

ՀՈԴՈՒՄՆԵՐ • СТАТЬИ

Биол. ж. Армения, № 1, (42), 1989

УДК 581.141.2.04

ВЛИЯНИЕ КИНЕТИНА И ПРОКЛИНА НА ТРАНСПОРТ K^+ И
ДВИЖЕНИЕ ПРОТОПЛАЗМЫ В ИНТЕРНОДАЛЬНЫХ КЛЕТКАХ
NITELOPSIS OBTUSA

Г. Т. КАЗАРЯН, Г. А. НАНОСЯН, Э. СНЕВЛА, А. ЯШКОВСКА,
М. ТОКАРСКА, Р. ЖОЛНЕРЧУК

Ереванский государственный университет,
Люблинский политехнический институт, ПНР

Исследовали влияние 10^{-5} М раствора кинетина и $1,25 \times 10^{-4}$ М раствора местного анестетика проклина на скорость движения протоплазмы и мембранный транспорт K^+ в интернодальных клетках пресноводной водоросли *Nitelopsis obtusa*. Показано, что кинетин увеличивает как скорость движения протоплазмы, так и скорость поглощения K^+ . Проклин резко ингибирует скорость движения протоплазмы и приводит к выходу ионов K^+ из клетки.

Предполагается, что действие кинетина обусловлено активацией электрогенных ионных насосов клетки. Действие проклина обусловлено ингибированием мембраносвязанных АТФаз.

Արտաքին ազդեցությունների և տեղային անեսթետիկ պրոկլինի $1,25 \times 10^{-4}$ М ազդեցությունը պրոպլազմայի շարժման արագության և K^+ -ի մեմբրանային արանսպորտի վրա *Nitelopsis obtusa*-ի միջնակայության բջիջներում: Նույն է տրվել, որ երկուսից մեծացնում է ինչպես պրոպլազմայի շարժման, այնպես էլ K^+ իոնների նվաճման արագությունը Պրոկլինը, ընդհակառակը, խիստ կնքում է պրոպլազմայի շարժման արագությունը և նպաստում է K^+ իոնների արտաթորմանը: Մեծացնում է K^+ իոնների արագությունը 10^{-5} ներքինում է, որ K^+ իոնների ազդեցությունը պայմանավորված է բջիջ կենսաբանական իոնային պոմպերի ակտիվացմամբ: Պրոկլինի ազդեցությունը պայմանավորված է մեմբրանային կապված ԱՆՖ-ազների արգելակմամբ:

The influence of kinetin (10^{-5} M) and local anesthetic proclin ($1,25 \times 10^{-4}$ M) on the rate of protoplasm movement and transport of K^+ ions in internodal cells of *Nitelopsis obtusa* was studied. It was shown that kinetin increased the rate of protoplasm movement and K^+ ions absorp-

tion, whole procain significantly decreased the rate of protoplasm movement and led to output of K^+ ions from the cells. It was suggested that kinefin action is conditioned by the activation of cells electrogenic ion pumps, while the action of procain is connected with the inhibition of membrane-bound ATP-ases.

Интернодаальные клетки водоросли Nitelopsis obtusa — плазматические мембраны — прокаин.

Фитогормоны играют полифункциональную роль в физиологических и биоэнергетических процессах. Например, кинетин активирует функционирование транспортных АТФаз; способствует активированию электрогенных систем клетки и увеличению мембранной проницаемости [2, 6, 25]. С другой стороны, показано, что ауксин усиливает скорость движения протоплазмы в клетках водоросли [5, 13, 16]. Предполагается, что оно обусловлено активацией транспортных АТФаз, локализованных на плазматической мембране.

Относительно влияния прокаина на функциональные характеристики плазматических мембран растений в литературе нет данных, и то время как его влияние на функциональные характеристики мембран клеток животных исследовано достаточно обстоятельно. Так, установлено, что прокаин изменяет вязкость и диэлектрическую постоянную липидного бислоя, а также блокирует ионный транспорт в клетках печени крыс [14]. Он ингибирует активность $(Na^+ - K^+)$ АТФазы клеток мозга кролика и вызывает модификацию мембран и изменение флуоресценции нервов и мышечных волокон краба [20, 21]. На основании имеющихся данных Зееман [23] предполагает, что первичным механизмом действия местных анестетиков (прокаина, лидокаина) является взаимодействие с липидным матриксом клетки, вызывающее наблюдаемое ингибирование мембраносвязанных АТФаз.

Можно предположить, что влияние прокаина на движение протоплазмы и транспорт K^+ в интернодаальных клетках *Nitelopsis obtusa* обусловлено его взаимодействием с липидным матриксом плазматических мембран.

Цель настоящих исследований состояла в изучении влияния фитогормона кинетина и местного анестетика прокаина на функциональные характеристики плазматических мембран интернодаальных клеток пресноводной водоросли *Nitelopsis obtusa*.

Материал и методика. Скорость движения протоплазмы в интернодаальных клетках измеряли по методу, предложенному Камия [5]. Схема проведения эксперимента была следующей. Сначала измеряли контрольные скорости в озерной воде (естественная среда обитания водорослей *Nitelopsis obtusa*), затем клетки переносили во вторую камеру с 10^{-4} М раствором кинетина. После окончания экспозиции клетки помещали в $1,25 \times 10^{-4}$ М раствор прокаина, а затем через 30 мин переносили снова в воду (второй контроль). Во втором варианте после измерения контроля клетки помещали сначала в раствор прокаина, затем переносили в камеру с раствором кинетина, и снова в воду. В экспериментах использовали растворы 10^{-4} М кинетина («Хемалол», ЧССР), $1,25 \times 10^{-4}$ М прокаина (польского производства). Растворы кинетина и прокаина готовили на озерной воде.

Интенсивность и направленность мембранного транспорта K^+ измеряли поокселектрическим микрометродом. Объем измерительной ячейки составлял 40 мл. Схема про-

пеления эксперимента была следующей. Сначала измеряли контроль в озерной воде, затем в ячейку добавляли 0,4 мл маточного раствора кинетина; конечная концентрация составляла 10^{-9} М. После окончания экспозиции в ячейку вносили такое количество прокаина, что его конечная концентрация в растворе составляла $1,25 \times 10^{-4}$ М. Во втором варианте после измерения контроля сначала добавляли прокаин, а затем в ячейку вносили кинетин.

Нето-поток катия выражали в $\text{мкМ} \times \text{г}^{-1} \times \text{час}^{-1}$. Повторность опытов семикратная. Вертикальные линии на рисунках означают стандартную ошибку средних величин.

Результаты и обсуждение. На рис. 1 приведены данные о влиянии кинетина на скорость движения протоплазмы. Добавление кинетина вызывает увеличение скорости движения, превышающей контрольные значения в 1,4 раза. Помещение клеток в раствор прокаина приводит

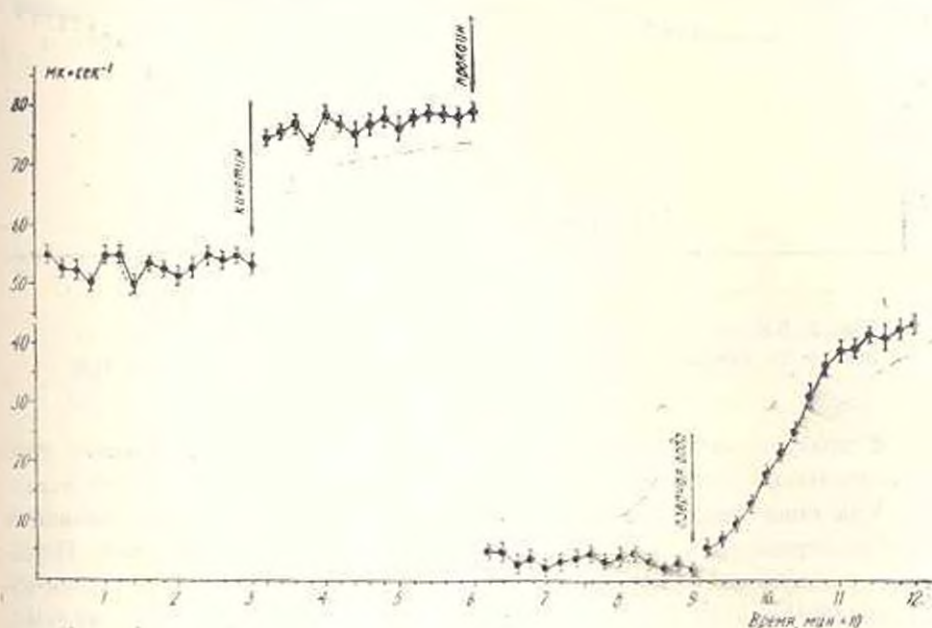


Рис. 1. Влияние 10^{-9} М раствора кинетина и $1,25 \times 10^{-4}$ М раствора прокаина на скорость движения протоплазмы в эпиритидальных клетках пресноводной водоросли *N. obtusa*. Здесь и далее стрелками отмечены моменты замены экспериментальных растворов

к резкому замедлению скорости в 6,8 раза по сравнению с контролем. При замене раствора прокаина на озерную воду скорость движения восстанавливается почти до контрольных величин.

На рис. 2 показано влияние прокаина на скорость движения протоплазмы. Добавление его приводит к резкому снижению скорости движения в 7,5 раза по сравнению с контролем. Помещение клеток в раствор кинетина приводит к постепенному увеличению скорости, которая в 3,3 раза превышает скорость движения протоплазмы при действии прокаина. Замена раствора кинетина на озерную воду способствует дальнейшему увеличению скорости почти до контрольных величин.

Известно, что местные анестетики, в зависимости от концентрации, оказывают ингибирующее влияние на скорость движения протоплазмы

в клетках различных растений и водорослей. Предполагается, что у водорослей это обусловлено изменением транспортной функции плазматических мембран [9, 10, 17, 24]. Можно допустить, что изменение транспортных функций мембран при действии проканна вызвано изменением режима работы электрогенных насосов, существование которых в плазматических мембранах клеток водорослей показано в ряде работ [1, 15, 19].

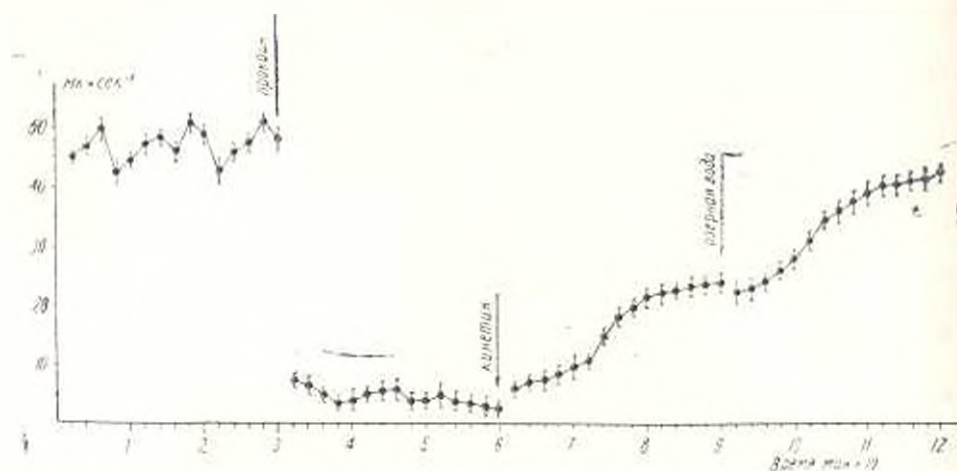


Рис. 2. Влияние $1,25 \times 10^{-4}$ М раствора проканна и 10^{-3} М раствора кинетина на скорость движения протоплазмы в интернодальных клетках пресноводной водоросли *N. obtusa*.

В этой связи определенным интерес представляет выяснение продолжительности действия кинетина на скорость движения протоплазмы. Как показывают данные таблицы, скорость остается неизменной в течение первых 3 ч, затем снижается до контрольных величин. Показано, что ауксин, усиливая скорость движения протоплазмы, способствует повышению интенсивности дыхания [11, 12]. По всей видимости, при этом происходит усиленный расход субстратов для дыхания, что и приводит к уменьшению скорости движения протоплазмы. Необходимо отметить, что существование связи между процессом дыхания и скоростью движения протоплазмы отмечено в ранних работах Такеучи и Хатано [24].

Продолжительность действия кинетина на скорость движения протоплазмы (мксек) в интернодальных клетках пресноводной водоросли

Контроль (вода)	10^{-3} раствор кинетина								
	30 мин	1 час	1,5 ч	2,0 ч	2,5 ч	3,0 ч	6,0 ч	25,0 ч	72,0 ч
68,3± 3,1	89,6± 3,3	91,4± 2,9	94,5± 4,3	88,4± 4,2	92,6± 3,6	87,8± 2,5	71,3± 2,8	66,7± 3,2	65,8± 2,6

На рис. 3 приведены данные, касающиеся влияния кинетина на мембранный транспорт K^+ в интернодальные клетки *Nitellopsis obtusa*.

Добавление кинетина в измерительную ячейку приводит к усилению поглощения K^+ , превышающего контрольный уровень в 3,5 раза. При введении прокаина в измерительную ячейку регистрировали реверс транспорта K^+ —последний начинает выходить из клеток. Подсчеты показали, что приблизительно 25% от общего количества поглощенного клетками K^+ выходит из клеток в раствор.

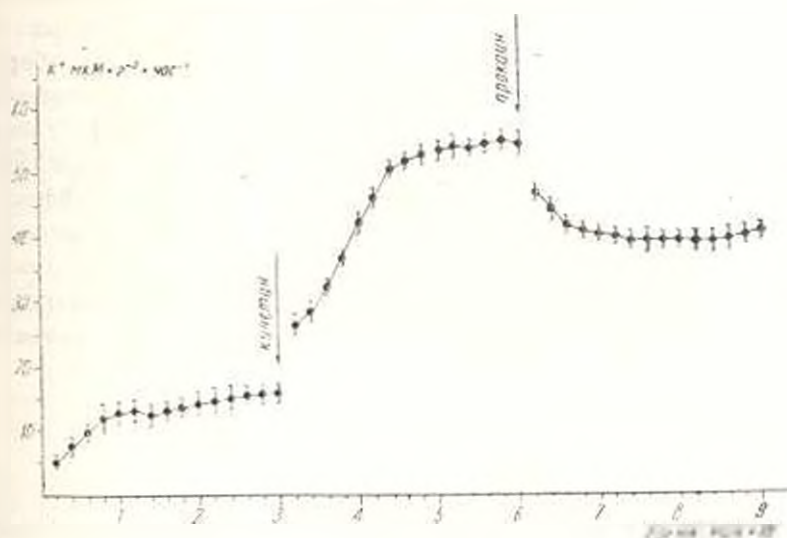


Рис. 3. Влияние 10^{-9} М раствора кинетина и $1,25 \times 10^{-4}$ М раствора прокаина на мембранный транспорт K^+ в интернодальные клетки пресноводной водоросли *N. obtusa*.

Данные о влиянии прокаина на мембранный транспорт K^+ в клетках водоросли приведены на рис. 4, из которого видно, что его добавление приводит к выходу K^+ из клеток в раствор. При внесении кинетина в измерительную ячейку наблюдается реверс транспорта K^+ —поглощение.

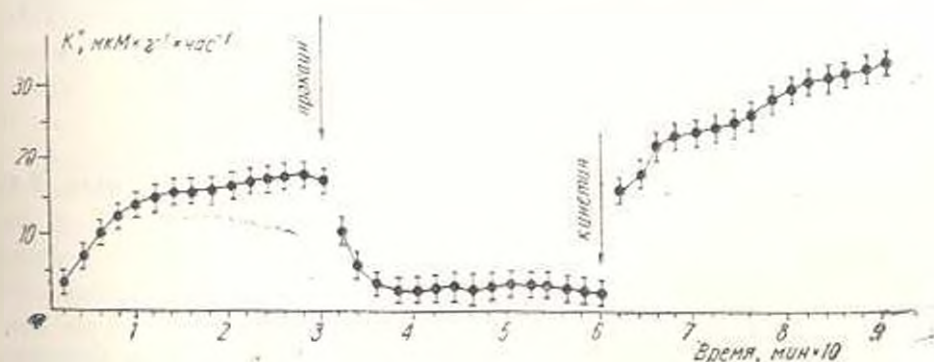


Рис. 4. Влияние $1,25 \times 10^{-4}$ М раствора прокаина и 10^{-9} М раствора кинетина на мембранный транспорт K^+ в интернодальные клетки пресноводной водоросли *N. obtusa*.

Относительно действия кинетина на транспортные функции плазматических мембран высших растений имеются данные [3, 7, 8, 22], согласно которым этот фитогормон усиливает транспорт K^+ в корне-

вой системе 2-недельных растений пшеницы, уменьшает его отток из корневых клеток 2—3-дневных растений кукурузы, способствует поглощению K^+ корневыми клетками 4-дневных растений кукурузы. Влияние фитогормонов вообще и кинетина в частности на мембранный потенциал и транспортные процессы позволяет рассматривать этот класс соединений в качестве веществ, обладающих ярко выраженными мембранотропными свойствами.

Результаты, приведенные в настоящей работе, показывают, что присутствие кинетина в среде измерения не влияет на ингибирующий эффект проканна. Ранее нами было показано, что в присутствии кинетина слабо проявляется ингибирующий эффект ДЦКД (ингибитора H^+ -АТФазы) на генерацию мембранного потенциала корневыми клетками кукурузы. Было сделано предположение, что этот эффект обусловлен конкуренцией кинетина и ДЦКД за одну и ту же точку приложения [4]. Данные, приведенные в настоящей работе, позволяют предположить, что кинетин и проканн влияют на различные механизмы, локализованные на плазматической мембране клеток пресноводной водоросли.

ЛИТЕРАТУРА

1. Болдырев А. А., Прокопьева В. А. Биологические науки, 9, 5, 1987.
2. Казарян Г. Т., Хачатрян Г. Н., Пакосян Г. А. Тез. I Всесоюз. конф. по регуляторам роста и развития растений М., 1981.
3. Казарян Г. Т., Хачатрян Г. Н., Цапкян А. Р. Тез. докл. II Респ. конф. по связи. пробл. физико-химической биологии Ереван, 1986.
4. Казарян Г. Т., Хачатрян Г. Н. Физиол. раст., 33, 6, 1050, 1986.
5. Камия Н. Движение протоплазмы. М., 1962.
6. Лялин О. О., Кутурова Н. Н. Физиол. раст., 23, 305, 1976.
7. Полевой В. В. Фитогормоны. Л., 1982.
8. Полевой В. В., Саламатова Т. С. В кн.: Ионный транспорт в растениях. М., 78, 1980.
9. Buckhout T. I. Plant Physiol., 68, 512, 1981.
10. Cleland R. E. In Plant Growth Substances, 71, Springer Verlag, Berlin, 1979.
11. Erdei L., Toth I. Physiol. Plantarum, 45, 448, 1982.
12. Evans M. L., Mulkey T. Planta, 148, 710, 1980.
13. Findlay G., Hope A. Austral. J. Biol. Sci., 17, 189, 1964.
14. Heidmann T., J.-P. Chungaux Ann. Rev. Biochem., 47, 317, 1978.
15. Higinbotham N. Ann. Rev. Plant Physiol., 31, 35, 1980.
16. Kataev A. A., Zherelova O. M., Berestovsky G. N. Gen. Physiol. Biophys., 3, 447, 1984.
17. Kaur G. F., Geissler A. Phytochemistry, 21, 257, 1982.
18. Marce E. Ann. Rev. Plant Physiol., 36, 288, 1985.
19. Marsh D. Trends Biochem. Sci., 8, 339, 1983.
20. Nsher E., H. Steinbach J. Physiol., 277, 153, 1984.
21. Pringle M. J., P. R. Adams Biochemical and Biophysical Research Communications, 67, 1, 196, 1985.
22. Rubery Ph. Ann. Rev. Plant Physiol., 32, 369, 1981.
23. Seeman F. Pharmacological Reviews, 42, 1, 583, 1983.
24. Takeuchi I., Holano S. 21th Ann. Meet. Bot. Soc. Japan, 1976.
25. Thibaud J.-B., A. Sobes, C. Grignon, Plant Physiol., 82, 817, 1986.
26. Vornobly L., Manusadziunas J. Physiol. Plantarum, 59, 651, 1983.

Поступило 11.X 1988 г.