

УДК 581.112.6

ИЗУЧЕНИЕ ПРИРОДЫ ДВИЖУЩЕЙ СИЛЫ ПЛАЧА РАСТЕНИЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ХИМИЧЕСКИХ ВОЗДЕЙСТВИЙ

Л. В. МОЖАЕВА, Н. В. ПИЛЬЩИКОВА, В. И. КУЗИНА

(Кафедра физиологии растений)

Вопрос о природе силы, вызывающей плач растений, до сих пор является спорным. Большинство исследователей признает осмотическую гипотезу, согласно которой воду сосет раствор, находящийся в сосудах ксилемы корня благодаря наличию осмотического градиента между пасокой и внешним раствором [9—11, 14, 16, 17, 18, 22, 23]. Однако имеются данные, свидетельствующие о том, что плач может происходить и в отсутствие осмотического градиента для передвижения воды [3—5, 13, 18, 20].

В корне нет непрерывного осмотического градиента для радиального передвижения воды [28]. Плач сильнее увеличивается под влиянием приложенного градиента гидростатического давления, чем градиента осмотического потенциала [21, 24, 25]. Осмотический градиент не всегда имеется в растениях в природных условиях. Так, у сильно транспирирующих растений поступление воды в ксилему корня в большей мере способствует градиент гидростатического натяжения [23]. У некоторых растений из группы мангровых поступление воды в ксилему постоянно происходит против осмотического градиента примерно в 20 атм [26]. Наконец, для остановки плача необходим внешний раствор, осмотическое давление которого значительно выше, чем у пасоки [4, 5, 6, 13, 27]. Этот факт рассматривается как доказательство участия в нагнетании воды наряду с осмотическими неосмотическими сил [4—6, 12, 27]. На основании этих данных высказано предположение, что корневое давление (движущая сила плача) состоит из двух компонентов — осмотического давления и «активного давления» [27]. Последнее зависит от энергии дыхания, так как подавляется KCN [27] и 2,4-динитрофенолом (ДНФ) [13] и возрастает под влиянием факторов, усиливающих энергетический обмен, например аденина [4].

Вместе с тем некоторые исследования показывают, что роль осмотических и неосмотических сил в нагнетании воды неоднозначна. Так, исключение активного давления путем снижения температуры приводит к усилению оттока воды из корня в гипертонический раствор сахарозы [7]. В опытах с химическими воздействиями на корневую систему установлено, что скорость плача меняется прямо пропорционально величине активного давления и не зависит от величины осмотического давления пасоки [5]. При помещении корней в концентрированные растворы солей активное давление возрастает быстрее, чем осмотическое давление пасоки [5]. В связи с этим высказывается предположение, что основным компонентом корневого давления является активное (метаболическое) давление [3, 5].

В нашей работе ставилась задача проверить данное предположение. С этой целью изучали соотношение между скоростью плача и величиной осмотического и активного давления при воздействии на корни химиче-

ских веществ и осмотической силы внешнего раствора. В качестве химических веществ использовали ингибиторы отдельных реакций энергетического обмена — 2,4-динитрофенол, *n*-хлормеркурибензоат (ПХМБ) и строфантин К, а также соединения, способные оказывать влияние на мембраны клеток корня (пипольфен, ЭДТА).

Известно, что ДНФ является разобщителем окислительного фосфорилирования [12] и поэтому ухудшает условия обеспечения нагнетательной деятельности корня метаболической энергией. ПХМБ подавляет активность ферментов, содержащих сульфгидрильную группу, в частности АТФ-азную активность актомиозиноподобных белков [8], которые, по-видимому, участвуют в нагнетании воды корнем [3, 6]. Строфантин К является специфическим ингибитором Na-K-АТФ-азы, присутствующей в плазматической мембране корня [1, 15] и, по некоторым данным, участвующей в процессах водно-солевого обмена растительных клеток [1]. Действие пипольфена, вещества из группы анестетиков, также локализовано преимущественно на плазмалемме и состоит в вытеснении из нее кальция. В результате меняются структура и свойства мембран. Показано, что под влиянием пипольфена резко возрастает проницаемость корней для воды [1]. ЭДТА был взят для сравнения с пипольфеном как комплекс, связывающий 2-валентные ионы и тем самым способный повлиять на состояние мембран.

Материал и методика

Объектом опытов был 40—45-дневный подсолнечник (*Helianthus annuus* L.) сорта Саратовский 10, выращиваемый на разбавленной вдвое питательной смеси Кнопа с добавлением микроэлементов в теплице Лаборатории искусственного климата Тимирязевской академии при естественном освещении с добавлением к нему света люминесцентных ламп.

Для опытов отбирали растения с одинаково развитой надземной частью и корневой системой. Их декапитировали на уровне корневой шейки, на которую надевали каучуковую трубку длиной около 3 см, соединенную с дугообразно изогнутой толстостенной стеклянной капиллярной трубкой. Последняя почти вплотную прилегала к поверхности среза пенька. Корни после декапитации дважды ополаскивали дистиллированной водой.

При изучении действия химических веществ контрольные корни помещали на дистиллированную воду, опытные — на водные растворы соответствующих веществ. рН растворов и воды доводили до 5,6—5,8. В течение 7 ч учитывали скорость плача по объему пасоки, выделенной за 1 ч на одну корневую систему. Пасоку собирали в градуированные пробирки. Скорость плача измеряли в том же отсеке теплицы, где выращивали растения, при температуре воды или раствора 20°.

В конце опыта определяли компенсационное давление по величине осмотического давления внешнего раствора, останавливавшего плач. В качестве осмотически действующего вещества использовали полиэтиленгликоль (ПЭГ) с молекулярной массой около 3000. При определении с пенька снимали каучуковую трубку с капилляром. В воду или в раствор добавляли ПЭГ до прекращения выделения пасоки в течение 3 мин. Выделяющуюся пасоку по мере появления удаляли фильтровальной бумагой. Все определение занимало 5—7 мин. В собранной пасоке и во внешнем растворе, останавливавшем плач, определяли осмотическое давление криоскопическим методом. Для каждого определения использовали 10 мл пасоки или раствора. По разнице между компенсационным давлением и осмотическим давлением пасоки находили величину активного давления, развиваемого корневой системой. Определяли также концентрацию калия в пасоке с помощью пламенного фотометра.

Рассматриваемые ниже данные являются средними для трех опытов. В пределах одного опыта для каждого варианта использовали 10—12 растений, для которых определяли среднюю скорость плача; собранную пасоку соединяли в одну порцию, служившую для определения осмотического давления. Компенсационное давление определяли у трех растений каждого варианта в каждом опыте.

Результаты исследований

Данные, приведенные в табл. 1 и на рисунке, показывают, что все вещества в использованных концентрациях в той или иной мере снижали скорость плача. Непосредственной причиной этих изменений могли быть прежде всего изменения движущей силы плача. В опытах определялись три показателя, которые могли влиять на величину движущей силы: компенсационное давление, останавливающее плач, осмотическое давление пасоки и активное давление корня. Как видно из табл. 1, компенсационное давление во всех вариантах уменьшалось, однако относительное его снижение было значительно меньше относительного снижения скорости плача. Осмотическое давление пасоки, наоборот, во всех вариантах, кроме варианта со строфантином, увеличивалось за время опыта. Следовательно, его изменения не могли быть причиной снижения плача. Некоторое падение осмотического давления пасоки в варианте со строфантином также было недостаточным, чтобы быть причиной уменьшения плача в этом варианте. Точно так же скорость поступления калия хотя и снижалась, но в несколько меньшей степени, чем скорость плача.

Наиболее тесно скорость плача коррелировала с величиной активного давления, которое снижалось в той же степени, что и скорость плача. В этом можно убедиться при рассмотрении данных табл. 2, из которых видно, что количество пасоки, выделенное на 1 атм активного давления во всех вариантах опыта было почти одинаковым, в то время как объем пасоки на единицу компенсационного давления, осмотического давления и на 1 мг калия, содержащегося в пасоке, значительно различался по вариантам опыта. Эти данные позволяют думать, что снижение скорости плача в основном зависит от активного давления. Данные табл. 1 показывают, что под влиянием химических воздействий активное давление изменяется значительно сильнее, чем осмотическое давление пасоки, и, следовательно, является более лабильным и более чувствительным показателем.

Рассмотрим причины этих изменений. Снижение активного давления под влиянием ДНФ свидетельствует о зависимости его от энергии дыхания. Об этом говорит также снижение активного давления под влиянием ПХМБ и строфантина. Интересно, что эти вещества в концентрации 10^{-5} М вызывали почти одинаковое снижение величины активного давления. В известной мере это указывает на то, что действие их было направ-

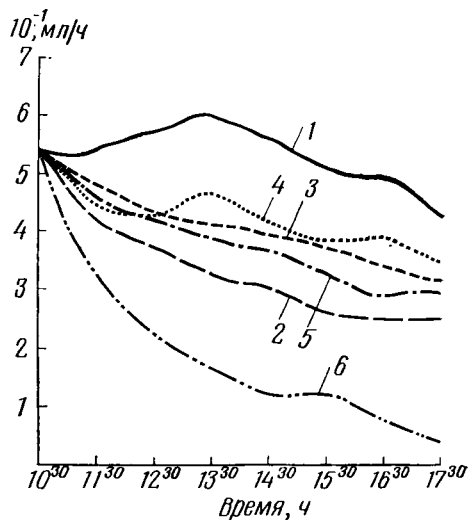


Рис. 1. Влияние химических воздействий на скорость плача.

1 — контроль; 2 — 2,4-ДНФ; 3 — ПХМБ; 4 — строфантин К; 5 — ЭДТА; 6 — пилольфен.

Влияние химических воздействий на скорость и движущую силу плача

Вариант	Скорость плача, 10^{-1} мл/ч	Давление, атм			Доля активного давления в компенсации, %	Содержание калия в пасоке, μ /мл	Скорость секреции калия, μ /ч
		компенсационное	осмотическое	активное			
Контроль*	$5,4 \pm 0,4$	$2,38 \pm 0,11$	$0,95 \pm 0,06$	$1,43 \pm 0,15$	60,1	236,0	127,4
ДФФ, 10^{-4} М	$3,1 \pm 0,2$	$1,87 \pm 0,15$	$1,09 \pm 0,06$	$0,78 \pm 0,09$	41,7	275,5	85,4
	57,4	78,6	114,7	54,5	69,4	116,7	67,0
ПХМБ, 10^{-5} М	$3,9 \pm 0,3$	$2,09 \pm 0,12$	$1,10 \pm 0,11$	$0,99 \pm 0,08$	47,4	275,0	107,2
	72,2	87,8	115,8	69,2	78,9	116,5	84,1
Строфантин К, 10^{-5} М	$4,1 \pm 0,4$	$1,91 \pm 0,18$	$0,83 \pm 0,04$	$1,08 \pm 0,08$	56,5	214,1	87,8
	75,9	80,2	87,4	75,5	94,0	90,7	68,9
ЭДТА, 10^{-3} М	$3,6 \pm 0,3$	$2,11 \pm 0,13$	$1,05 \pm 0,07$	$0,96 \pm 0,11$	45,5	260,7	93,8
	66,7	88,6	110,5	67,1	75,7	110,5	73,6
Пипольфен, 10^{-3} М	$1,8 \pm 0,2$	$1,69 \pm 0,10$	$1,17 \pm 0,09$	$0,52 \pm 0,07$	30,8	423,9	76,3
	33,3	71,0	123,2	36,4	51,2	179,6	59,9

* В знаменателе — % к контролю.

влено в основном на одно и то же звено метаболических превращений, а именно, на процессы использования энергии, связанные с участием АТФ-азных систем. Несколько более слабое действие строфантина по сравнению с действием ПХМБ можно объяснить тем, что он не проникает в клетки [1] и подавляет только Na-K-АТФ-азу, локализованную в плазмалемме, в то время как ПХМБ обладает более широким спектром действия и проникает в клетки, поэтому подавляет и другие АТФ-азные системы, а также, возможно, другие тиоловые ферменты. Обращает на себя внимание то, что строфантин сильнее снижал поступление калия в ксилему, чем ПХМБ, что приводило к уменьшению содержания этого элемента в пасоке и было одной из причин снижения осмотического давления пасоки.

Каким образом воздействие на Na-K-АТФ-азу, локализованную в плазмалемме, могло отразиться на величине активного давления? Объяснение этому факту можно найти в исследованиях Л. Х. Гордона [1], где показано, что торможение активности данного фермента строфантинем сопровождается снижением интенсивности дыхания корней. Вследствие этого должно было уменьшаться количество энергии, поставляемой дыханием, что и могло приводить к снижению величины активного давления. Уменьшение последней под влиянием ПХМБ можно объяснить блокированием АТФ-азных систем, участвующих в использовании энергии дыхания на процессы нагнетания воды. Среди указанных систем могли быть и актомиозиноподобные белки. В связи с этим заслуживает внимания тот факт, что ПХМБ подавляет сокра-

Таблица 2

Соотношение между скоростью и движущей силой плача

Вариант	Количество пасоки, мл			
	на 1 атм компенсации давления	на 1 атм осмотического давления	на 1 атм активного давления	на 1 мг калия в пасоке
Контроль	0,23	0,57	0,38	2,29
ДФФ	0,16	0,28	0,40	1,12
ПХМБ	0,19	0,35	0,39	1,42
Строфантин К	0,21	0,49	0,38	1,92
ЭДТА	0,17	0,34	0,38	1,38
Пипольфен	0,11	0,15	0,35	0,43

шение клеток корня, вызванное резким повышением температуры [6]. Таким образом, снижение активного давления под влиянием данных веществ можно объяснить недостатком энергии в корнях.

Действие пипольфена и ЭДТА, взятых в одинаковой и довольно высокой концентрации $10^{-3}M$, существенно различалось. Пипольфен снижал активное давление почти в 2 раза сильнее, чем ЭДТА. На основании литературных данных [1] причиной такого действия пипольфена можно считать «разрыхление» и «разжижение» мембран, в первую очередь плазмалеммы, вследствие вытеснения из них кальция. В результате увеличивается проницаемость клеточных мембран для воды и облегчается выход ее из клеток, что, по-видимому, затрудняет выталкивание ее в сосуды корня. Следовательно, необходимым условием для поддержания активного давления корня является сохранение целостности и избирательной проницаемости клеточной мембраны. Потеря избирательности, ведущая к усилению выхода воды из клетки, приводит к снижению величины активного давления. Наблюдавшееся в варианте с пипольфеном заметное повышение осмотического давления пасоки, вероятно, является следствием частичного оттока воды из клеток корня и соответственно замедления поступления ее в сосуды по сравнению с поступлением калия, содержание которого в пасоке несколько возросло.

Более слабое по сравнению с пипольфеном влияние ЭДТА, по-видимому, связано с его ограниченной способностью к взаимодействию с двухвалентными ионами, находящимися в мембранах. Прочно связанные ионы могут не подвергаться его воздействию [8].

Общим для всех испытанных веществ было то, что снижение скорости плача сопровождалось уменьшением поступления калия в сосуды ксилемы, хотя строгой пропорциональности в этих изменениях не наблюдалось. Данный факт указывает на изменения сорбционных свойств и функционального состояния клеток корня, которое, по-видимому, имеет значение для поддержания достаточного уровня их нагнетательной деятельности.

Обсуждение результатов

Рассматриваемые данные, как и результаты наших предыдущих исследований [3, 4, 5], показывают, что скорость плача не зависит от величины осмотического давления пасоки и наиболее тесно коррелирует с величиной активного давления. Последняя очень чувствительна к химическим воздействиям. Под влиянием ДНФ, строфангина и ПХМБ, способствующих уменьшению образования АТФ в процессе дыхания или блокирующих АТФ-азные реакции, связанные с использованием АТФ, величина активного давления снижается, что ведет к соответствующему уменьшению скорости плача. Это согласуется с результатами исследований Овербика [27], показавшего, что активное давление снижается под влиянием KCN, а также с данными Жолкевича и др. [13], свидетельствующими об уменьшении неосмотического компонента корневого давления под влиянием ДНФ. Следует отметить, что абсолютные величины осмотического давления пасоки и активного давления, полученные нами и указанными исследователями, довольно близки.

Активное давление и скорость плача снижались и при погружении корней в растворы пипольфена и ЭДТА, способных, судя по литературным данным [1], оказывать действие прежде всего на мембранные структуры клетки. Это в особенности относится к пипольфену, влияние которого за время длительной экспозиции, составлявшей 7 ч, распространялось, по-видимому, не только на плазмалемму, но и на внутренние мембраны цитоплазмы и, таким образом, могло затрагивать связанные с ними процессы, о чем говорит значительное увеличение подавляющего действия пипольфена со временем.

Полученные данные показывают, что для процесса нагнетания воды необходимо сохранение ненарушенной структуры и избирательной проницаемости мембран. Этот вывод был сделан и на основании результатов наших предыдущих работ, показавших, что ионы свинца, блокирующие белковый компонент мембраны [1], также снижают активное давление и скорость плача [5]. Потеря избирательной проницаемости мембран клеток корня ведет к уменьшению их водоудерживающей способности и скорости плача.

Приведенные данные подтверждают представление о зависимости процесса активного нагнетания воды от энергии дыхания [2, 3, 4, 5, 13, 27]. Остается неясным, каким образом внутриклеточная энергия используется на этот процесс. Результаты наших опытов позволяют полагать, что она необходима прежде всего для поддержания структуры и избирательной проницаемости мембран. Кроме того, возможно, что расход энергии связан с использованием ее в специфических механохимических реакциях сокращения протопластов или их составных частей с участием сократительных белков [6]. Косвенно на такую возможность указывает высокая чувствительность активного давления и плача к *n*-хлормеркурибензоату. Но для более определенных выводов необходимы дальнейшие исследования.

Тем не менее полученные данные являются новым доказательством участия неосмотических сил в процессе нагнетания воды. Выявлению действия этих сил способствовало использование слабых водных растворов химических веществ, позволяющее свести к минимуму осмотическое противодействие нагнетанию воды. Опыты показали, что под влиянием химических веществ величины активного давления и скорости плача менялись пропорционально, что указывает на существование между ними прямолинейной зависимости. Это полностью согласуется с данными предыдущих работ, в которых установлена такая же закономерность при воздействии на корни NaF, Pb (NO₃)₂ и камфоры [5]. Интересно, что в обоих случаях соотношения между количеством воды, поступившим с пасокой, и величиной активного давления были близкими и составляли около 0,4 мл/ч·атм.

Полученные данные позволяют полагать, что нагнетание воды осуществляется главным образом под влиянием активного давления, которое, по-видимому, является основным компонентом движущей силы плача растений. В соответствии с этим представлением воду сосет не раствор, находящийся в сосудах, ее активно выталкивают в ксилему живые клетки корня. Осмотическое давление пасоки, вероятно, служит для удержания воды в сосудах и уменьшения сопротивления активному поступлению в них воды.

Выводы

1. Воздействие на корни подсолнечника растворами ДНФ в концентрации 10⁻⁴М, строфантина К и *n*-хлормеркурибензоата в концентрации 10⁻⁵М, ЭДТА и пипольфена в концентрации 10⁻³М, приводит к снижению активного давления корня и, как правило, повышает осмотическое давление пасоки.

2. Скорость плача под влиянием химических воздействий снижается пропорционально уменьшению активного давления и не зависит от величины осмотического давления пасоки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гордон Л. Х. Дыхание и водно-солевой обмен растительных тканей. М., «Наука», 1976. — 2. Можеева Л. В., Булычева Е. М. Свойства сократи-

тельного белка, выделенного из корней тыквы. «Изв. ТСХА», 1971, вып. 2, с. 3—9. — 3. Можеева Л. В., Пильщикова Н. В. О природе нагнетания

воды корнями растений. «Изв. ТСХА», 1972, вып. 3, с. 3—15. — 4. Можаяева Л. В., Пильщикова Н. В. О осмотическом поступлении воды в сосуды корня. «Изв. ТСХА», 1976, вып. 6, с. 3—11. — 5. Можаяева Л. В., Пильщикова Н. В. Соотношение между величиной компонентов корневого давления и скоростью нагнетания воды корнями. «Докл. АН СССР», 1978, т. 239, № 4, с. 1005—1008. — 6. Можаяева Л. В., Пильщикова Н. В., Зайцева Н. В. Изучение сократительных свойств клеток корня в связи с ритмичностью плача растений. «Изв. ТСХА», 1975, вып. 1, с. 3—13. — 7. Можаяева Л. В., Хуан Му-юй, Синюхина Л. А. Действие гетероауксина на плач растений. «Докл. ТСХА», 1958, вып. XXXIX, с. 209—215. — 8. Поглазов Б. Ф. Структура и функции сократительных белков. М., «Наука», 1965. — 9. Сабинин Д. А. О способе определения величины движущей силы плача растений. Изв. Биол. науч.-исслед. ин-та и Биол. ст. при Перм. гос. ун-те, 1923, т. II, с. 195—206. — 10. Сабинин Д. А. О корневой системе как осмотическом аппарате. Изв. Биол. науч.-исслед. ин-та при Перм. гос. ун-те, 1925, т. 4, прилож. 2, с. 3—128. — 11. Сабинин Д. А. О значении корневой системы в жизнедеятельности растений. М.-Л., Изд-во АН СССР, 1949. — 12. Семихатова О. А. Методы оценки энергетической эффективности дыхания растений. Л., «Наука», 1967. — 13. Синицына З. А., Пейсахзон Б. И., Жолкевич В. Н. О осмотическом компоненте корневого давления. «Докл. АН СССР», 1977, т. 232, № 1, с. 252—255. — 14. Слейчер Р. Водный режим растений. М., «Мир», 1970. — 15. Тихая Н. И., Мишус-

тина Н. Е., Куркова Е. Б., Вахмистров Д. Б., Самойлова С. А. Оубоинчувствительная ($\text{Na}^+ + \text{K}^+$) АТФ-азная активность клеточных мембран, изолированных из корней ячменя. «Физиол. раст.», 1976, т. 23, вып. 6, с. 1197—1206. — 16. Трубецкова О. М. Исследования над поступлением воды и минеральных веществ в растения. Ученые записки МГУ. Биол., 1935, вып. 4, с. 278—304. — 17. Трубецкова О. М. Корневая система растений как орган снабжения надземных органов питательными веществами и водой. «Физиол. раст.», 1965, т. 12, вып. 5, с. 775—783. — 18. Arisz W. H., Helder R. T., Van Nie R. "J. of Exp. Bot.", 1951, vol. 2, N 6, p. 257—297. — 19. Broeyer T. C. "Am. J. Bot.", 1951, vol. 38, N 3, p. 157—162. — 20. Ginsburg H., Ginzburg B. Z. "J. Membran Biol.", 1971, vol. 4, N 1, p. 29—41. — 21. Glinka Z. "Plant Physiol.", 1977, vol. 59, N 5, p. 933—935. — 22. House C. R. Water transport in cells and tissues. L., 1974. — 23. Kramer P. I. "Plant a. soil water relationships: a modern synthesis. McGraw-Hill Book Company, New York, St. Louis, San Francisco, London, Sydney, Toronto, Mexico, Panama, 1969. — 24. Mees G. C., Weatherley P. E., "Proc. Royal Soc.", 1957, vol. 147, N 928, p. 381—391. — 25. O'Leary T. W. "Bot. Gazette", 1965, vol. 126, N 2, p. 108—115. — 26. Scholander P. F., Hammel H. T., Hemmingen E. A., Brandstrut E. D. "Proc. Nat. Acad. Sci. of USA", 1964, vol. 52, N 1, p. 119—125. — 27. Van Overbeek J. "Am. J. Bot.", 1942, vol. 29, N 8, p. 677—682. — 28. Ursprung A., Blum G. "Ber. deut. Bot. Ges.", 1921, Bd 34, S. 88—104.

Статья поступила 7 июля 1978 г.

SUMMARY

The action of the solutions of DNP in concentration 10^{-4} mol, strophanthini and n-chlorinimercurbenzoate in concentration 10^{-5} mol. EDTA and pipolphen in concentration 10^{-3} mol resulted in lower active pressure of the root and, as a rule, increased the osmotic pressure of the bleeding sap. Under the effect of the chemicals the speed of exudation was reduced proportionally to the reduction of the active pressure and was not dependent on the osmotic pressure of the bleeding sap. Active pressure is supposed to be the main motive force of exudation in plants.