

УДК 581.133.8

В. Б. Абдыев, Н. А. Касумов

Бакинський державний університет, Азербайджан

ПОГЛОЩЕНИЕ ИОНОВ ХЛОРА ИЗ РАСТВОРА $NaCl$ КОРНЕВОЙ СИСТЕМОЙ ЯЧМЕНЯ ПРИ ДЕЙСТВИИ $NaBr$

Изучено поглощение ионов хлора из раствора $NaCl$ корнями ячменя при действии ионов близкого по химическим свойства брома. Ионы Cl^- и Br^- транспортируются в клетки растений одними и теми же переносчиками, то есть действие ионов Br^- является антагонистическим ионам Cl^- .

В. Б. Абдыев, Н. А. Касумов

Бакинський державний університет, Азербайджан

ПОГЛИНАННЯ ІОНІВ ХЛОРУ З РОЗЧИНУ $NaCl$ КОРНЕВОЮ СИСТЕМОЮ ЯЧМЕНЮ ЗА ДІЇ $NaBr$

Досліджено поглинання іонів хлору з розчину $NaCl$ корнями ячменю за умов дії іонів близького за хімічними властивостями бромю. Іони Cl^- і Br^- транспортуються у клітини рослин одними й тими самими переносниками, тобто дія іонів Br^- антагоністична іонам Cl^- .

V. B. Abdyev, N. A. Kasumov

Baku State University, Azerbaijan

ABSORPTION OF CHLORINE IONS FROM $NaCl$ SOLUTION BY BARLEY ROOTS UNDER INFLUENCE OF $NaBr$

The absorption of chlorine ions by barley roots from $NaCl$ solution under the influence of ions similar in chemical properties to bromine was studied. It's determined that chlorine and bromine ions are transported by the same carriers into plant cells, i.e. the influence of bromine ions is antagonistic.

Введение

Транспорт ионов – одна из наиболее важных функций, один из основных жизненно необходимых процессов, осуществляемых всеми живыми организмами. При изучении транспорта часто используют три иона Na^+ , K^+ и Cl^- [1; 8; 12; 14]. Английские ученые У. Лютге, Н. Хигинботам [10] считают, что проникающая способность K^+ слишком велика и осмотически важными веществами скорее являются ионы Cl^- .

Транспорту ионов из растворов в растительную клетку посвящено значительное количество работ, в основном изучено поглощение ионов из растворов с физиологически безвредными низкими концентрациями (10^{-2} – 10^{-4} М) отделенными корнями, изолированными митохондриями, срезами листьев, хлоропластами, мембранами или искусственными мембранами. Однако при высоких концентрациях растворов (100–200 мМ) транспорт ионов Cl^- корнями интактных растений при действии различных галогенов до сих пор остается малоизученным.

Явление антагонизма ионов можно объяснить с точки зрения теории клеточных переносчиков. Известно, что антагонизм ионов наблюдается при одновременной адсорбции различных ионов клеткой из внешнего раствора [6]. Проведение детальных исследований в этом направлении, особенно при высоких концентрациях ионов хлора, является одним из важных вопросов физиологии, биофизики и других отраслей биологических наук. При этом более логичным является изучение кинетики транспорта ионов хлора в корневую систему интактных проростков из растворов (50–100 мМ) $NaCl$ при действии ионов близкого по химическим свойствам брома.

Материал и методы исследований

Объект исследований – 5-дневные этиолированные проростки (не считая день замачивания семян) широко применяющегося в сельском хозяйстве сорта ячменя Карабах-21. Проростки выращивали в растворе Кнопа в термостате при +25 °С в аэрируемых условиях.

Для оценки транспорта веществ в клетку обычно применяют плазматические, гемолитические, плазмометрические, химические, изотопные и другие методы, которые, однако, имеют ряд недостатков. Среди названных методов наиболее удобным оказался изотопный. При его использовании для определения кинетики поступления веществ в клетку растений учитывается изменение удельной активности объекта (отрезанные корни, листья и др.) или же убывание меченых атомов в среде, где помещен интактный объект.

Нами использован хемокинетический полумикрометод, который соответствует в принципе второму варианту изотопного метода. Разработанный полумикрометод позволяет изучать транспорт ионов Cl в корне в стационарном режиме: в течение эксперимента объем раствора в стаканчике, куда погружены корни интактных проростков, остается неизменным, что позволяет сохранить постоянство поглощающей поверхности корней растений (6 см²) и исключается возможность ряда методических неточностей изменения поглощающей поверхности корневой системы растений [5].

Использованный полумикрометод отличается простотой установки, быстротой выполнения эксперимента, позволяет определить абсолютное содержание Cl , поступившего в корни интактных растений в широком интервале времени, а также концентрации раствора $NaCl$ и других соединений. О скорости транспорта Cl в клетку корней судили по убыванию количества ионов хлора в исследуемом объеме раствора $NaCl$. Чувствительность метода для титрования составляет $2 \cdot 10^{-2}$ мг/мл по хлору.

Опыты проводились в 4–6-кратной повторности, результаты рассчитывали на 1 г сырого веса корня. Полученные данные подвергались статистической обработке [7].

Результаты и их обсуждение

Одним из важнейших вопросов физиологии, биофизики и ряда других отраслей биологических наук является изучение транспорта веществ через живую клеточную мембрану, интерес к которому, несмотря на почти столетнюю историю разработки, в настоящее время все более возрастает. Поступление ионов хлора в корневую систему из растворов $NaCl$ (50–400 мМ) характеризуется двумя кинетическими компонентами, различающимися на порядок. Определена константа Михаэлиса–Ментен (кМ): концентрация субстрата, при которой скорость реакции составляет половину максимальной, численно равна кМ. В наших опытах кМ = 75 мМ (рис. 1). Вопрос поглотительной активности (по хлору) ячменя при действии изокатионных солей брома до сих пор остается малоизученным. Поэтому в первую очередь нас интересовали сравнительные

исследования кинетических закономерностей транспорта хлора в клетку растений из высоких концентраций растворов солей (50–100 мМ) $NaCl$ при действии $NaBr$.

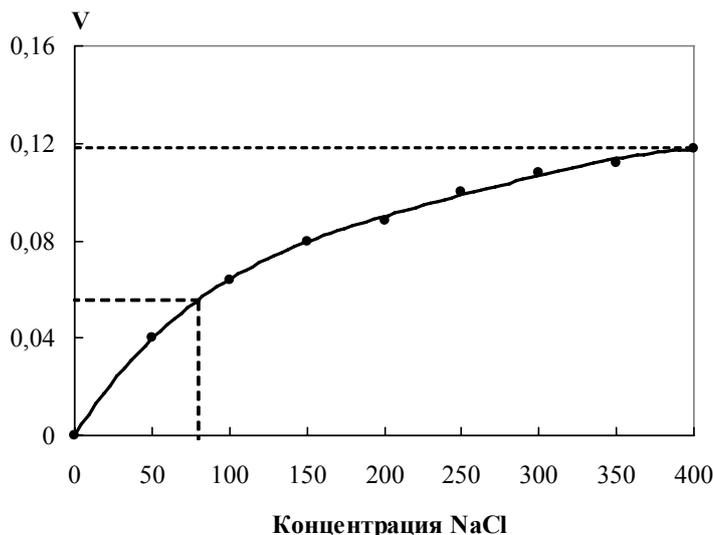


Рис. 1. Поглощение ионов Cl^- в корневую систему ячменя из растворов $NaCl$ в концентрации (50–400 мМ) в течение 40 минут ($t = +20^\circ C$)

Эпстайн указывает [15], что добавление Br^- к раствору Cl^- ингибирует поглощение Cl^- в обоих диапазонах концентрации, в то время как добавление иона не влияет на поглощение Cl^- . Методом вакууминfiltrации изучена кинетика поглощения ионов Cl^- из незабуферных односолевых растворов $NaCl$ (50 и 100 мМ) корнями ячменя в норме и при действии $NaBr$. При действии $NaBr$ сильно уменьшается поглощение ионов хлора из раствора 50 мМ $NaCl$ в корневую систему этиолированного ячменя (табл.).

Таблица

Убытие из растворов 50 и 100 мМ $NaCl$ ионов хлора (мг) в результате поглощения их корнями этиолированного ячменя в течение 40 минут ($t = +20^\circ C$)

Концентрация $NaBr$ (мМ)	50 мМ $NaCl$	100 мМ $NaCl$
контроль	$1,7 \pm 0,07$	$2,6 \pm 0,09$
25	$1,2 \pm 0,06$	$2,2 \pm 0,08$
50	$1,0 \pm 0,06$	$2,0 \pm 0,07$
75	$0,8 \pm 0,05$	$1,8 \pm 0,07$
100	$0,5 \pm 0,03$	$1,6 \pm 0,06$
150	$0,4 \pm 0,02$	$1,2 \pm 0,05$
200	$0,3 \pm 0,02$	$1,0 \pm 0,04$

Уже при действии 75 мМ $NaBr$ поглощение ионов Cl^- в корневую систему ячменя из раствора 50 мМ $NaCl$ уменьшается в два раза. Корни ячменя поглощают Cl^- почти в 5,5 раза меньше при действии 200 мМ $NaBr$ по сравнению с контролем.

Далее изучено поглощение ионов Cl^- в корневую систему ячменя из раствора 100 мМ $NaCl$ при действии вышеуказанных концентраций $NaBr$. При действии 75 мМ $NaBr$ поглощение Cl^- корневой системой ячменя уменьшается примерно на 35–40 % (см. табл. 1). Важно отметить, что при действии 150 мМ $NaBr$ поглощение Cl^- из 50 мМ $NaCl$ уменьшается в 4 раза, а из раствора 100 мМ $NaCl$ – примерно в 2 раза, так

как при увеличении концентрации субстрата (*NaCl*) увеличивается поглощение ионов хлора в корневую систему ячменя.

При увеличении концентрации *NaBr* уменьшается поглощение *Cl* линейно в корневую систему ячменя (рис. 2). При этом $\operatorname{tg}\alpha = 0,52$ для 100 мМ *NaCl*, $\operatorname{tg}\alpha = 0,35$ для 50 мМ *NaCl*.

А. Ленинджер [9] указывает, что отличительная особенность конкурентного ингибирования состоит в том, что его можно устранить или ослабить, просто повысив концентрации субстрата. Например, если при заданных концентрациях субстрата и конкурентного ингибитора активность фермента подавлена на 50 %, то можно уменьшить степень ингибирования, повысив концентрацию субстрата.

С помощью кинетического анализа определен порядок и молекулярность реакции транспорта *Cl* в клетку [2; 3]. Периоды полуизменения средней скорости для первого и второго компонентов связаны между собой следующим соотношением: $T_{21/2} : T_{11/2} = 3$, $T_{21/2} = 3T_{11/2}$. Такая зависимость между кинетическими компонентами характерна для реакции второго порядка. Отсюда следует, что данные компоненты, по всей вероятности, связаны с двумя последовательными процессами транспорта *Cl* и в отдельности, по видимому, характеризуются кинетикой реакции первого порядка, о чем и свидетельствует факт независимости $T_{11/2}$ от начальной концентрации *NaCl*. На независимости $T_{11/2}$ от начальной концентрации основан один из методов определения порядка реакции.

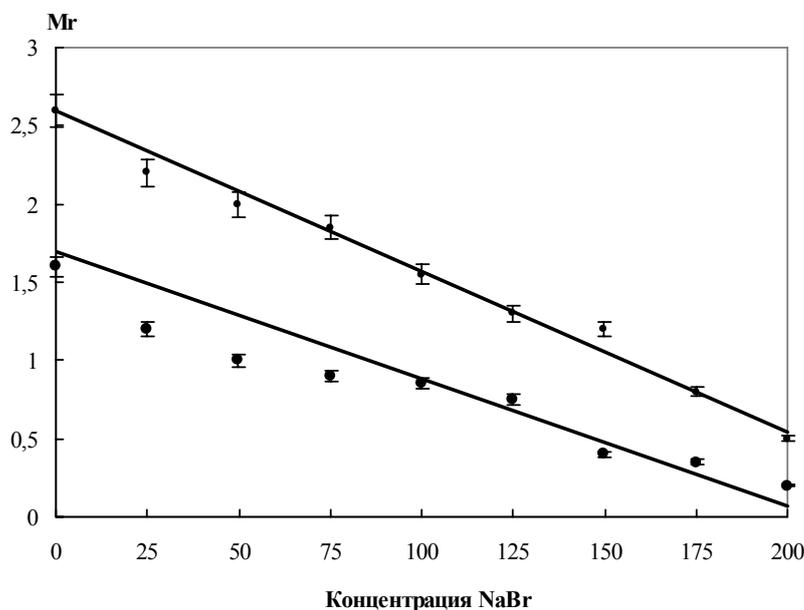


Рис. 2. Кинетика транспорта ионов хлора в корни ячменя из растворов *NaCl* (50–100 мМ) в норме и при действии различной концентрации в течение 40 минут ($t = +20$ °C):
1 – 100 мМ *NaCl*, 2 – 50 мМ *NaCl*

На основе равенства $T_{21/2} = 3T_{11/2}$ авторы предполагают, что реакция первичной ассимиляции *Cl* в корнях является бимолекулярной (если учесть наличие переносчика в мембране), поскольку для протекания мономолекулярных реакций диффузия не имеет существенного значения, а тримолекулярные реакции маловероятны. Поглощение ионов хлора растительными тканями имеет кинетические свойства, которые дедуктив-

но следует рассматривать как следствие работы механизма переносчиков (по меньшей мере подвижных переносчиков, что однозначно доказано [10]).

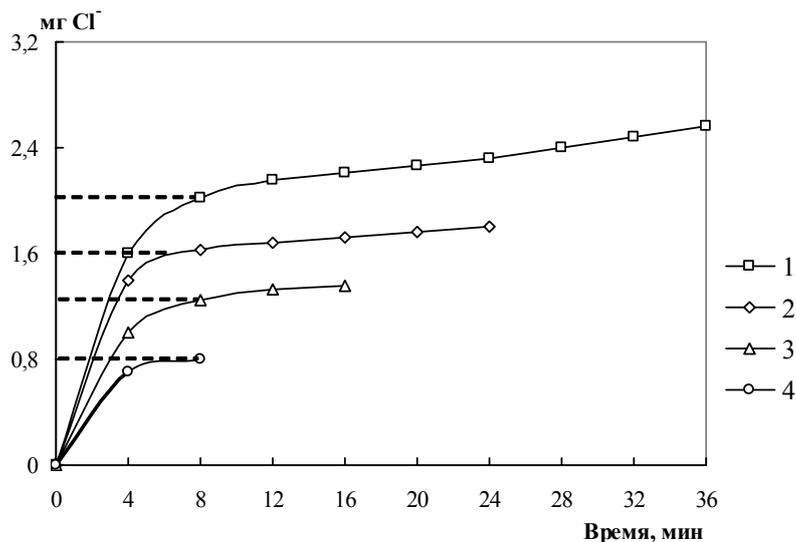


Рис. 3. Кинетика транспорта Cl^- в корни этилированного ячменя из раствора $NaCl$ (100 мМ) в норме (1) и при действии 50 (2), 100 (3) и 200 мМ (4) $NaBr$ в течение 40 минут ($t = +20^\circ C$):

контроль — $C_{Cl^-} = 2,31 \text{ мМ} \cdot \Gamma^{-1}$, $V = 0,023 \text{ мМ} \cdot \Gamma^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$,
 50 мМ $NaBr$ — $C_{Cl^-} = 1,69 \text{ мМ} \cdot \Gamma^{-1}$, $V = 0,02 \text{ мМ} \cdot \Gamma^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$,
 100 мМ $NaBr$ — $C_{Cl^-} = 1,34 \text{ мМ} \cdot \Gamma^{-1}$, $V = 0,015 \text{ мМ} \cdot \Gamma^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$,
 200 мМ $NaBr$ — $C_{Cl^-} = 0,84 \text{ мМ} \cdot \Gamma^{-1}$, $V = 0,007 \text{ мМ} \cdot \Gamma^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$

Результаты наших исследований показывают, что переносчики Cl^- и Br^- являются одинаковыми и можно прийти к такому определенному выводу, что исследуемые ионы транспортируются в клетки растений одними и теми же переносчиками, то есть действие ионов брома является антагонистическим.

Термин «антагонизм» уже много лет употребляется в фармакологии и имеет несколько значений [11]. Обычно считается, что антагонизм имеет место в тех случаях, когда два вещества производят меньший эффект, чем можно было ожидать на основании индивидуального действия каждого из них. Прежде чем говорить об антагонизме, следует выработать какой-то объективный метод определения ожидаемого результата суммации для общих случаев. По существу, такой подход, при котором эффект совместного действия двух ингибиторов сравнивается с эффектами их индивидуального действия, не очень удобен. Рациональнее рассматривать действие одного из ингибиторов в отсутствие другого ингибитора и в его присутствии [13].

Наиболее убедительным доказательством в пользу существования переносчиков является их выделение, описание молекулярных свойств и восстановление у мембраны способности к транспорту при добавлении молекул переносчика, ранее выделенного из нее. Долгое время успехи молекулярной биологии ограничивались микроорганизмами, в последние годы значительный прогресс достигнут и в исследованиях клеток эукариотических растений.

При изучении транспорта широко использовались ингибиторы белкового синтеза, действующие на уровне транскрипции и трансляции. Наблюдаемое при действии

ингибиторов подавление транспорта рассматривалось как выявление участия в транспортных процессах белков в качестве молекул-переносчиков.

По пересечению линейного участка кинетической кривой с осью ординат в нулевой момент времени можно оценить величину свободного пространства корней для ионов [2–4]. Используя эти параметры, установили, что содержание Cl^- в емкостях апопла (мМ/м) и скорость метаболического поглощения ионов хлора (мМ/г·мин) при действии $NaBr$ сильно уменьшаются (рис. 3).

Далее изучено изменение pH среды при поглощении Cl^- корневой системой этиолированного ячменя в норме и при действии $NaBr$. При увеличении концентрации $NaBr$ от 25 до 200 мМ pH среды уменьшается (рис. 4).

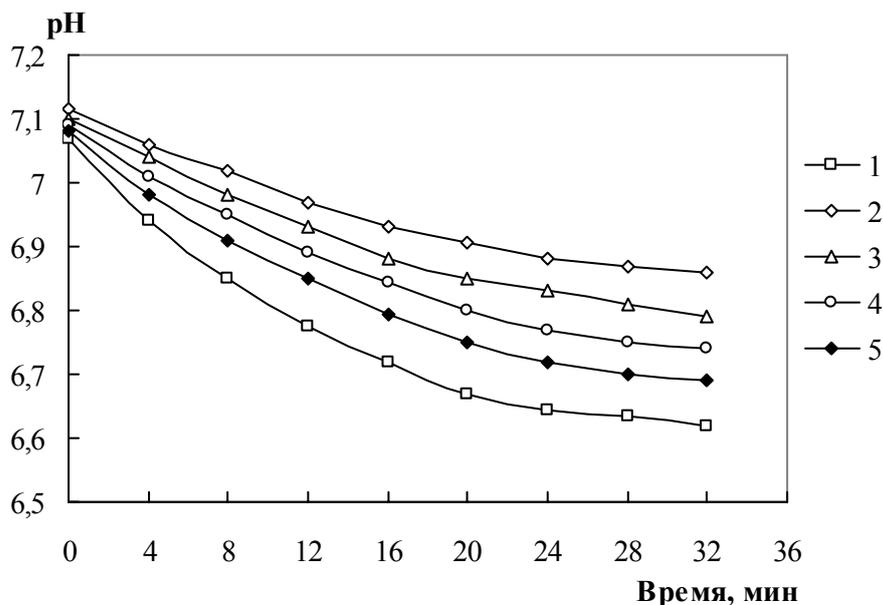


Рис. 4. Изменение pH среды при поглощении Cl^- корневой системой этиолированного ячменя в норме и при действии $NaBr$:
1 – контроль, 2 – 25 мМ $NaBr$, 3 – 50 мМ $NaBr$, 4 – 100 мМ $NaBr$, 5 – 200 мМ $NaBr$

При погружении корневой системы ячменя в растворы $NaBr$ различной концентрации 25–200 мМ методом вакууминfiltrации также увеличивается pH среды при увеличении концентрации $NaBr$.

Выводы

Поглощение Cl^- корневой системой растений из растворов $NaCl$ при действии $NaBr$ характеризуется двумя кинетическими компонентами, различающимися на порядок. Под влиянием $NaBr$ сильно уменьшается поглощение ионов Cl^- в корневую систему ячменя, уменьшается также емкость (содержание хлора) апопласта и скорость метаболического поглощения. Ионы Cl^- и Br^- транспортируются в клетки растений одним и теми же переносчиками, то есть действие ионов Br^- является антагонистическим. При увеличении концентрации $NaBr$ идет поглощение ионов хлора корнями ячменя, уменьшается pH среды.

Библиографические ссылки

1. **Абдуйева С. М.** Дузлу шяраитдя биткилярин оксидляшдириъи активлийинин тядгиги: Биол. е. н. ... дисс. нын автореф. – Баки, 2004. – 26 с.
2. **Абдыев В. Б.** Поглодительная и дыхательная активность корневой системы гликофитов и галофитов при засолении. Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. – Вильнюс, 1987. – 23 с.
3. **Абдыев В. Б.** Кинетика транспорта ионов Cl^- в корневую систему растений, выращенных при разнокачественном засолении // Актуальные проблемы теории биохимии. – Гянджа, 2007. – С. 43–47.
4. **Высоцкая Ж. В.** Функциональная взаимосвязь катион-транспортных систем плазматической мембраны растительной клетки. Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. – Минск, 2007. – 23 с.
5. **Касумов Н. А.** Хемокинетический метод исследований транспорта ионов хлора в корни интактных растений // Ионный транспорт в растениях. – К. : Наукова думка, 1979. – С. 244–247.
6. **Кларксон Д.** Транспорт ионов и структура растительной клетки. – М. : Мир, 1978. – 368 с.
7. **Лакин Г. Ф.** Биометрия. – М. : Высшая школа, 1980. – 293 с.
8. **Лапина Л. П.** Локализация хлора у гликофитов и галофитов при засолении / Л. П. Лапина, Т. В. Соголова, Б. П. Строгонов // Физиология растений. – 1990. – Т. 27, вып. 2. – С. 278–286.
9. **Ленинджер А. Л.** Основы биохимии. – М. : Мир, 1985. – Т. 2. – 717 с.
10. **Лютге У.** Передвижение веществ в растениях / У. Лютге, Н. Хигинботам. – М. : Колос, 1984. – 408 с.
11. **Машковский М. Д.** Лекарственные средства. Изд. 15-е, перер. и дополн. – М. : Новая волна, 2008. – 1206 с.
12. **Писаренко Е. Н.** Влияние солей на прорастание и рост различных растений / Е. Н. Писаренко, Т. И. Губина, С. М. Рогачева // Вестник Саратов. гос. техн. ун-та. – 2007. – № 1, вып. 3. – С. 117–121.
13. **Уэбб Л.** Ингибиторы ферментов и метаболизма. – М. : Мир, 1966. – 586 с.
14. **Якимов Ю. Е.** Влияние ионов хлора на рост растений / Ю. Е. Якимов, В. А. Новак // Физиологические и биохимические основы солеустойчивости растений. – Ташкент : ФАН, 1986. – С. 84.
15. **Erstein E.** Kinetics of ion transport and the carrier concept // *Encycl. plant physiol.* – 1976. – Vol. 2B. – P. 70–94.

Надійшла до редколегії 31.01.2011