

В зоне профундали озер Риславское и Святское, для которой характерно насыщение придонных слоев сероводородом, представители мейофауны не встречены.

2. Изучение вертикальной стратификации мейобентоса в толще отложений показало, что характер распределения животных в большей степени определялся особенностями водоемов, чем принадлежностью их к той или иной систематической группе.

3. Наибольшая общая численность (15,22 тыс. экз./м²) и биомасса (0,52 г/м² сыр. вещ.) зарегистрированы в наиболее трофном оз. Ревучее. В менее трофных озерах Риславское и Святское соответствующие показатели составили только 2,63, 1,49 тыс. экз./м² и 0,15, 0,03 г/м².

4. В толще донных осадков исследованных озер в значительных количествах зарегистрированы покоящиеся яйца (эфипии) пелагических кладощер из р. *Daphnia*. Их численность в озерах Ревучее, Риславское и Святское была равна 5,10, 0,21 и 5,64 тыс. экз./м² соответственно. В профундали озер Святское и Риславское, гипolimниальные воды которых насыщены сероводородом, эфипии в донных осадках не зарегистрированы.

Список литературы

1. Гурвич В. В. // Биол. внутренних вод. 1969. № 3. С. 57.
2. Бабицкий В. А. // Гидробиол. журн. 1987. Т. 23. № 2. С. 36.
3. Бабицкий В. А. // История озер: Тез. докл. VIII Всесоюз. симп. Мн., 1989. С. 142.
4. Holopainen J. Y., Paasivirta L. // Ann. Zool. Fen. 1977. V. 14. № 3. P. 124.
5. Sarma A. L. N., Swamy C. G., Mirty K. V. N., Rao K. V. // Rev. gidrobiol. 1974. V. 13. № 2—3. P. 225.
6. Каратаев А. Ю., Каратаева И. В. // Гидробиол. журн. 1991. Т. 27. № 2. С. 19.
7. Maitland P. S., Charles W. W., Morgan H. G., et. al. // Productivity problems of freshwater. Warszawa — Krakov, 1972. P. 795.
8. Hewkila P., Wijegoonawardana N. W. // Hydrobiologia. 1987. V. 155. № 5. P. 227.
9. Keilty T., White D. S., Edgington D. N. // Can. J. Fish. and aquat. Sci. 1989. V. 46. № 2. P. 223.
10. Мануйлова Е. Ф. // Ветвистоусые рачки (Cladocera) фауны СССР. М., 1964.

УДК 58.085:577.352

В. М. ЮРИН, А. И. СОКОЛИК, Г. Д. МАТУСОВ

МЕМБРАНОТРОПНЫЙ ЭФФЕКТ НЕКОТОРЫХ РЕГУЛЯТОРОВ РОСТА РАСТЕНИЙ

Среди многообразия эффектов, вызываемых в растительном организме природными и синтетическими регуляторами онтогенеза, значительное место занимает их взаимодействие с клеточными мембранами. Особую роль здесь играют плазматические мембраны, в частности плазмалемма [1, 2]. В силу своего расположения она представляет собой первичную мишень для воздействия регуляторов. С другой стороны, она же определяет скорость поступления агента в цитоплазму. На примере некоторых соединений (ауксины, фузикоцин) показана определяющая роль взаимодействия регуляторов с плазмалеммой в развитии эффекта стимуляции роста [2, 3]. Кроме того, мембранотропный эффект представляет интерес как индикатор экологического действия синтетических регуляторов [1, 4]. В связи с изложенным, нами изучено действие синтетических препаратов — кальциевой соли нафталин-сульфоновой кислоты (лайма) и хлорид-*N*, *N*-диметил-*N*-(β-хлорэтил) гидразония (квартазин) на плазмалемму растительных клеток.

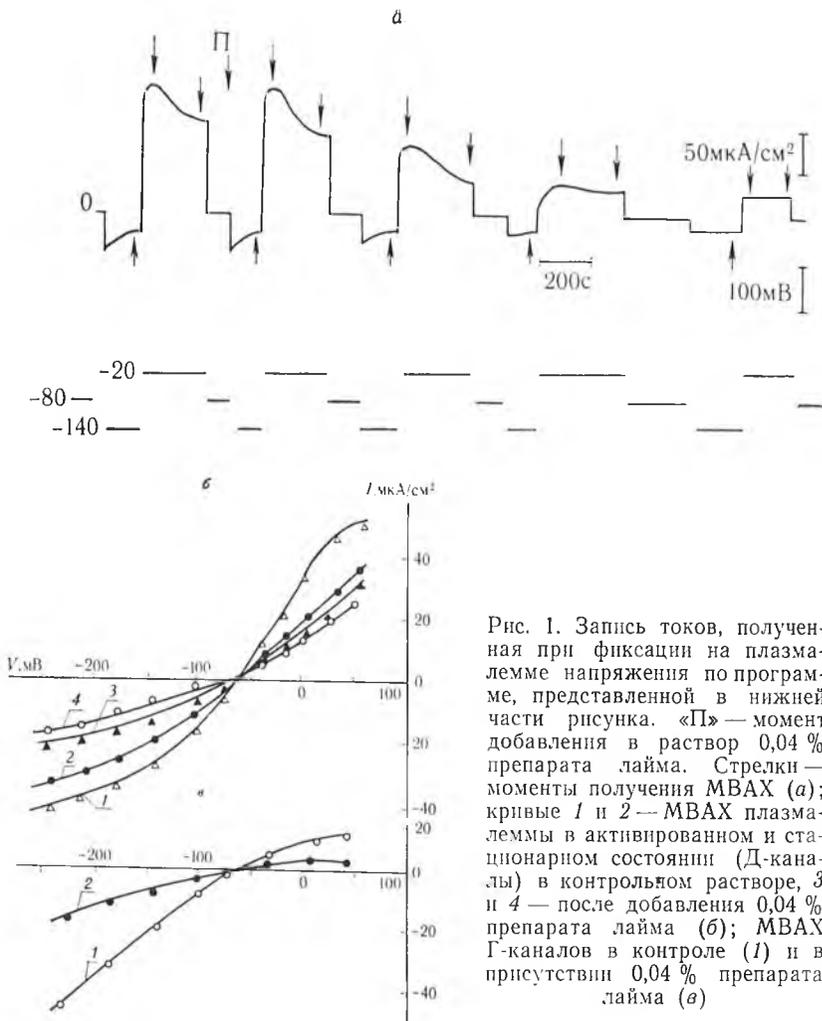


Рис. 1. Запись токов, полученная при фиксации на плазмалемме напряжения по программе, представленной в нижней части рисунка. «П» — момент добавления в раствор 0,04 % препарата лайма. Стрелки — моменты получения МВАХ (а); кривые 1 и 2 — МВАХ плазмалеммы в активированном и стационарном состоянии (Д-каналы) в контрольном растворе, 3 и 4 — после добавления 0,04 % препарата лайма (б); МВАХ Г-каналов в контроле (1) и в присутствии 0,04 % препарата лайма (в)

Материал и методика

В качестве модельного объекта использовали клетки пресноводной харовой водоросли *Nitella flexilis*. Эксперименты по изучению действия препаратов проводили на клетке в условиях, когда калиевые каналы практически полностью определяют проводимость плазмалеммы с применением обычной микроэлектродной техники и методики фиксации напряжения на плазмалемме [5]. Изучали изменения мгновенных вольт-амперных характеристик (МВАХ) калиевых каналов всех типов [5, 8], а также проводимость возбудимых каналов.

Результаты и их обсуждение

Достоверные изменения (уменьшение) проводимости плазмалеммы наблюдались под действием препарата в концентрации 0,01 % ($1,5 \cdot 10^{-4} \text{M}$). При концентрации свыше 0,1 % эффект становился необратимым и клетки зачастую погибали.

На рис. 1, а показана программа фиксации напряжения и изменения тока при изучении временного хода эффекта. Для всех типов калиевых каналов под действием препарата практически в равной степени уменьшались как входящие, так и выходящие токи МВАХ (рис. 1, б, в). Поскольку препарат представлял собой кальциевую соль, можно было бы предположить, что снижение проводимости могло быть следствием взаи-

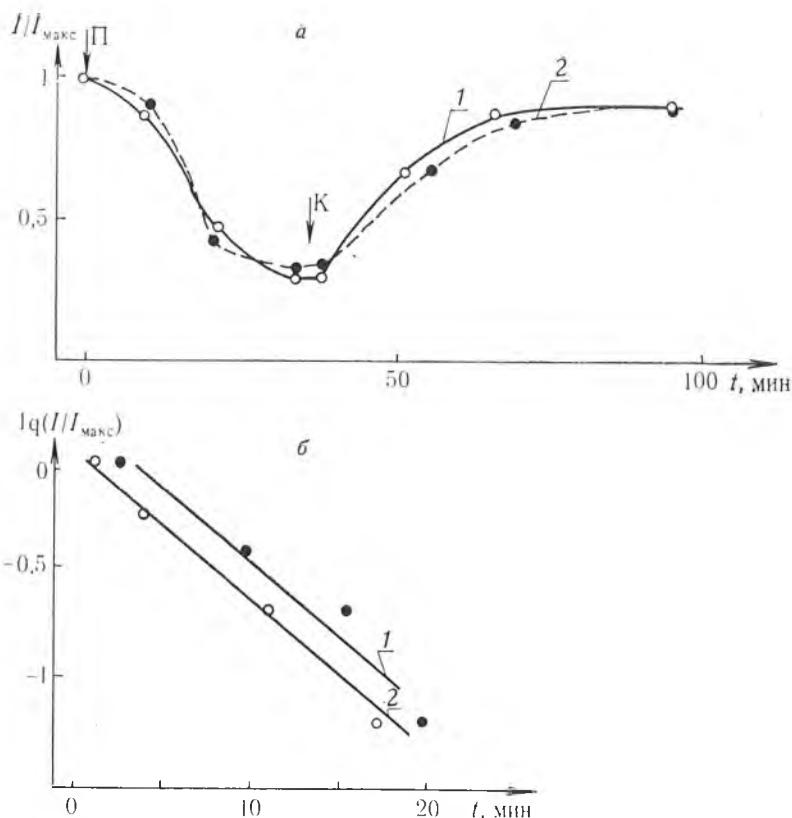


Рис. 2. Временной ход действия препарата лайма в концентрации 0,04 % на калиевые каналы плазмалеммы:

входящие токи, измеренные по МВАХ при напряжении 250 мВ в относительном масштабе; моменты введения и удаления вещества показаны стрелками (а). Та же зависимость в логарифмическом масштабе: 1 — максимум активации, 2 — стационарный ток. Раствор $5 \cdot 10^{-3}$ М КСl, 10^{-4} М CaCl_2 (рН 8,2) (б)

модействия ионов Ca^{2+} с плазмалеммой [6, 7]. Однако, как показано нами ранее [7], ионы Ca^{2+} в противоположность препарату не действуют на проводимость Г-каналов. В экспериментах с добавлением в раствор кальция в количестве, равном его содержанию в препарате, проводимость Д-каналов, как и следовало ожидать, снизилась, а относительная доля эффекта препарата осталась неизменной.

На рис. 2 приведены типичные кривые временного хода развития реакции и отмыва. Существенной разницы между подобными кривыми для разных видов калиевых каналов не наблюдалось. Линейность и отсутствие изломов на зависимостях, представленных на рис. 2, б, говорит об одноэкспоненциальном характере процессов. Величина постоянных времени установления эффекта ($\tau_{\text{уст}} \approx 5-10$ мин) и отмыва ($\tau_{\text{отм}} \approx 20-30$ мин) близка для всех видов калиевых каналов. Сравнительно быстрое развитие реакции и процесса отмыва говорит о том, что обратимый эффект препарата обусловлен, вероятно, воздействием его на наружную сторону плазмалеммы.

В первом приближении можно рассматривать снижение проводимости как результат связывания каждой молекулы препарата с каким-то центром на плазмалемме по типу простой реакции первого порядка:



где П и S — концентрации препарата и мест связывания соответственно. Положим, что в отсутствие связывания ток I_0 максимален, а его уменьшение под действием препарата пропорционально числу занятых мест

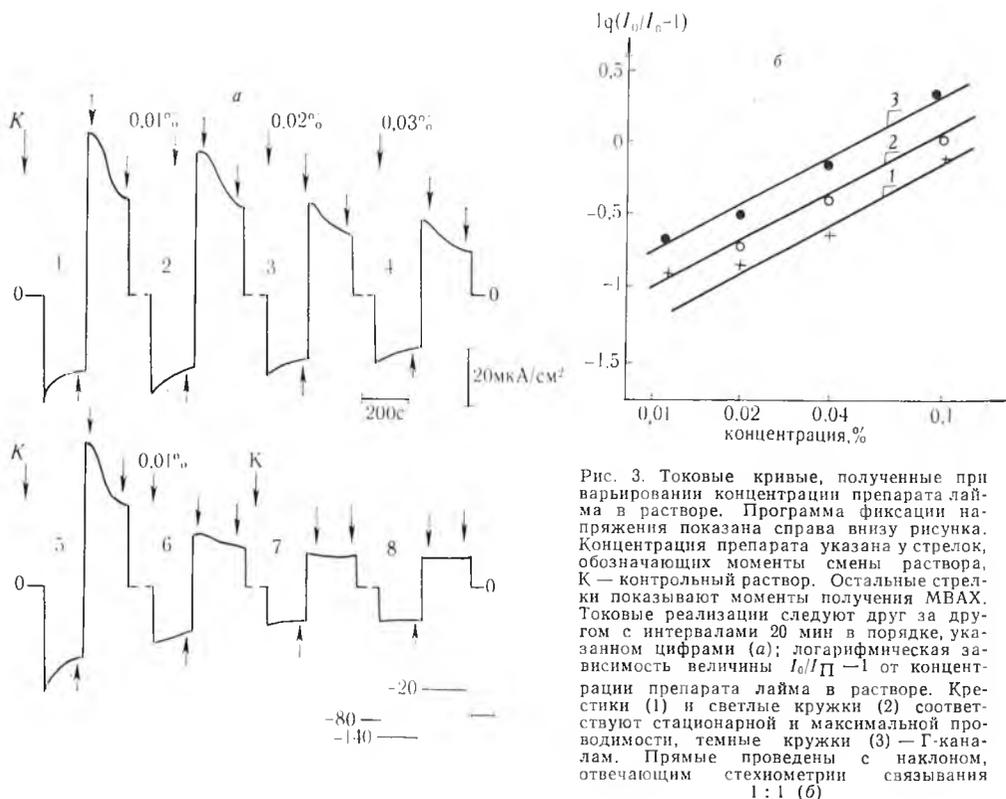


Рис. 3. Токвые кривые, полученные при варьировании концентрации препарата лайма в растворе. Программа фиксации напряжения показана справа внизу рисунка. Концентрация препарата указана у стрелок, обозначающих моменты смены раствора, К — контрольный раствор. Остальные стрелки показывают моменты получения МВАХ. Токвые реализации следуют друг за другом с интервалами 20 мин в порядке, указанном цифрами (а); логарифмическая зависимость величины $I_0/I_\pi - 1$ от концентрации препарата лайма в растворе. Крестики (1) и светлые кружки (2) соответствуют стационарной и максимальной проводимости, темные кружки (3) — Γ -каналам. Прямые проведены с наклоном, отвечающим стехиометрии связывания 1 : 1 (б)

связывания. Тогда простой кинетический анализ для установившегося состояния дает следующие соотношения:

$$(I_0 - I_\pi)/I_0 = 1 - \tau_{уст}/\tau_{отм}, \quad (1)$$

$$I_\pi/I_0 = (1 + \Pi/K)^{-1}, \quad (2)$$

где I_π — ток в присутствии препарата, K — константа связывания. Равенство (1) справедливо, если токи измеряются при одинаковом напряжении. Для эксперимента, представленного на рис. 2, результаты расчета показывают выполнение равенства (1) в пределах ошибки:

$$(I_0 - I_\pi)/I_0 = 0,65; \quad 1 - \tau_{уст}/\tau_{отм} = 0,60.$$

Как уже отмечалось, при концентрации препарата свыше 0,1 % ($1,5 \cdot 10^{-3}$ М) эффект становится необратимым. Если при таких концентрациях по прошествии времени, достаточного для установления обратимого эффекта (~ 30 мин), удалить вещество из раствора, эффект продолжает возрастать (рис. 3, а). Одно из возможных объяснений состоит в том, что вещество проникает внутрь и действует на цитоплазматическую сторону плазмалеммы, вызывая тот же эффект (снижение проводимости), что и при действии снаружи.

Результаты изучения концентрационной зависимости эффекта подтверждают предположенный выше тип реакции. Логарифмическая зависимость величины $I_0/I_\pi - 1$ линейна (см. (2)), идет с наклоном, приблизительно отвечающим стехиометрии связывания 1 : 1 для токов, через каналы всех типов (рис. 3, б). Величина константы связывания во всех случаях приблизительно одинакова и составляет $(1,0-1,5) \cdot 10^{-3}$ М.

Диапазон действующих концентраций и величина константы указывают на отсутствие на плазмалемме специфических мест связывания для молекул данного вещества. Проводимость снижалась для всех видов каналов в соответствии с кинетикой реакции первого порядка и парамет-

ры этой реакции близки во всех случаях. Кроме того, эксперименты показали, что в этом же диапазоне концентраций препарат резко снижает проводимость быстрых (возбудимых) хлорных и кальциевых каналов. Выше отмечено, что препарат, по-видимому, проникает через плазмалемму и действует на нее изнутри аналогичным образом.

Таким образом, из изложенного следует, что мембранотропный эффект препарата «лайма», по-видимому, является следствием неспецифического взаимодействия его с плазмалеммой, вероятнее всего с липидным матриксом. Действительно, интегральная проводимость совокупности ионных каналов в мембране может снижаться вследствие уменьшения проводимости каждого канала в отдельности — блокирования. Однако до сих пор известно только специфическое блокирование каналов, в основе которого лежит различное строение их входных участков [9, 10]. Полученные результаты показывают снижение проводимости не только для всех типов калиевых, но и для возбудимых хлорных и кальциевых каналов плазмалеммы. В основе этого должен лежать фактор, действующий на все молекулярные структуры, составляющие ионные каналы. Прежде всего, это может быть липидный матрикс мембраны. Возможно, что взаимодействие с ним молекул препарата приводит к одновременному для всех каналов сдвигу равновесия открывания-закрывания в сторону закрытого состояния.

Гораздо менее выраженным действием обладает второе из испытанных соединений — квартазин. До концентрации 0,2 % ($1,25 \cdot 10^{-2}$ М) не было обнаружено никаких эффектов, даже со временем экспозиции 50—100 мин. Начиная с 0,3 % ($1,87 \cdot 10^{-2}$ М) квартазин в течение 10—20 мин обратимо снижал выходящий ток в максимуме активации на 20—40 %. Стационарная проводимость и проводимость Г-каналов оставались практически неизменными. Очевидно, что столь высокая действующая концентрация и небольшая величина наблюдаемого изменения регистрируемых параметров исключает мембранотропный эффект соединения. Отмеченное снижение тока может быть вызвано возрастанием ионной силы раствора и происходит, по-видимому, в результате экранирования поверхностных фиксированных анионов плазмалеммы, локализованных вблизи каналов, определяющих ток в максимуме активации [6, 8]. В свою очередь, это приводит к снижению примембранной концентрации катионов, что и дает регистрируемое снижение тока.

В результате проведенных исследований установлено, что из двух испытанных соединений — лайма и квартазин — мембранотропный эффект проявляет только лайма. Он состоит в снижении проводимости практически всех типов ионных каналов плазмалеммы и является результатом неспецифического взаимодействия молекул препарата предположительно с липидным матриксом мембраны. Дальнейшие исследования позволят проверить высказанные предположения и вскрыть конкретный механизм наблюдаемых явлений.

Список литературы

1. Кефели В. И., Власов П. В., Прусакова Л. Д. и др. // Физиология растений. 1990. Т. 7. С. 155.
2. Полевой В. В. // Материалы 2-й Всесоюз. конф. по регуляторам роста и развития растений. Киев, 25—27 мая 1988. Киев, 1989. С. 49.
3. Бабак А. В., Абрамычева Н., Билуши С. В., Шевченко В. П. // Биол. мембраны. 1990. Т. 7. № 2. С. 107.
4. Юрин В. М., Иванченко В. М., Галактионов С. Г. Регуляция функций мембран растительных клеток. Мн., 1979.
5. Соколик А. И., Юрин В. М. // Физиология растений. 1981. Т. 28. № 2. С. 294.
6. Соколик А. И., Гончарик М. Н., Юрин В. М. // Докл. АН БССР. 1982. Т. 26. № 4. С. 365.
7. Sokolik A. I., Yurin V. M. // Journ. Membrane Biol. 1986. V. 89. № 1. P. 9.
8. Юрин В. М., Соколик А. И., Кудряшов А. П. и др. // Тез. докл. Второго съезда Всесоюз. об-ва физиологов растений (24—29 сент. 1990 г. Мн.). М., 1990. С. 100.
9. Hille B. Ionic Channels of Excitable Membranes. Sunderland, 1984.
10. Воробьев Л. Н. // Физиология растений. 1988. Т. 5.