, 250 мг/л

ким образом, приведенные данные позволяют считать, что 2,4Д непосредственно влияет на цитоплазматические мембраны, изменяя их проницаемость. Изменение проницаемости возможно при образовании комплексов между молекулами 2,4Д и белками клеточных мембран, в результате чего возникают конформационные изменения белковых молекул, приводящие к задержке выхода флуоресцеина.

Обнаруженная нами закономерность, согласно которой в самом начале воздействия гербицидом проницаемость тканей уменьшается прямо пропорционально его концентрации, была подтверждена и при использовании других концентраций 2,4Д (10, 50, 250 мг/л).

Представляло интерес выяснить, будет ли наблюдаться эта закономерность при более длительном пребывании корешков фасоли в растворе 2,4Д. Рис. 3 показывает результаты опыта, в котором были использованы растворы 2,4Д концентрации 5, 25 и 250 мг/л. Кроме того для насыщения тканей флуоресцеином был взят более концентрированный его раствор. В остальном методика проведения опыта была прежней.

Результаты этого опыта оказались весьма интересными. В течение первых 30 мин. наблюдалась та же закономерность, что и в предыдущем опыте: чем выше концентрация гербицидов, тем сильнее тормозится выход флуоресцеина из тканей. Однако в дальнейшем обнаружилась иная картина. Спустя некоторое время под влиянием раствора гербицида концентрации 250 мг/л начался интенсивный выход флуоресцеина. Через 90 мин. после погружения в раствор из опытных корешков фасоли вышло столько же флуоресцеина, сколько и из контрольных. Впоследствии по темпам выделения флуорохрома из тканей опытные корешки существенно определили контрольные. Что касается раствора гербицида концентрации 25 мг/л, в этом случае наблюдалась сходная закономерность, выраженная, однако, значительно слабее. В растворе гербицида концентрации

5 мг/л проницаемость тканей на протяжении всего эксперимента была несколько ниже, чем в контроле.

Полученные результаты можно интерпретировать следующим образом. Действие 2,4Д на проницаемость складывается из двух этапов. Первый этап связан, по-видимому, с адсорбцией гербицида цитоплазматическими мембранами. При этом возникают конформационные изменения белковых молекул, приводящие к торможению проницаемости. Снижение проницаемости выражено тем сильнее, чем больше адсорбируется на мембранах

Таблица 1

Влияние 2,4Д на разрушение рибофлавина и флуоресцеина *in vitro*
(содержание флюорохрома в мкг в 10 мл)

Варианты опыта	Исходное колич.	Время, мин.				
		30	60	90	120	150
Рибофлавин (контроль)	4,0	3,6	3,1	2,8	2,6	2,3
Рибофлавин + 2,4Д	4,1	3,0	2,3	1,9	1,6	1,3
Флуоресцеин (контроль)	3,9	3,8	3,9	3,9	3,8	3,9
Флуоресцеин + 2,4Д	3,9	3,8	3,6	3,9	3,9	3,8

молекул гербицида. В дальнейшем, в зависимости от концентрации гербицида могут наблюдаться различные явления. Высокие концентрации 2,4Д вызывают необратимые нарушения структуры клеточных мембран, в результате чего возникают диспропорции в обмене веществ, сопровождающиеся гибелью клеток. Концентрации гербицида порядка 25 мг/л также изменяют структуру мембран и характер метаболизма, однако эти нарушения не носят летальный характер. Поврежденные клетки переходят на эволюционно более древний тип метаболизма, что морфологически выражается в возникновении различного рода новообразований. Наконец, слабые концентрации 2,4Д не приводят к существенным нарушениям структуры клеточных мембран и могут стимулировать нормальный рост.

Изложенное не означает, что действие 2,4Д на метаболизм связано исключительно с изменением структуры цитоплазматических мембран. По мере проникновения гербицида в клетку он взаимодействует с флавиновыми ее компонентами (⁸, ⁹), а также с ядерными белками-гистонами (¹⁰, ¹¹), что наряду с изменением проницаемости имеет непосредственное отношение к явлениям дедифференцировки и разрастания тканей.

Смоленский педагогический институт

Поступило
31 X 1974

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Ю. М. Васильев, А. Г. Маленков, Клеточная поверхность и реакции клеток, Л., 1968. ² П. В. Сергеев, Р. Д. Сейфулла, А. И. Майский, Молекулярные аспекты действия стероидных гормонов, М., 1971. ³ В. В. Полевой, Тез. Международн. симпозиума по стимуляции растений, София, 1966, стр. 38. ⁴ Г. М. Артамонова, В. И. Артамонов, Физиол. раст., т. 18, 633 (1971). ⁵ Д. И. Чжаников, М. С. Соколов, Гербицидное действие 2,4Д и других галоидкислот, М., 1973. ⁶ M. Buiatti, A. Bennici, Atti Accad. naz. Lincey Rend. Cl. sci. fis. mat. e natur., v. 48, 261 (1970). ⁷ В. И. Артамонов, Г. М. Артамонова, Сб.: Природные ресурсы западных областей РСФСР и их рациональное использование, Смоленск, 1974, стр. 121. ⁸ В. И. Артамонов, Физиол. раст., т. 21, 950 (1974). ⁹ В. И. Артамонов, Усп. совр. биол., т. 77, 452 (1974). ¹⁰ Yamada Yasuyuki, Yasuda Takeshi et al., Coll. Int. CNRS, № 193, 137 (1971). ¹¹ L. G. Chen, A. Ali et al., Weed. Sci., v. 21, 181 (1973).