

трех нуклеотидов, трудно определить их специфическую регуляторную роль.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Карапетян С. К. Биологические основы повышения продуктивности и пути интенсификации птицеводства в Армянской ССР. Ереван, 1962.
2. Карапетян С. К., Гукасян М. Н. Ереванская порода кур. М., 1976.
3. Методы биохимических исследований, Л., 1982.
4. Baro J., Cortes A., Bozal J. *Int. J. Biochem.*, **13**, 463—469, 1981.
5. Busquets M., Baro J., Cortes A., Bozal J. *Int. J. Biochem.*, **10**, 823—825, 1979.
6. Casado F., Cortes A., Bozal J. *Int. J. Biochem.*, **11**, 437—447, 1980.
7. Dixon M., Webb E. C. *Enzymes*, London, 1966.
8. Dupourque D., Kun E. *Eur. J. Biochem.*, **6**, 151—155, 1958.
9. Elduque A., Cortes A., Bozal J. *Int. J. Biochem.*, **13**, 1027—1031, 1981.
10. Grow K. E., Draggins T. J., Ball R. D., Hardman M. J. *J. Biol. Chem.*, **257**, 14217—14225, 1982.
11. Kütö G. B., Kaptan N. O. *Biochem.*, **5**, 3966—3980, 1966.
12. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. *J. Biol. Chem.*, **193**, 265—275, 1951.
13. Mann K. G., Vestling C. S. *Biochem. Biophys. Acta*, **149**, 567—569, 1968.
14. Oza N. B., Shore J. D. *Arch. Biochem. and Biophys.*, **154**, 360—365, 1973.
15. Pasantes-Morales H., Kleih J., Urban P. F., Mandel P. *J. Neurochem.*, **19**, 1183—1185, 1972.
16. Phyllis G., Greenfield E. J. *J. Exp. Zool.*, **174**, 115—123, 1970.
17. Rinando M. T., Giunta C. *Enzymologia*, **33**, 201—210, 1957.
18. Sanwall B. D. *J. Biol. Chem.*, **244**, 1831—1837, 1969.
19. Solomon J. B. *Biochem. J.*, **70**, 4, 1958.
20. Sprout G. D., McKellar R. C., Shaw K. M., Giroux J., Martin W. G. *Can. J. Microbiol.*, **25**, 192—200, 1979.
21. Wood D. C., Hodges C. T., Harrison J. H. *Biochem. and Biophys. Res. Commun.*, **82**, 943—950, 1978.

Поступила 4.1 1985 г.

Биолог. ж. Армении, т. 39, № 6, стр. 497—502, 1986

УДК 581.175

## ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ФИТОГОРМОНОВ С ПЛАЗМАТИЧЕСКИМИ МЕМБРАНАМИ КЛЕТОК КОРЕШКОВ КУКУРУЗЫ

Г. Т. КАЗАРЯН, Г. Н. ХАЧАТРЯН

Ереванский государственный университет, кафедра биофизики

Аннотация — Исследованы изменения мембранного потенциала клеток корешков кукурузы при действии увеличивающихся концентраций гиббереллин, ауксин и кинетин. Показано, что добавление первых порций фитогормонов приводит к преходящей гиперполяризации мембраны, следовательно, связанной с активацией электрогенных насосов клетки, последующее увеличение концентрации фитогормонов вызывает частичное пассивирование активных систем переноса. По своему действию на величину МП фитогормоны составляют ряд: кинетин > ауксин > гиббереллин.

Անուագիտ — Յուլյա Է սրված, որ ֆիտոհորմոնների առաջին չափաքանակների ավելացման զեպրում գրանցվում է ՄՊ-ի հիպերպոլյարիզացիայի մեծության փոքրացում, ենթադրվում է, որ հիպերպոլյարիզացիայի մեծության փոքրացումը պայմանավորված է տեղափոխման ակտիվ սիտեմների մասնակի արգելակմամբ: Ըստ հիպերպոլյարիզացիայի մեծության վրա ֆիտոհորմոնների ազդեցության արդյունավետության ֆիտոհորմոնները կարելի է տեղաբաշխել հետևյալ շարքով. կինե-տին > աուքսին > գիբբերելին:

**Abstract** — It is shown that in case of addition of first portions of phytohormones the value of hyperpolarization of membrane potential decreases. The suggestion is made that the decrease of hyperpolarization value is partially due to inhibition of active transfer systems. According to their influence efficiency on hyperpolarization value one can form a series of phytohormones: kinetin > auxin > gibberellin.

**Ключевые слова:** мембранный потенциал, корешки кукурузы, фитогормоны.

В работах последних лет [7—13, 15] четко прослеживается тенденция к исследованию вопроса о взаимодействии растительных гормонов с плазматическими мембранами клеток высших растений. Показано, что фитогормоны, в частности ауксин, способствуют усиленному притоку калия, аминокислот и сахаров, вызывая в то же время растяжение клеток. Установлено, также, что ауксин способствует развитию гиперполяризации мембранного потенциала. Исследуя электрофизиологические характеристики клеточных мембран, мы показали [3, 6], что гиперполяризация развивается за короткий промежуток времени (до 8 мин.), а затем мембранный потенциал снижается до контрольных значений. Кратковременная гиперполяризация может быть объяснена, в первом приближении, включением анионных насосов.

Энентара [18] показала, что все три фитогормона вызывают гиперполяризацию МП и подкисление внешней среды; предполагается, что влияние фитогормонов на транспорт ионов обусловлено активацией Н-АТФазы.

В настоящей работе представлены результаты сравнительного изучения увеличивающихся концентраций гиббереллина, ауксина и кинетина на кинетику изменения МП корневых клеток кукурузы.

**Материал и методика.** Методы получения трехдневных проростков и регистрации мембранного потенциала описаны ранее [2]. В экспериментах использовали:  $10^{-6}$  М раствор гиббереллина (СССР),  $2,3 \times 10^{-5}$  М раствор ауксина («Sigma», USA) и  $10^{-4}$  М раствор кинетина («Хематол», СССР). Контрольные значения МП измеряли в растворе  $1,0$  мМ KCl +  $0,25$  мМ CaSO<sub>4</sub>. На такой же смеси готовили растворы фитогормонов, pH всех растворов находился в пределах 5,4—5,7. Увеличение концентрации фитогормонов в перфузионной камере осуществлялось внесением определенных порции (100 мкл маточного раствора). Таким образом, в перфузионной камере получали соответствующую конечную концентрацию того или иного гормона.

Микроэлектроды с диаметром кончика 1,0—1,5 мкм, заливали 3М раствором KCl. Собственный потенциал кончика микроэлектрода находился в пределах 0—10 мВ. Браковали те микроэлектроды, в которые во время измерения проникал цитоплазма. В контрольных экспериментах микроэлектрод вводили в клетку в МП регистрировали в течение 60 минут. О локализации кончика микроэлектрода в клетке судили по величине и стабильности отводимого потенциала.

В каждом варианте измеряли МП 25—30 проростков. Статистическую обработку полученных данных проводили методом Стьюдента.

*Результаты и обсуждение.* На рис. 1 приведены данные о характере изменения МП при увеличивающейся концентрации гиббереллина. Внесение в перфузионную камеру I порции  $10^{-6}$  М раствора гибберел-

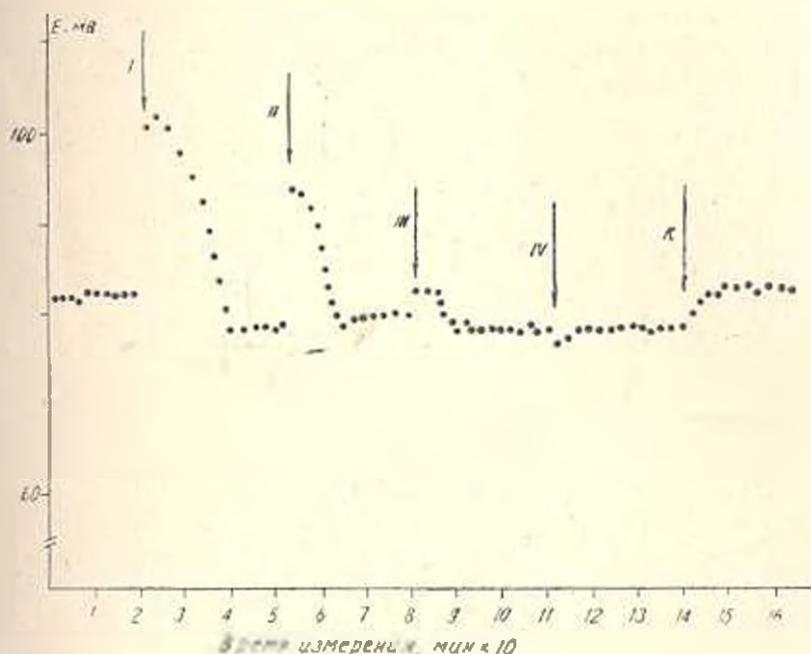


Рис. 1. Влияние различных порций гиббереллина ( $10^{-6}$  М раствор) на МП клеток корешков кукурузы. Здесь и далее стрелками отмечены моменты замены экспериментальных растворов на контрольные.

лина приводит к гиперполяризации МП на 25—30 мв. Через 10 мин он снижается до контрольных значений. В этот момент вносится II порция. При этом величина гиперполяризации уменьшается до 20 мв. При внесении III порции она снижается до 8—10 мв и полностью отсутствует при внесении IV порции. Замена экспериментальных растворов на контрольный приводит к повышению МП на 5—8 мв.

При внесении I порции  $2,3 \times 10^{-6}$  М раствора ауксина величина гиперполяризации составляет около 30 мв (рис. 2). Внесение II порции приводит к уменьшению ее до 10—12 мв. При добавлении III и IV порций гиперполяризация полностью исчезает. Необходимо отметить, что после каждой порции МП приобретает значения, которые ниже контрольных на некоторую величину  $\Delta E$ . Замена раствора ауксина на контрольный приводит к восстановлению МП до исходного уровня.

Характер изменения МП при действии  $10^{-6}$  М раствора кинетина несколько иной. Данные, приведенные на рис. 3, показывают, что при внесении I порции раствора кинетина происходит гиперполяризация, величина которой равна приблизительно 30—35 мв. При внесении II порции регистрируется деполяризация,  $\Delta E$  которой (разница между контрольными и экспериментальными значениями МП) составляет 35—45 мв. Замена раствора кинетина на контрольный приводит к восстановлению МП до контрольных значений.

Из приведенных данных видно, что число гиперполяризационных ответов наибольшее при действии гиббереллина и наименьшее—кинети́ва.

Таким образом, по силе действия на генерацию электрического потенциала фитогормоны можно расположить в следующий ряд: кинети́в > ауксин > гиббереллин.

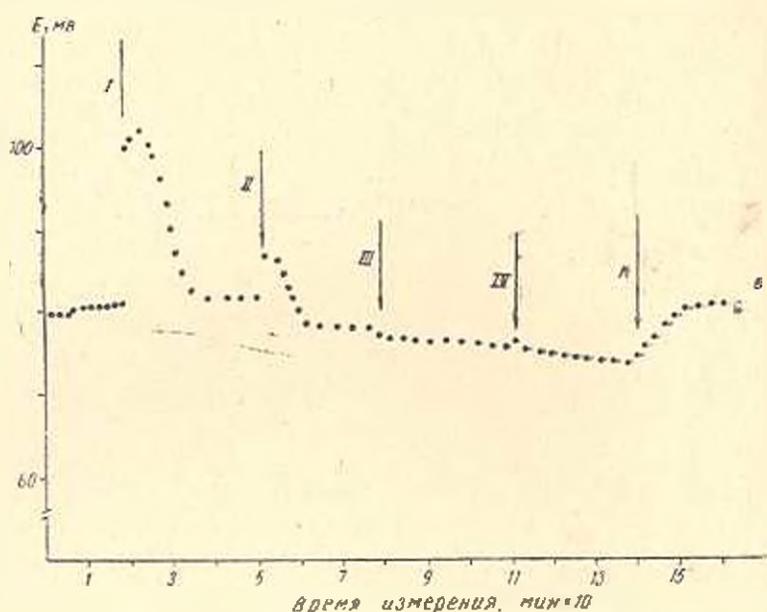


Рис. 2. Влияние различных порций ауксина ( $2,3 \times 10^{-5}$  M раствор) на МП клеток корешков кукурузы.

Выше было показано, что физиологические концентрации фитогормонов вызывают гиперполяризацию МП. Указывалось также, что подобные изменения потенциала обусловлены, вероятно, активацией ионных электрогенных систем переноса, локализованных на плазматической мембране. Необходимо отметить также, что активность ионных электрогенных систем находится в прямой зависимости от концентрации фитогормонов; наблюдается классическая колоколообразная зависимость активности этих систем от концентрации исследованных фитогормонов.

Уменьшение МП при увеличивающихся концентрациях фитогормонов может быть обусловлено изменением проницаемости мембраны для потенциалобразующих катионов или анионов внешней среды. Фаза деполаризации может быть результатом непосредственного влияния относительно высоких концентраций фитогормонов на электрогенные системы. Возможно, однако, что деполаризация МП фитогормонами связана с нарушением целостности липидного матрикса мембраны, что привело бы к шунтированию потенциала, генерируемого насосом. О такой возможности свидетельствуют данные работы [5], в которой показано индуцирование фитогормонами каналов проводимости на бислойных липидных мембранах. Если допустить, что коэффициенты проницаемости не изменяются при действии фитогормонов, то наблюдаемые

изменения ионспецифических свойств плазматических мембран могут быть связаны с активностью ионных электрогенных насосов, существование которых на основании результатов ряда работ можно считать доказанным [1, 4, 14, 16, 17].

Можно предположить, что уменьшение величины гиперполяризации обусловлено насыщением АТФазного комплекса мембранных систем молекулами фитогормонов. Таким образом, отсутствие гиперпо-

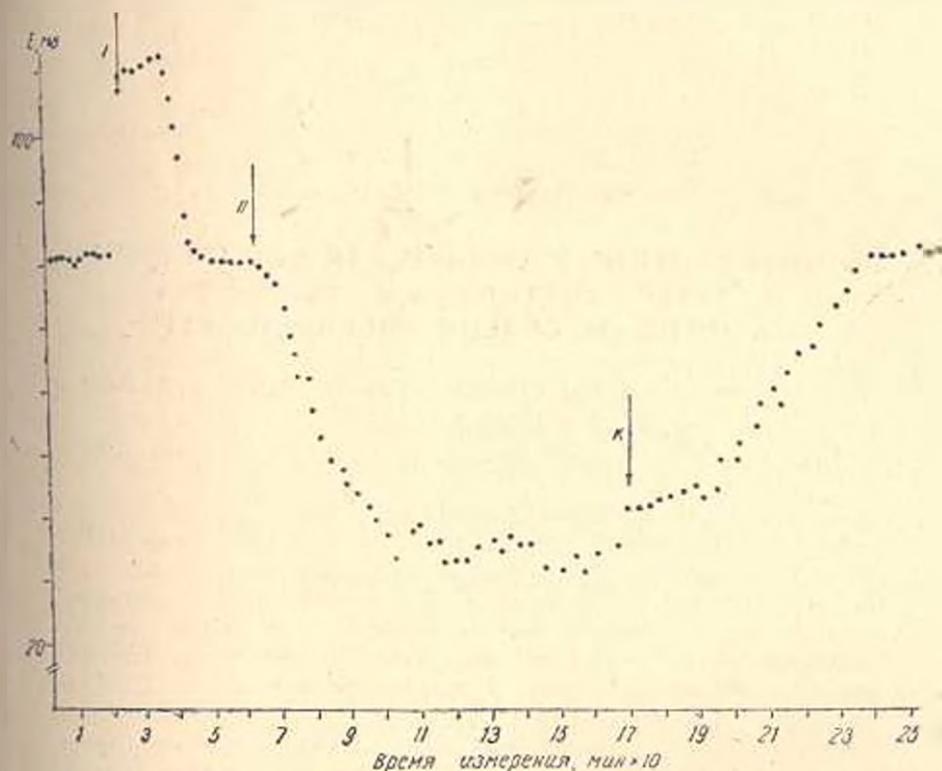


Рис. 3. Влияние различных порций хинетина (10 М раствор) на МП клеток корешков кукурузы.

ляризации есть результат частичного ингибирования активных систем переноса. Наблюдаемые изменения МП при действии увеличивающихся концентраций фитогормонов обусловлены неодинаковым режимом работы ионных электрогенных насосов.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Абугадибов М. Г., Марданов А. А., Аджиев Ю. К. Физиол. раст., 22, 4, 747, 1975.
2. Казарян Г. Т., Авакян Ц. М., Аджян И. С. Биолог. науки, 3, 57, 1967.
3. Казарян Г. Т., Паносян Г. А., Хачатрян Г. И. Биолог. науки, 5, 37, 1978.
4. Лялик О. О., Кнаторова Н. Н. Физиол. раст., 23, 2, 305, 1976.
5. Микаелян Л. Г., Казарян Г. Т. Докл. АН СССР, 265, 1, 1022, 1982.
6. Хачатрян Г. Н., Казарян Г. Т. Биолог. ж. Армении, 35, 9, 717, 1982.
7. Bates G. W., Goldsmith M. H. M. Planta, 159, 3, 231, 1983.
8. Cleland R. Plant Physiol., 58, 210, 1976.
9. Cleland R., Prinz B., Harper R., Higinbotham N. Plant Physiol., 59, 395, 1977.
10. Etherton B. Plant Physiol., 59, 395, 1977.

11. Göring H., Polevov V. V., Stahlberg R., Stumpe G. *Plant and Cell Physiol.*, 20(3) 649, 1970.
12. Goldsmith M. H. M. *Planta*, 155, 1, 63, 1982.
13. Goldsmith M. H. M., Goldsmith T. H. *Planta*, 153, 1, 25, 1981.
14. Murphy G. J. P. *Plant Sci. Lett.*, 2, 183, 1979.
15. Pesci P., Corucci S. M., Randazzo G. *Plant, Cell and Environ.*, 2, 205, 1979.
16. Rayle D. L., Evans M. L., Hertel R. *Proc. Nat. Acad. Sci. (Wash.)*, 65, 184, 1972.
17. Vredenberg W. *Ion transport in plants.* (W. Anderson), London, Acad Press, 15, 1973.
18. Zientara M. *Acta Soc. Bot. Pol.*, 52, 3-4, 279, 1983.

Поступило 2.VII 1985

Биолог. ж. Армении, т. 39, № 6, стр. 502—507, 1986

УДК 591.1.01

## ФОТООКИСЛЕНИЕ И ХИМИЧЕСКАЯ МОДИФИКАЦИЯ ОСТАТКОВ ГИСТИДИНА И ТРИПТОФАНА В АРГИНАЗЕ ПЕЧЕНИ ЭМБРИОНОВ КУР

Т. Г. АРУТЮНЯН, С. А. КАРАПЕТЯН, А. Ж. АБРАМЯН, А. М. ДАВТЯН

Ереванский государственный университет,

кафедра биохимии и проблемная лаборатория сравнительной и эволюционной биохимии

Аннотация — Фотоннактивация и ингибирование очищенной аргиназы печени 18-дневного куриного эмбриона специфическими модификаторами диэтилпирокарбонатом и N-бромсукцинимидом указывают на значение остатков гистидина и триптофана в проявлении активности фермента. Субстрат защищает модифицированный фермент от инактивации. Сделано предположение об участии этих аминокислот в формировании активного центра и поддержании названной конформации фермента.

Անոտացիա — Հալի 18 օրական սազմի լյարդի մաքրված արգինազայի ֆունկցիոնալ ինակտիվացիան և ընկճումը յուրահատուկ մոդիֆիկատորներով՝ դիէթիլպիրոկարբոնատով և N-բրոմսուկցինիմիդով, ցույց են տալիս Ն-ստիդինի և տրիպտոֆանի մնացորդների դերը ֆերմենտի ակտիվության արտահայտման գործում: Սուբստրատը պաշտպանում է մոդիֆիկացված ֆերմենտը ինակտիվացումից: Ենթադրվում է, որ վերահիշյալ ամինաթթուները մասնակցում են ֆերմենտի ակտիվ կենտրոնի մաքրմանը և նրա ընտան կոնֆորմացիայի պահպանմանը:

**Abstract** — Photoinactivation and inhibition of 18-days hen embryo liver purified arginase by specific modifiers (diethylpyrocarbonate and N-bromosuccinimide) point out the importance of histidine and tryptophane residues for the expression of enzyme activity. The substratum protects the modified enzyme from inactivation. It is supposed that these amino acids participate in the formation of active centre and supporting of the enzyme native conformation.

*Ключевые слова:* эмбриогенет. кур, аргиназа, изоферменты, модификаторы.

Метаболическая роль аргиназы из тканей различных организмов определяется их физико-химическими, кинетическими свойствами [2, 8, 12], а также строением и свойствами активного центра [5, 6, 8, 9, 15]. К