

АКАДЕМИЯ НАУК СССР

ОРДЕНА ТРУДОВОГО КРАСНОГО ЗНАМЕНИ

ИНСТИТУТ ФИЗИОЛОГИИ РАСТЕНИЙ им. К.А. ТИМИРЯЗЕВА

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ  
ПО НАРОДНОМУ ОБРАЗОВАНИЮ

НИЖЕГОРОДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ  
им. Н.И. ЛОБАЧЕВСКОГО

В. А. ОПРИТОВ

С. С. ПЯТЫГИН

В. Г. РЕТИВИН

---

# БИОЭЛЕКТРОГЕНЕЗ У ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ

---



МОСКВА "НАУКА" 1991

Биоэлектрогенез у высших растений / В.А. Опритов, С.С. Пятагин, В.Г. Ретивин. — М.: Наука, 1991. — 216 с. ISBN 5-02-004108-4

В монографии рассмотрено современное состояние вопроса о биоэлектрогенезе клеток высших растений. Суммирован обширный собственный материал, а также многочисленные данные литературы, касающиеся электрической активности клеток и внутриклеточных органелл, пассивных и активных механизмов генерации потенциала покоя, влияния на биоэлектрогенез различных внешних и внутренних факторов. Значительное внимание уделено рассмотрению импульсных форм биоэлектрической активности клеток, прежде всего, потенциалу действия. Приводятся сведения о пороговых условиях возникновения потенциала действия у высших растений, его параметрах, механизмах генерации и распространения. Дается оценка функционального значения биоэлектрогенеза у высших растений.

Монография представляет интерес для специалистов в области физиологии и биофизики растений, преподавателей и студентов биологических специальностей высших учебных заведений.

Табл. 7. Ил. 51. Библиогр.: 705 назв.

Bioelectrogenesis in higher plants / V.A. Opritov, S.S. Pyatygin, V.G. Retivin. — Moscow: Nauka, 1991. — 216 p.

This monograph considers the current state-of-the-art with bioelectrogenesis of higher plant cells. There have been summarized own comprehensive materials of authors and numerous literature data concerning electrical activity of cells and subcellular organelles, passive and active mechanisms of the resting potential generation, and also the influence of various outer and inner factors on bioelectrogenesis. Serious consideration was paid to discussing the impulse forms of bioelectrical activity of cells and primarily to the action potential. The data on the threshold conditions for generation of the action potential in higher plants, its parameters, mechanisms of generation and propagation are given. The functional importance of bioelectrogenesis in higher plants is evaluated.

The monograph is of interest for specialists in physiology and biophysics of plants as well as for professors and students of the biological departments of universities and colleges.

Ответственный редактор

доктор физико-математических наук Г.Н. Берестовский

Рецензенты

доктора биологических наук Г.А. Волков и Ю.Г. Молотковский

Редактор издательства Л.К. Соколова

1903010000-189  
0 042(02)-91 463-91, I полугодие

ISBN 5-02-004108-4

© Издательство "Наука", 1991

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

|                   |   |                                        |                |   |                                                                                             |
|-------------------|---|----------------------------------------|----------------|---|---------------------------------------------------------------------------------------------|
| $A_{\text{пд}}$   | — | амплитуда потенциала действия          | $A_r$          | — | амплитуда фазы реполяризации ПД                                                             |
| АНС               | — | 8-анилинафталин-1-сульфонат            | $C_m$          | — | электрическая емкость мембраны                                                              |
| БЭР               | — | биоэлектрическая реакция               | $E_d$          | — | диффузионная компонента потенциала покоя (диффузионный потенциал)                           |
| ВП                | — | варнабельный потенциал                 | $E_K$          | — | $K^+$ -равновесный потенциал                                                                |
| 2,4-Д             | — | 2,4-дихлоруксусная кислота             | $E_m$          | — | мембранный потенциал                                                                        |
| ДНФ               | — | 2,4-динитрофенол                       | $E_m^c$        | — | критический уровень деполяризации (порог возбуждения)                                       |
| ДЦКД              | — | $N,N'$ -дициклогексилкарбодиимид       | $E_m^r$        | — | потенциал покоя                                                                             |
| ДЭС               | — | диэтилстилбэстрол                      | $E_m^*$        | — | мембранный потенциал в максимуме ПД                                                         |
| КЦХФГ             | — | карбонилцианид- $m$ -хлорфенилгидразон | $E_p$          | — | электрогенная (активная, метаболическая) компонента потенциала покоя                        |
| МБА               | — | 3-метоксибензантрон                    | $R_m$          | — | электрическое сопротивление мембраны                                                        |
| МФМС              | — | $N$ -метилфенозинметасульфат           | $V_{th}$       | — | пороговый потенциал                                                                         |
| ПД                | — | потенциал действия                     | $\Delta\phi_j$ | — | разность электрохимических потенциалов ионов сорта $j$ ( $Li^+$ , $K^+$ , $Na^+$ , $Cl^-$ ) |
| ПХМБ              | — | парахлормеркурибензоат                 | $\Delta pH$    | — | разность концентраций ионов водорода                                                        |
| 2,4,5-Т           | — | 2,4,5-трихлоруксусная кислота          |                |   |                                                                                             |
| ТФМФ <sup>+</sup> | — | трифенилметилфосфоний                  |                |   |                                                                                             |
| ТФФ <sup>+</sup>  | — | тетрафенилфосфоний                     |                |   |                                                                                             |
| ТЭА               | — | тетраэтиламмоний                       |                |   |                                                                                             |
| ЭДТА              | — | этилендиаминтетрауксусная кислота      |                |   |                                                                                             |
| ЭК                | — | этакриновая кислота                    |                |   |                                                                                             |
| ЭТЦ               | — | электронтранспортная цепь              |                |   |                                                                                             |
| $A_d$             | — | амплитуда фазы деполяризации ПД        |                |   |                                                                                             |

## ВВЕДЕНИЕ

К числу наиболее удивительных свойств живых систем несомненно следует отнести их способность генерировать биоэлектрические потенциалы. Обнаруженная в середине прошлого столетия, она впоследствии привлекла к себе внимание исследователей самых разных направлений: биологов, физиков, физико-химиков и др. В результате изучение биоэлектрических явлений приобрело многоплановый характер. Одним из существенных направлений, получивших развитие, явилось изучение биоэлектrogenеза, т.е. непосредственных причин, лежащих в основе генерации биоэлектрических потенциалов. Совершенно очевидно, что без знания механизмов биоэлектrogenеза невозможно в полной мере оценить его роль в протекании различных жизненных функций и выработать пути использования биоэлектрических явлений при решении конкретных практических задач.

Если механизм биоэлектrogenеза у животных к настоящему времени изучен достаточно полно, то этого нельзя сказать в отношении растений. Большая часть исследований в данной области выполнена на гигантских клетках харовых водорослей. Хотя водоросли могут рассматриваться как обобщенная модель растительной клетки, им, несомненно, присущи и специфические особенности, отличающие их от высших растений. Поэтому анализ природы биоэлектрических потенциалов у последних представляется весьма актуальным.

К сожалению, при работе с высшими растениями многие методические подходы, обеспечивающие успех в решении ряда вопросов биоэлектrogenеза у животных объектов (микроэлектродная техника, метод фиксации напряжения, пэтч-клямп метод и др.), часто оказываются трудно применимыми из-за сложной структуры отдельных органов, невозможности изолировать ту или иную ткань от других тканей, наличия весьма мелких клеток, окруженных толстой оболочкой, и др. К этому следует добавить нередко малую осведомленность исследователей, работающих в области физиологии растительной клетки, о достижениях по биоэлектrogenезу животных объектов, что затрудняет их подключение к анализу механизмов биоэлектрических явлений растительных организмов. Все это находит отражение в относительно слабой разработке вопроса о природе биоэлектrogenеза у высших растений.

Вместе с тем результаты исследований все более убеждают в том, что процесс генерации биопотенциалов как у животных, так и у растений не только "сопровождает" те или иные жизненно важные процессы, но играет нередко ключевую роль в их протекании.

По крайней мере три аспекта представляются наиболее важными в этом отношении.

Во-первых, роль биоэлектрических потенциалов в протекании энергетических превращений. Становится очевидным, что разности биоэлектрических потенциалов на мембранных структурах животных и растительных клеток являются наряду с АТФ обобществленной формой конвертируемой энергии. Речь идет о биоэлектрических потенциалах не только на сопрягающих мембранах, но и на других мембранных системах, в том числе на плазмалемме. Здесь энергия электрического поля, напряженность которого весьма высока, используется на совершение осмотической, механической и других видов работы. Поэтому нередко для характеристики степени энергизованности клетки используют величину ее мембранного потенциала.

Во-вторых, роль биоэлектрических потенциалов в регуляции клеточных процессов. Так, хорошо известно, что величина электрического поля на мембране регулирует состояние ряда ионных каналов, активность некоторых ферментов и т.п. Весьма характерно, что сами системы, ответственные за биоэлектrogenез (например,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФаза), могут находиться под контролем разности потенциалов на мембране.

В-третьих, сигнальная роль биоэлектрических потенциалов, которая в наиболее совершенной форме представлена в нервах животных, имеет место также и у других объектов, в том числе у высших растений. Появляется все больше фактов, которые подтверждают идеи, выдвинутые в начале XX в. выдающимся индийским ученым Босом, о том, что в ответ на внешние воздействия у растений могут генерироваться биоэлектрические импульсы, по природе во многом сходные с потенциалами действия нервных волокон. Изучение этих импульсов у растений представляется особенно важным в связи со сравнительно-эволюционной оценкой процесса распространяющегося возбуждения и выяснением природы быстрых функциональных связей между отдельными органами растительного организма.

Хотя вопросы биоэлектrogenеза у высших растений отражены к настоящему времени в весьма значительном количестве публикаций, почти не делалось попыток их систематического обобщения. Эта задача представляется тем более важной, что генерация биоэлектрических потенциалов у высших растений, по имеющимся данным, обладает не только чертами сходства с таковой у животных и харофитов, но характеризуется и рядом специфических особенностей. Попытка в данном направлении сделана в настоящей монографии. Она обобщает результаты исследований, проводимых в течение ряда лет на кафедре биофизики Нижегородского университета, а также результаты других авторов. В соответствии с общепринятой сейчас классификацией биопотенциалов монография разделена на две части. Первая посвящена природе потенциалов покоя, вторая — природе потенциалов действия. В книге лишь отчасти рассматривается довольно значительный экспериментальный материал, посвященный характеристике экстраклеточно отводимых потенциалов. Имеющий несомненную значимость в физиологическом аспекте этот материал во многих случаях не дает информации в плане раскрытия механизмов биоэлектrogenеза высших растений.

# БИОЭЛЕКТРОГЕНЕЗ КЛЕТОК ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ В ПОКОЕ

## 1. МЕТОДИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕРЕНИЯ ПОТЕНЦИАЛОВ ПОКОЯ КЛЕТОК ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ

Биоэлектрическая активность клеток высших растений в покое может быть измерена, как и у животных объектов, различными методами. Это прежде всего внутриклеточное или внеклеточное отведение биоэлектрической активности и метод флуоресцентных зондов. Учитывая то обстоятельство, что общие принципы указанных методов достаточно подробно изложены в различного рода пособиях, в настоящей главе мы считаем целесообразным обратить основное внимание лишь на те особенности, которые имеет измерение потенциала покоя  $E_m^r$  клеток у высших растений.

### Измерение потенциалов покоя в помощью электродов

**Внутриклеточное измерение.** Измерение  $E_m^r$  клеток высших растений посредством микроэлектродной техники, несмотря на большой прогресс, достигнутый в ее совершенствовании, до сих пор представляет собой весьма непростую задачу. Дело в том, что клетки высших растений наряду с жесткой клеточной стенкой и высоким тургорным давлением, характерным и для клеток, например харовых водорослей, имеют, в отличие от последних, очень небольшие размеры. В этой связи удачное введение микроэлектрода в клетку высшего растения, позволяющее осуществить достаточно длительный эксперимент (в течение часа и более), требует от исследователя значительного навыка работы с такими клетками.

Микроэлектроды, используемые для измерения  $E_m^r$  клеток высших растений, изготавливают обычно из стекла "Пирекс". Диаметр их кончика, с учетом малых размеров клеток объекта, не должен превышать 1 мкм. Микроэлектроды с диаметром кончика более 1 мкм при введении, как правило, сильно повреждают клетки высших растений.

Введение микроэлектродов осуществляют с помощью микроманипулятора под углом 30 — 60° к плоскости объекта (речь идет чаще всего о поверхности среза) и при визуальном контроле через микроскоп с большим увеличением ( $\times 200$  и более). Горизонтальное и вертикальное введение микроэлектродов, осуществляемое обычно "вслепую", используется гораздо реже. Число повторных введений одного и того же микроэлектрода, учитывая большую вероятность притупления или слома его кончика о жесткую клеточную стенку, должно быть минимальным.

Для предотвращения попадания содержимого обладающих тургором клеток в канал введенного микроэлектрода последний заполняют гелем. С этой целью электролит (например, 3 М KCl), предназначенный для заполнения электрода, может быть приготовлен на 2%-ном агаре [514].

Измерение  $E_m^r$  клеток высших растений производят по отношению к водной среде определенного солевого состава, окружающей клетки объекта, укрепленного в экспериментальной кювете. В этой связи некоторые авторы [8], работающие с наземными высшими растениями, отмечают, что водная среда не является естественным условием обитания, например, для клеток поверхностных тканей листьев таких растений, и стремятся использовать методические приемы, позволяющие свести к минимуму число контактирующих клеток объекта с внешней водной средой. Однако измеряемые при этом  $E_m^r$  и их реакция в ответ на действие различных химических агентов, судя по всему, ничем не отличаются от таковых в экспериментах с традиционной методикой.

Регистрацию измеряемых  $E_m^r$  клеток высших растений осуществляют обычно на ленте самопишущего потенциометра через посредство усилителя. При этом для получения точности измерения выше 1% входное сопротивление усилителя должно превышать сопротивление микроэлектрода более чем в 100 раз [146].

Величина измеряемых  $E_m^r$  в большой мере зависит от степени шунтирования микроэлектродом таких клеточных мембран, как плазмалемма и тонопласт (см. раздел 2). Следует также учитывать, что вокруг кончика микроэлектрода, локализованного в цитоплазме, последняя со временем способна формировать своего рода "чехол", который вызывает резкое изменение измеряемого потенциала [112]. К резким колебаниям величины измеряемого  $E_m^r$  и как следствие вынужденному прекращению регистрации могут приводить и весьма незначительные изменения положения объекта в пределах экспериментальной кюветы в условиях длительного опыта, наступающие, например, в результате действия света (фототропизм). Это свидетельствует о том, что объект должен быть достаточно жестко фиксирован в экспериментальной кювете.

Следует отметить, что, помимо  $E_m^r$ , с помощью микроэлектродной техники могут быть также исследованы такие электрические характеристики мембран клеток высших растений, как омическое сопротивление, вольт-амперная характеристика и др. [253, 380, 381, 405]. Методом пзтч-клямпа, получившим большое распространение в последние годы, в опытах на изолированных протопластах и вакуолях клеток высших растений при использовании микроэлектродов в качестве микроприсосок осуществляется анализ проводимости одиночных ионных каналов [421, 613, 655]. Подробную информацию о методических

особенностях измерения перечисленных электрических характеристик можно найти в работах, на которые выше сделаны ссылки.

**Внеклеточное измерение.** Принцип внеклеточной регистрации биоэлектрической активности клеток высшего растения в покое основан на симпластической природе электрической полярности данного объекта [88, 284]. При этом разность потенциалов  $\Delta U_{1,2}$  между двумя точками поверхности, например стебля растения, может быть описана уравнением

$$\Delta U_{1,2} = \frac{r_1}{r_1 + r_2} (E_{m_1} + E_{m_2}) + \Delta \varphi, \quad (1)$$

где  $r_1$  — сопротивление внешней среды;  $r_2$  — сопротивление симпласта;  $E_{m_1}$  и  $E_{m_2}$  — мембранные потенциалы симпласта в точках 1 и 2;  $\Delta \varphi$  — вклад апопласта в электрическую полярность объекта (обычно не существен). Из уравнения 1 следует, что измеряемая внеклеточно разность потенциалов позволяет в той или иной степени судить лишь об изменениях  $E_m$  клеток высшего растения в зоне отведения (например, под влиянием какого-либо воздействия), но не о стационарных уровнях потенциала.

Типичным примером внеклеточно регистрируемой разности потенциалов может служить так называемый биоэлектрический тканевой потенциал [201], возникающий между апикальным и базальным концами отрезка стебля высшего растения при воздействии на один из них (обычно апикальный) каким-либо фактором. При этом показательно, что исходно разность потенциалов между концами такого отрезка отсутствует или не превышает  $\pm 10$  мВ.

Внеклеточное отведение разности потенциалов в покое может осуществляться как от одного высшего растения, так и одновременно от целой группы растений (при одном канале измерения) [269]. В последнем случае регистратор запишет усредненное значение разности потенциалов всей использованной совокупности растений, что весьма существенно для получения статистически значимого результата, особенно при экспресс-анализе.

Для внеклеточного отведения применяют чаще всего неполяризующиеся макроэлектроды (каломельные и хлорсеребряные). Могут использоваться, в частности, вспомогательные электроды, предназначенные для рН-метрических измерений. На такие электроды, заполненные насыщенным раствором КСl, надевают переходные насадки со смоченными слабым ионным раствором (водопроводная вода, 0,1%-ный КСl, искусственная прудовая вода и т.д.) фитильками из ваты, марли, шерсти или асбеста. Они служат для обеспечения "мягкого" контакта с поверхностью растения, смачивания зоны контакта и предотвращения неблагоприятного воздействия на клетки растения вытекающего из электродов электролита.

## Измерение потенциалов покоя методом флуоресцентных зондов

Помимо электродов, измерение  $E_m^r$  у высших растений может быть осуществлено в опытах на везикулах изолированных клеточных мембран с помощью потенциалчувствительных флуоресцентных зондов. В число наиболее часто используемых с этой целью зондов входят аурамин 00, АНС,  $diS-C_3(5)$  и оксонол VI [105, 106, 542, 587].

Измерение  $E_m^r$  посредством связанных с мембранными везикулами зондов основано на изменении интенсивности их флуоресценции при соответствующих изменениях трансмембранного потенциала или его возникновении на везикулах. Например, интенсивность флуоресценции отрицательно заряженного зонда АНС увеличивается при возникновении на везикулах плазматических мембран  $E_m$  со знаком "плюс" внутри (вывернутые везикулы). В этих же условиях наблюдается тушение флуоресценции положительно заряженного зонда аурамина 00 [105, 106]. О величине  $E_m$  в ходе таких опытов судят по амплитуде изменений интенсивности флуоресценции зондов. При этом относительные единицы, в которых обычно выражена интенсивность флуоресценции, путем калибровки весьма несложно перевести в милливольты [180, 542].

Следует в то же время учитывать, что использование потенциалчувствительных флуоресцентных зондов для измерения  $E_m^r$  имеет определенные ограничения. Например, цианиновые зонды, в число которых входит  $diS-C_3(5)$ , обнаруживают чувствительность не только к трансмембранному, но и поверхностному потенциалу [657], что затрудняет интерпретацию измерений. Показано также, что изменение флуоресценции цианиновых зондов в ответ на генерацию трансмембранного потенциала, по данным опытов с липосомами [635], сильно зависит от соотношения зонд/липид. Наконец, в опытах на интактных клетках было обнаружено, что цианиновые зонды могут снижать внутриклеточный уровень АТФ и вызывать деполяризацию клеточной мембраны. В этой связи отмечены многочисленные расхождения величин  $E_m^r$ , измеренных с использованием соответственно зондов и микроэлектродов [453].

Таким образом, выбор флуоресцентных зондов для измерения трансмембранной разности потенциалов должен осуществляться с учетом как специфики самих зондов, так и особенностей исследуемого объекта.

## 2. ЭЛЕКТРИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ СТРУКТУРНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ РАСТИТЕЛЬНОЙ КЛЕТКИ В ПОКОЕ

Приступая к рассмотрению биоэлектрогенеза клеток высших растений в покое, следует прежде всего учитывать, что он имеет комплексную природу. Это связано не только с тем, что существенно различаются механизмы (активные и пассивные), лежащие в его основе (см. разделы 3,4,5), но и с тем, что растительные клетки имеют многочисленные мембранные структуры, каждая из которых характеризуется определенными электрическими свойствами. Поэтому перед исследователем, измеряющим  $E_m^r$  клетки высшего растения, неизбежно встает вопрос об интерпретации результатов измерения. Учитывая это, рассмотрим электрическую активность отдельных структурных элементов клеток высших растений в покое и ее вклад в клеточный  $E_m^r$  в целом.

### Потенциал клеточной стенки

Роль наружной структуры, граничащей с внешней средой, выполняет у растительной клетки целлюлозная клеточная стенка с аморфным матриксом из полимерных молекул пектина, несущая отрицательный поверхностный заряд около  $0,01$  экв/м<sup>2</sup> [44,112]. Наличие этого заряда придает клеточной стенке отчетливо выраженные катионообменные свойства с преимущественной избирательностью к связыванию  $\text{Ca}^{2+}$  [44,277], который играет важную роль в регуляции проницаемости клеточной стенки по отношению к  $\text{K}^+$  и  $\text{Na}^+$  [44].

Измерения потенциала клеточной стенки при постепенном введении микроэлектрода внутрь клетки, выполненные в основном на харовых водорослях [42,44,46], показали, что он имеет величину  $-40 + \text{---} 70$  мВ. У высших растений его величина, возможно, несколько ниже:  $-20 + \text{---} 30$  мВ [346]. Эти результаты показывают, что клеточная стенка способна вносить вполне реальный вклад в общую величину  $E_m^r$  растительной клетки при введении микроэлектрода внутрь нее. Однако величина этого вклада зависит, судя по всему, от плотности контакта клеточной стенки с расположенной ниже ее другой клеточной структурой — плазматической мембраной, или плазмалеммой. Чем этот контакт плотнее, тем больше будет вклад клеточной стенки в измеряемый клеточный  $E_m^r$ , и наоборот [277].

### Потенциал плазмалеммы

Плазматическая мембрана — основной структурный барьер, отделяющий содержимое растительной клетки от внешней среды. Если клеточную стенку можно условно рассматривать как рыхлую "сеть", ячейки которой проходимы для всех неорганических ионов и многих растворенных веществ, то плазматическая мембрана имеет гораздо

более сложную и компактную организацию, специально приспособленную для осуществления транспортной и ряда других функций. Вследствие этого априори можно ожидать, что потенциал плазмалеммы должен иметь весьма значительную величину.

Попытки осуществить возможно более точную оценку величины потенциала плазмалеммы у растительных объектов в литературе предпринимались неоднократно. В частности, на крупных клетках харовых водорослей его величина, по данным Л.Н. Воробьева и соавторов [42,46], может быть измерена как скачок потенциала на границе клеточной стенки и цитоплазмы при постепенном введении микроэлектрода внутрь клетки. Потенциал плазмалеммы, измеренный таким способом, составляет  $-80 + -100$  мВ, что заметно превышает величину потенциала клеточной стенки у этих же объектов.

У высших растений подобные измерения потенциала плазмалеммы ввиду очень малых размеров клеток и соответственно чрезвычайно тонкого слоя цитоплазмы между плазмалеммой и тонопластом (вакуолярной мембраной), крайне затруднены. Вследствие этого, чтобы избежать попадания кончика введенного в клетку микроэлектрода в вакуоль и исключить тем самым возможность погрешностей при измерении потенциала плазмалеммы, исследователи прибегают к различного рода методическим ухищрениям. Например, подвергают объект центрифугированию и проводят измерения потенциала плазмалеммы в той части клеток, где скопилась цитоплазма [404]. Информацию о величине потенциала плазмалеммы получают также в ходе электрофизиологических исследований на невакуолизованных (по тем или иным причинам) растительных клетках, например молодых корневых волосках [36,112].

Величина потенциала плазмалеммы у высших растений, по результатам исследований, оказывается весьма значительной (около  $-100$  мВ и более) и, по существу, часто совпадает с величинами  $E_m^r$  клеток в целом [36,112,346,379,404]. Следует, однако, учитывать, что плазмалемма при этом рассматривается авторами обычно как так называемая толстая мембрана [44], т.е. в единстве с клеточной стенкой.

В последнее время получили широкое распространение измерения потенциала плазмалеммы на протопластах растительных клеток [322, 542,554]. Однако, поскольку транспортные и электрические свойства протопластов, судя по всему, существенно отличаются от таковых у интактных клеток, потенциалы плазмалеммы, измеренные на протопластах, характеризуются большой вариабельностью значений и не отражают существа дела.

## Потенциал тонопласта

Тонопласт, как мембрана, отделяет содержимое вакуоли (клеточный сок) от цитоплазмы и является структурным образованием, присущим растительным клеткам. Его потенциал может быть определен как в опытах на интактных клетках путем сравнения величин  $E_m^r$  при

введении микроэлектрода в цитоплазму и вакуоль [296,346,379,404], так и на изолированных вакуолях [286,346,400,452].

Результаты этих измерений показывают, что потенциал тонопласта имеет знак "плюс" (содержимое вакуоли заряжено положительно по отношению к цитоплазме) и составляет, по данным для изолированных вакулей,  $5 + 20$  мВ [286,346,400,452], а по данным для интактных клеток — не менее  $30 + 40$  мВ [296,346]. Положительный знак потенциала тонопласта дает основания считать, что  $E'_m$  клетки высшего

растения, измеряемый посредством введенного микроэлектрода и имеющий знак "минус" (содержимое как цитоплазмы, так и вакуоли электроотрицательно по отношению к внешней среде), будет тем выше, чем меньше окажется вклад потенциала тонопласта в его величину.

## Потенциал митохондрий и хлоропластов

Среди клеточных органелл с высокодифференцированной собственной мембранной системой ведущее место без сомнения занимают митохондрии и хлоропласты, с которыми связано осуществление важнейших энергетических процессов растительной клетки. Однако если микроэлектродное измерение потенциала является достаточно сложной задачей уже при анализе электрических свойств плазмалеммы и тонопласта у высших растений, то при переходе на субклеточный уровень методические трудности становятся почти неразрешимыми. В частности, по свидетельству В.П. Скулачева [247], попытки измерить потенциал митохондрий путем введения микроэлектрода до сих пор остаются безуспешными. В то же время некоторым исследователям удалось осуществить измерение трансмембранного потенциала крупных хлоропластов ряда растительных объектов, прежде всего пеперомии [33,337,598]. Его величина в опытах на интактных клетках (измеренная по отношению к цитоплазме) и на изолированных хлоропластах (измеренная по отношению к среде) варьирует от 10 до —60 мВ.

Что касается потенциала митохондрий у высших растений, то известны его оценки, сделанные с помощью спектрофотометрического метода [524]. Величина потенциала этой органеллы по таким оценкам весьма значительна и составляет  $120 + 140$  мВ.

## Потенциал других структурных элементов клетки

Среди прочих клеточных структур, реально претендующих на обладание биоэлектрическими свойствами, может быть упомянута мембрана ядра. В частности, известны даже попытки судить по биоэлектрическим свойствам клеточного ядра о неспецифической устойчивости растений [271]. В то же время информация о трансмембранном потенциале ядра в подобных работах отсутствует.

## Интерпретация внутриклеточных измерений потенциала покоя у высших растений.

### Вклад потенциала плазмалеммы

Изложенный выше материал об электрических свойствах различных структур клетки высшего растения показывает, что измеряемый посредством введенного микроэлектрода клеточных  $E_m^r$  может быть удовлетворительно описан суммарным вкладом потенциалов следующих структурных образований: клеточной стенки, плазмалеммы и тонопласта. При этом, поскольку клеточная стенка и плазмалемма обычно рассматриваются как единая "толстая" плазматическая мембрана, речь может идти о вкладе лишь двух основных слагаемых: потенциала плазмалеммы, понимаемой как "толстая мембрана", и потенциала тонопласта.

Вклад потенциалов плазмалеммы и тонопласта в  $E_m^r$  клетки, измеряемый введенным микроэлектродом, в сильной степени определяется электрическим сопротивлением каждой из этих мембран. У многих водорослей сопротивление тонопласта намного ниже сопротивления плазмалеммы, и поэтому измеряемая трансмембранная разность потенциалов между вакуолью и внешней средой обусловлена главным образом потенциалом плазмалеммы [44,112,435]. До недавнего времени считалось, что также обстоит дело и у высших растений [112]. Однако результаты исследований последних лет свидетельствуют об обратном: сопротивление тонопласта у высших растений значительно превышает сопротивление плазмалеммы, и поскольку потенциал тонопласта составляет несколько десятков милливольт и противоположен по знаку потенциалу на плазмалемме, измеряемый  $E_m^r$  клетки может быть существенно занижен вкладом потенциала тонопласта. Это подтверждают, например, результаты исследований, выполненных на клетках паренхимы колеоптилей овса [296]. Измеренный  $E_m^r$  имел высокие значения (около  $-100$  мВ) в тех случаях, когда "прокол" клетки электродом характеризовался низким внутренним сопротивлением (2—4 МОм). Напротив, низкие значения  $E_m^r$  (около  $-50$  мВ) были измерены при высоких внутренних сопротивлениях "прокола" (более 20 МОм).

Отсюда вытекает, что у высших растений значительные  $E_m^r$ , сопоставимые по величине с потенциалом плазмалеммы, могут быть зарегистрированы в опытах, в которых удастся свести к минимуму (или полностью исключить) вклад потенциала тонопласта в измеряемые  $E_m^r$ . Такая ситуация имеет место, очевидно, в двух случаях: когда электрод или не проникает через тонопласт, или проникает, но при этом сильно шунтирует его. Сказанное поясняет схема эквивалентной цепи сопротивлений в мембранной системе клетки высшего

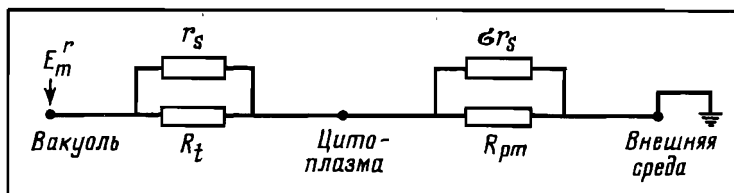


Рис. 1. Эквивалентная цепь сопротивлений в мембранной системе растительной клетки при введении микроэлектрода в вакуоль [296, 405]

$E_m^r$  — мембранный потенциал покоя;  $R_t$  — сопротивление тонопласта;  $R_{pm}$  — сопротивление плазмалеммы;  $r_s$  — сопротивление шунта, введенного микроэлектродом через тонопласт;  $\sigma$  — коэффициент, отличающий сопротивление шунта через плазмалемму от сопротивления шунта через тонопласт

растения при введении микроэлектрода в вакуоль, представленная на рис.1. Ей соответствует уравнение для измеряемого  $E_m^r$  клетки, имеющее вид

$$E_m^r = E_t \left( \frac{r_s}{r_s + R_t} \right) + E_{pm} \left( \frac{\sigma r_s}{\sigma r_s + R_{pm}} \right), \quad (2)$$

где  $E_m^r$ ,  $E_t$ ,  $E_{pm}$  — соответственно потенциалы покоя, тонопласта и плазмалеммы;  $R_t$  — сопротивление тонопласта;  $R_{pm}$  — сопротивление плазмалеммы;  $r_s$  — сопротивление шунта утечки, введенного микроэлектродом через мембрану;  $\sigma$  — коэффициент, отличающий сопротивление шунта через плазмалемму от сопротивления шунта через тонопласт [296].

Из уравнения 2 следует, что в условиях, когда электрод не проникает в вакуоль, а локализован в цитоплазме, первый член уравнения, соответствующий вкладу потенциала тонопласта, становится равным нулю, а  $E_m^r$  полностью определяются потенциалом на плазмалемме.

При этом вклад потенциала плазмалеммы оказывается тем больше, чем больше сопротивление шунта утечки, т.е. чем меньше повреждение мембраны электродом. На наш взгляд, есть все основания полагать, что подобная ситуация, когда кончик микроэлектрода не проникает в вакуоль клетки высшего растения, встречается на практике достаточно часто вследствие значительной эластичности тонопласта [123].

Если все же введенный в клетку микроэлектрод пронизывает не только плазмалемму, но и тонопласт, измеренный  $E_m^r$ , согласно уравнению 2, будет тем больше, чем больше величина коэффициента  $\sigma$ , отличающего сопротивление шунта через плазмалемму от сопротивления шунта через тонопласт. Это связано с тем, что значительная величина  $\sigma$  характеризует ситуацию, когда микроэлектрод сильно шунтирует тонопласт, но не плазмалемму.

Итак,  $E_m^r$  клетки высшего растения, измеренный микроэлектродом, представляет собой алгебраическую сумму потенциалов плазмалеммы и тонопласта. При этом, поскольку потенциал тонопласта меньше по величине и противоположен по знаку потенциалу плазмалеммы, измеренный  $E_m^r$ , имеющий знак "минус", всегда в той или иной степени опосредован потенциалом плазмалеммы. Доля потенциала плазмалеммы, приходящаяся на измеренный  $E_m^r$ , возрастает при уменьшении вклада потенциала тонопласта и удачном шунтировании электродом плазматической мембраны.

### 3. ПОТЕНЦИАЛ ПОКОЯ КЛЕТОК ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ КАК СУММА ДИФфуЗИОННОЙ И МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ СОСТАВЛЯЮЩИХ

Величина потенциала покоя клеток.

Вклад диффузионной и метаболической компонент

Систематическое исследование природы мембранного потенциала покоя начато сравнительно давно — около 30 лет назад — и в наиболее полном объеме выполнено к настоящему времени на клетках животных объектов. Установлено, что  $E_m^r$  клеток животного происхождения имеют величину  $-50 + -70$  мВ [274] и могут рассматриваться как алгебраическая сумма пассивной и активной компонент [505]. Пассивная компонента  $E_D$  возникает в результате диффузии ионов, прежде всего  $K^+$ , через плазматическую мембрану и вносит определяющий вклад (более 50%) в общую величину  $E_m^r$ . Активная компонента  $E_p$  формируется разделением зарядов при работе электрогенного насоса, функцию которого на плазматической мембране животных клеток выполняет главным образом  $Na^+$ ,  $K^+$ -АТФаза. Величина  $E_p$  варьирует, по некоторым оценкам, от 1,4 мВ у аксона кальмара *Loligo* до 22 мВ у нейрона моллюска *Aplysia* [541].

Естественно ожидать, что некоторые общие закономерности, касающиеся природы  $E_m^r$  у животных объектов, должны быть присущи и  $E_m^r$  высших растений. Тем не менее уже первые микроэлектродные измерения электрической активности их клеток, выполненные в начале 1960-х годов [379,425], показали, что величина  $E_m^r$  у высших растений много больше зарегистрированной у животных объектов и составляет, как правило, не менее  $-100$  мВ. По-видимому, наиболее высокие  $E_m^r$  присущи зеленым клеткам листьев растений, особенно водных, в условиях освещения. Они достигают, например, у эгерии, элодеи и ряски  $-260$  мВ [145,170,567,673]. Величина  $E_m^r$  клеток корня и

стебля растений несколько меньше и варьирует в пределах от  $-100$  до  $-200$  мВ [66, 185, 371, 427, 515].

Различия в величине  $E_m^r$  обнаруживают не только клетки разных органов, но также и неодинаковых по функциональному назначению тканей одного и того же органа высшего растения. Например, среди тканей стебля наиболее высокие  $E_m^r$  имеют обычно клетки пучковой паренхимы. Для тыквы они достигают  $-200$  мВ, в то время как величина  $E_m^r$  клеток основной паренхимы и эпидермиса стебля лежит в пределах  $-130 + -160$  мВ [185].

Возникает вопрос, за счет чего формируются столь значительные  $E_m^r$  клеток высших растений? Приблизительные расчеты  $E_D$ , проведенные на основе сведений о типичном распределении  $K^+$ ,  $Na^+$  и  $Cl^-$  между внутриклеточным содержимым и внешней средой в условиях эксперимента, дают величину  $-70 + -90$  мВ [222, 427, 593]. Отсюда следует, что в подавляющем большинстве случаев значительные  $E_m^r$  клеток высших растений можно объяснить только подключением к процессу их формирования активных механизмов, причем вклад  $E_p$  в общую величину  $E_m^r$ , даже при столь приблизительной оценке, может составлять более 50%.

Распространенным способом определения реального вклада  $E_p$  и соответственно  $E_D$  в  $E_m^r$  является анализ величины  $E_m^r$  при действии на клетку химических агентов, угнетающих ее метаболизм. Химическими агентами, широко используемыми для этой цели в опытах на высших растениях, являются ингибиторы клеточного дыхания — цианид ( $CN^-$ ), азид ( $N_3^-$ ) и разобщители окислительного и фотофосфорилирования — КЦХФГ и ДНФ. Для выяснения дозы агента, способной вызывать полное подавление метаболической составляющей  $E_m^r$ , применяют, как правило, ступенчатое повышение концентрации агента в ходе опыта. Дозу, начиная с которой дальнейшее повышение концентрации агента в среде не сказывается заметно на величине  $E_m^r$ , выбирают в качестве рабочей [211, 427, 488]. Амплитуда изменений потенциала при внесении такой дозы в среду, омывающую клетки, нередко достигает 60—70%  $E_m^r$  (рис. 2). Эта доля  $E_m^r$  эквивалентна вкладу  $E_p$ . Вклад  $E_D$  в  $E_m^r$ , по результатам таких опытов, обычно не превышает 40%.

Помимо ингибиторов и разобщителей, эффективными средствами оценки вклада  $E_p$  и  $E_D$  в  $E_m^r$  у высших растений являются аноксия (замена  $O_2$ -содержащей среды на  $N_2$ ) [319, 376, 462] и глубокое охлаждение (обычно до  $5-2^\circ C$ ) [514, 515, 534]. Эффективность этих

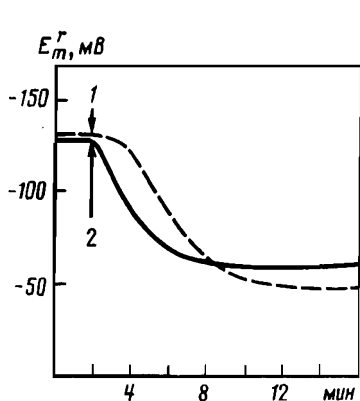


Рис. 2. Влияние 3 мМ  $\text{NaN}_3$  (1) и 20 мкМ КЦХФГ (2) на  $E_m^r$  клеток стебля тыквы [186]

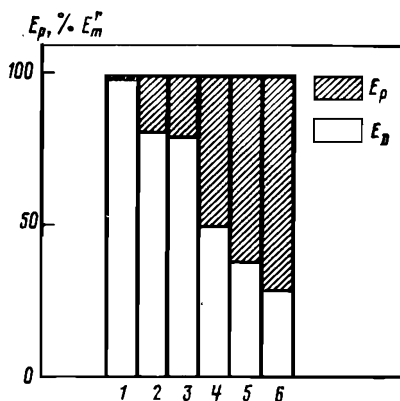


Рис. 3. Вклад  $E_p$  в  $E_m^r$  клеток ряда животных и растительных объектов

1 — аксон кальмара [368]; 2 — фоторецептор морского желудя [472]; 3 — нейрон моллюска [505]; 4 — эпидермис корня кукурузы [319]; 5 — паренхима гипокотили вигны [462]; 6 — лист эгерии [567]

средств подтверждает тот факт, что действие ингибиторов клеточного метаболизма на  $E_m^r$  на фоне аноксии или глубокого охлаждения оказывается, как правило, незаметным и, следовательно  $E_m^r$  клеток в этих условиях соответствует компоненте, имеющей пассивную природу, т.е.  $E_D$ .

Перечисленные выше способы определения вклада  $E_p$  и  $E_D$  в  $E_m^r$  у высших растений основаны на подавлении  $E_p$ . Закономерен вопрос о том, возможно ли осуществить подобное определение путем угнетения  $E_D$ . Ответ на этот вопрос представляется нам отрицательным, поскольку изменить величину пассивной составляющей  $E_m^r$ , не затронув при этом его активную, метаболическую компоненту из-за ее высокой лабильности, весьма сложно. По-видимому, лишь в опытах с инфицированием корневых клеток сои микоризообразующими бактериями рода *Rhizobium* было обнаружено небольшое, на 10—15 мВ, снижение  $E_m^r$ , не связанное с уменьшением вклада  $E_p$ , величину которого контролировали воздействием аноксии [376]. Результаты этих опытов, однако, позволяют лишь тестировать наличие потенциала  $E_D$  в составе  $E_m^r$ , но не судить о его величине.

Итак, исследования с использованием метаболических ингибиторов, аноксии и глубокого охлаждения с определенностью показывают, что  $E_m^r$  клеток высших растений, так же как и  $E_m^r$  животных объек-

Таблица 1

ВЛИЯНИЕ ИНГИБИТОРОВ МЕТАБОЛИЗМА, АНОКСИИ И ГЛУБОКОГО  
ОХЛАЖДЕНИЯ НА  $E_m^r$  КЛЕТОК ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ

| Объект                         | Воздействие         | $E_m^r$ , мВ |           | $E_p$ % от | Литератур-<br>ный<br>источник |
|--------------------------------|---------------------|--------------|-----------|------------|-------------------------------|
|                                |                     | контроль     | опыт      | $E_m^r$    |                               |
| Корень сои                     | КЦХФГ, 0,05 мМ      | -183         | -87       | 52         | [488]                         |
| Колеоптиль<br>овса             | Цианид, 1 мМ        | -119 ± 25    | -42 ± 12  | 66         | [427]                         |
| Гипохотиль<br>вигны            | Аноксия             | -111 ± 8,1   | -40       | 63         | [462]                         |
| Лист пшеницы                   | ДНФ, 0,1 мМ         | -160 + -180  | -70 + -80 | 56         | [63]                          |
| Лист эгерии                    | Цианид, 1 мМ        | -250 ± 18    | -70       | 72         | [576]                         |
| Пыльцевая<br>трубка<br>энотеры | Охлаждение до<br>4° | -138 ± 19    | -40       | 70         | [514]                         |

тов, включает в себя пассивную и активную, опосредованную клеточным метаболизмом компоненты. Однако если вклад  $E_p$  в  $E_m^r$  у животных объектов сравнительно невелик, то величина  $E_p$  у высших растений нередко заметно превалирует над величиной  $E_D$  (табл. 1). Это обстоятельство является важной особенностью электрогенеза клеток высших растений, отличающей его от электрогенеза клеток животных объектов. Схематическое изображение долевого участия  $E_p$  в формировании  $E_m^r$ , по данным для ряда животных и растительных объектов, представлено на рис. 3.

Наличие столь существенных различий как в величине  $E_p$ , так и в целом  $E_m^r$  клеток животных и высших растений может быть обусловлено, очевидно, рядом причин. Основная из них, на наш взгляд, связана с тем, что жизнедеятельность клеток растительного организма, независимо от их функциональной специализации и расположения, как правило, в гораздо большей степени опосредована условиями внешней среды, чем жизнедеятельность клеток животного происхождения. Отсюда следует, что режим протекания клеточных процессов у растений на плазматических мембранах как естественной границе между внутриклеточным содержимым и внешней средой должен быть гораздо напряженнее, чем у большинства животных объектов. Судя по всему, именно высокий  $E_m^r$ , включающий значительную и лабильную компоненту  $E_p$ , способен у клеток высших растений выполнять функцию ведущего фактора для поддержания такого режима, а также его регуляции в негомогенных условиях внешней среды. Многочис-

ленные данные о роли  $E'_m$  в осуществлении пассивного и активного мембранного транспорта, в стабилизации мембранной структуры и т.д. подтверждают это (см. раздел 8).

Возникает вопрос, за счет чего оказывается возможным возникновение высокого  $E'_m$  на плазматической мембране клеток высших растений?

Существенную роль здесь, по-видимому, играет то обстоятельство, что проницаемость плазматических мембран клеток высших растений для ионов  $H^+$ , при участии которых в основном формируется  $E_p$  [306, 652], весьма низка. Это сводит к минимуму диссипацию  $E_p$  за счет поступления  $H^+$  в клетку по электрохимическому градиенту. У животных объектов,  $E_p$  которых формируется главным образом ионами  $Na^+$  [541], возможность такой диссипации более значительна.

Представляется также вполне вероятным, что мощность электрогенного насоса, в совокупное понятие которой входят, очевидно, стехиометрия осуществляемого активного транспорта ионов, число рабочих циклов насоса в единицу времени и плотность распределения насосных систем на мембране, превосходит у клеток высших растений таковую у животных объектов.

Перечисленные возможные механизмы поддержания высокого  $E_p$  и, следовательно, высокого  $E'_m$  клеток высших растений в определенной

мере отражают, очевидно, специфику осуществления электрогенного активного транспорта ионов у растительных объектов. Следует учитывать, что эта специфика касается во многом и источников энергии, необходимой для работы электрогенных насосов. Если у животных основным поставщиком такой энергии является митохондриальное дыхание, то у высших растений наряду с дыханием существенную роль в этом процессе может играть фотосинтез. В этой связи метаболический потенциал  $E_p$  клеток высших растений имеет более сложное, чем у животных объектов, происхождение и, на наш взгляд, может быть условно подразделен на темновую и фотоиндуцированную компоненты.

### Темновая метаболическая компонента потенциала покоя

Термин "темновая метаболическая компонента" означает, что речь идет о  $E_p$ , возникновение которого не связано с действием освещения на клетку. У клеток нефотосинтезирующих тканей это фактически весь потенциал  $E_p$ , у клеток тканей, способных к фотосинтезу, —  $E_p$  в темноте, без фотоиндуцированной "надстройки".

Генерация темнового  $E_p$  тесно связана с митохондриальным дыханием. Об этом свидетельствуют результаты выполненных на клетках эпикотилия гороха опытов по влиянию цианида на величину  $E'_m$  и активность дыхания, измеренную по поглощению  $O_2$  [427]. При низких концентрациях цианида имела место линейная корреляция между

величиной  $E_m^r$  и активностью дыхания. Корреляция нарушалась в области высоких концентраций агента, когда  $E_m^r$  выходил на уровень  $E_D$ , а активность дыхания продолжала снижаться. Таким образом, линейно коррелировала с активностью дыхания именно величина метаболической компоненты  $E_m^r$  клеток эпикотилия, являющаяся, по существу, темновым  $E_p$ .

Наличие корреляции между величиной темнового  $E_p$  и активностью дыхания предполагает возможность сходной корреляции между темновым  $E_p$  и внутриклеточным содержанием АТФ — основным макроэргическим продуктом дыхания. Исследования, выполненные рядом авторов [468, 488, 593] на клетках нефотосинтезирующих тканей, показали, что корреляция между уровнями  $E_m^r$  и АТФ действительно нередко наблюдается и может иметь отчетливо выраженный линейный характер (рис. 4). При этом линейность свойственна фактически зависимости от АТФ-активной компоненты  $E_m^r$ .

Корреляция темнового  $E_p$  с внутриклеточным содержанием АТФ, установленная в опытах на интактных клетках, дает основание считать, что возникновение  $E_p$  является, по существу, АТФ-зависимым процессом, в котором АТФ выполняет функцию субстрата для электрогенных насосов. Следует в то же время заметить, что АТФ-зависимая генерация разности потенциалов на плазмалемме — не единственно возможный путь возникновения темнового  $E_p$ . Темновой  $E_p$  может возникать также, по-видимому, при функционировании ЭТЦ плазмалеммы [172, 447]. Однако с определенностью судить о величине доли темнового  $E_p$ , возникающей при участии ЭТЦ, на основе существующих данных пока не представляется возможным.

Наличие корреляции между величиной темнового  $E_p$ , с одной стороны, и уровнем митохондриального дыхания и содержания АТФ в клетке — с другой, разумеется, не означает, что процесс активной поляризации плазмалеммы в темноте требует для своего осуществления значительных затрат энергии метаболизма. В действительности такие затраты по существующим оценкам весьма невелики. Например, подробный анализ связи величины  $E_m^r$  с митохондриальным

дыханием, проведенный на эпидермальных клетках корня кукурузы с использованием таких модифицирующих метаболизм воздействий, как температура, аноксия и цианид [319], показал, что при 22° только 3,5% энергии дыхания расходуется на поляризацию плазмалеммы ( $E_m^r \approx -120$  мВ;  $E_p \approx 50\% E_m^r$ ). Неудивительно поэтому, что в условиях полного подавления  $E_p$  ингибиторами метаболизма сохраняется еще достаточно высокий уровень активности дыхания, оцениваемый по поглощению  $O_2$  (около 70% от контроля) [427], а также высокий уровень содержания АТФ в клетках (30—70% от контроля) [468, 488, 673].

Сравнительно небольшие затраты энергии метаболизма на поддержание высокого  $E_m^r$  у высших растений, на наш взгляд, свиде-

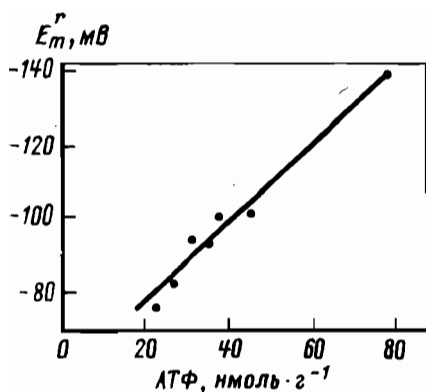
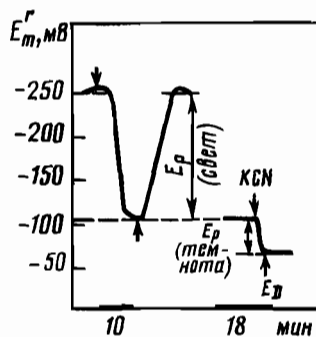


Рис. 4. Корреляция между уровнями АТФ и  $E_m^r$  клеток корня ячменя (при действии  $\text{NaN}_3$ ) [593]

Рис. 5. Кинетика изменения  $E_m^r$  клетки листа эгерии при действии освещения ( $13,6 \text{ Вт} \cdot \text{м}^{-2}$ ) и  $1 \text{ мМ KCN}$  [567]

Стрелками показано включение ( $\uparrow$ ) и выключение ( $\downarrow$ ) света



тельствуют в пользу целесообразности использования клеткой ее электрического трансмембранного потенциала в качестве одной из форм конвертируемой энергии, расходуемой прежде всего на осуществление таких являющихся векторными процессов, как активный и пассивный мембранный транспорт.

## Фотоиндуцированная метаболическая компонента потенциала покоя

Отчетливо выраженная фотоиндуцированная "надстройка"  $E_m^r$  свойственна зеленым клеткам листьев высших растений. Она развивается в течение нескольких минут после начала действия освещения и сохраняется длительное время, если условия освещения не изменяются [169].

Величина фотоиндуцированного  $E_p$  клеток листьев высших растений может быть весьма значительна. По данным для эгерии [567],  $E_m^r$  клеток листьев которой достигает на свету  $-250 \pm 18 \text{ мВ}$ , около  $140 \text{ мВ}$  приходится на фотоиндуцированный  $E_p$ ,  $40 \text{ мВ}$  — на  $E_p$  в темноте и  $70 \text{ мВ}$  — на  $E_D$  (рис. 5). В клетках листьев вики вклад фотоиндуцированной и темновой активных компонент в  $E_m^r$ , имеющий величину  $-165 \pm 20 \text{ мВ}$ , составляет соответственно около  $95$  и  $30 \text{ мВ}$ , пассивной компоненты —  $40 \text{ мВ}$  [567]. Таким образом, фотоиндуцированный  $E_p$  зеленых клеток высших растений способен принимать решающее участие в формировании метаболической компонен-

ты  $E_m^r$  в целом. Однако это характерно, по-видимому, только для клеток активно фотосинтезирующих тканей.  $E_m^r$  клеток листовых тканей иного функционального назначения, например эпидермиса средней жилки или замыкающих клеток устьиц, под влиянием освещения изменяются весьма слабо [64, 349].

Быстро формирующаяся под влиянием освещения фотоиндуцированная "надстройка"  $E_m^r$  предполагает связь электрогенеза зеленых клеток высших растений с протеканием фотосинтеза. Это убедительно подтверждают результаты ингибиторного анализа. Такие агенты, как, например, диурон, блокирующий ЭТЦ фотосинтеза в области фотосистемы II, или тентоксин, ингибирующий фотофосфорилирование, вызывают снижение  $E_m^r$  до темнового уровня [170, 361, 362, 567].

В качестве источников энергии для генерации фотоиндуцированного  $E_p$  могут выступать при этом, вероятно, как АТФ, так и восстановленные пиридиннуклеотиды [170, 673].

Энергия, запасенная в метаболитах темновой стадии фотосинтеза, может быть использована для работы АТФ-зависимых электрогенных насосов не только в зеленых клетках, но и, по-видимому, благодаря дальнему транспорту ассимилятов в клетках нефотосинтезирующих тканей. Трансформация энергии ассимилятов в универсальную конвертируемую форму, т.е. в АТФ, осуществляется при этом, очевидно, благодаря подключению клеточного дыхания. Показано, в частности, что освещение в течение 3 ч листьев выращенных в темноте проростков ячменя приводит к росту содержания АТФ в корнях от  $60,1 \pm 1,1$  до  $77,5 \pm 4,8$  нмоль  $\cdot$  г $^{-1}$  сырой массы и увеличению  $E_m^r$  клеток от  $-123 \pm 1$  до  $-147 \pm 1$  мВ при  $E_p$ , равном примерно  $-70 + 80$  мВ [593]. Это увеличение  $E_m^r$  вносит вклад в темновую  $E_p$ .

#### 4. ПРИРОДА ПАССИВНОЙ СОСТАВЛЯЮЩЕЙ ПОТЕНЦИАЛА ПОКОЯ

Пассивная компонента  $E_m^r$  клеток высших растений, так же как и клеток животных объектов, имеет диффузионное происхождение и возникает при участии главным образом ионов  $K^+$ ,  $Na^+$  и  $Cl^-$ , что свидетельствует об их универсальной физиологической значимости. Не останавливаясь подробно на общих сведениях о механизме генерации диффузионного потенциала на мембране, которые можно найти в любом современном учебном пособии по физиологии или биофизике, рассмотрим основные свидетельства роли указанных выше ионов в возникновении  $E_p$  у высших растений, включая полученные к настоящему времени данные о системах пассивного транспорта через мембрану.

## Механизм пассивной проницаемости мембран для ионов

Пассивный транспорт ионов через клеточные мембраны направлен в сторону уменьшения электрохимического потенциала этих ионов и, по существующим представлениям, осуществляется в основном через поры в липидном матриксе при участии переносчиков или с помощью каналов [28, 95, 231].

Поры, по-видимому, представляют собой сквозные липопротеиновые "окошечки" в мембране, диаметр которых может быть сравнительно велик, до 2 нм [95]. Ионы проходят через поры, будучи растворенными в воде. Помимо ионов по гидрофильным порам свободно диффундируют такие низкомолекулярные соединения, как мочевины, этанол, этиленгликоль и др.

Пассивный транспорт ионов при участии переносчиков имеет ряд черт, отличающих его от свободной диффузии через поры. В их число входят специфичность, связанная со способностью переносчиков различать транспортируемые ионы, и наличие эффекта насыщения субстратом, когда скорость транспорта ионов увеличивается с ростом их концентрации лишь до некоторой предельной величины.

Результаты исследований дают основания считать, что у высших растений при участии переносчиков осуществляются процессы  $K^+/H^+$ -,  $Na^+/H^+$ -,  $Ca^{2+}/nH^+$ -антипорта и  $H^+/Cl^-$ -симпорта на плазматической и вакуолярной мембранах [10, 318, 384, 397, 455, 497, 652]. Предпринимаются первые попытки по солюбилизации и реконструкции ионных переносчиков в липосомах. В частности, удалось реконструировать в активной форме вакуолярный  $H^+/Ca^{2+}$ -антипортер [620].

Каналы, судя по всему, являются наиболее совершенными структурными образованиями клеточных мембран, предназначенными для осуществления пассивного транспорта ионов [614, 655]. Они сформированы пронизывающими мембрану белковыми макромолекулами и осуществляют селективный транспорт тех или иных ионов. Скорость селективного транспорта ионов по каналам, находящимся в открытом состоянии, очень высока —  $10^8$  с<sup>-1</sup>, что на 3—4 порядка превышает, например, скорость ионного транспорта с участием переносчиков [613]. Селективность по отношению к ионам обеспечивается в канале специальной зоной — фильтром, где имеет место сильное электростатическое взаимодействие иона с заряженными группами стенок канала. В формировании селективного фильтра каналов принимают важное участие, по-видимому,  $COO^-$  и  $NH_2$ -группы белков [40, 95].

Изучение ионных каналов в настоящее время проводят с помощью методов пэтч-клямп, реконструкции каналов и ингибиторного анализа [20, 83, 110, 144, 192, 418, 420, 421, 613, 655]. Показано, что ионные каналы клеточных мембран отличаются большим разнообразием. Это связано, с одной стороны, с их специфичностью по отношению к тому или иному иону. В частности, в плазмалемме растительных клеток

ты  $E_m^r$  в целом. Однако это характерно, по-видимому, только для клеток активно фотосинтезирующих тканей.  $E_m^r$  клеток листовых тканей иного функционального назначения, например эпидермиса средней жилки или замыкающих клеток устьиц, под влиянием освещения изменяются весьма слабо [64, 349].

Быстро формирующаяся под влиянием освещения фотоиндуцированная "надстройка"  $E_m^r$  предполагает связь электрогенеза зеленых клеток высших растений с протеканием фотосинтеза. Это убедительно подтверждают результаты ингибиторного анализа. Такие агенты, как, например, диурон, блокирующий ЭТЦ фотосинтеза в области фотосистемы II, или тентоксин, ингибирующий фотофосфорилирование, вызывают снижение  $E_m^r$  до темнового уровня [170, 361, 362, 567].

В качестве источников энергии для генерации фотоиндуцированного  $E_p$  могут выступать при этом, вероятно, как АТФ, так и восстановленные пиридиннуклеотиды [170, 673].

Энергия, запасенная в метаболитах темновой стадии фотосинтеза, может быть использована для работы АТФ-зависимых электрогенных насосов не только в зеленых клетках, но и, по-видимому, благодаря дальнему транспорту ассимилятов в клетках нефотосинтезирующих тканей. Трансформация энергии ассимилятов в универсальную конвертируемую форму, т.е. в АТФ, осуществляется при этом, очевидно, благодаря подключению клеточного дыхания. Показано, в частности, что освещение в течение 3 ч листьев выращенных в темноте проростков ячменя приводит к росту содержания АТФ в корнях от  $60,1 \pm 1,1$  до  $77,5 \pm 4,8$  нмоль  $\cdot$  г $^{-1}$  сырой массы и увеличению  $E_m^r$  клеток

от  $-123 \pm 1$  до  $-147 \pm 1$  мВ при  $E_p$ , равном примерно  $-70 + 80$  мВ [593]. Это увеличение  $E_m^r$  вносит вклад в темновую  $E_p$ .

#### 4. ПРИРОДА ПАССИВНОЙ СОСТАВЛЯЮЩЕЙ ПОТЕНЦИАЛА ПОКОЯ

Пассивная компонента  $E_m^r$  клеток высших растений, так же как и клеток животных объектов, имеет диффузионное происхождение и возникает при участии главным образом ионов  $K^+$ ,  $Na^+$  и  $Cl^-$ , что свидетельствует об их универсальной физиологической значимости. Не останавливаясь подробно на общих сведениях о механизме генерации диффузионного потенциала на мембране, которые можно найти в любом современном учебном пособии по физиологии или биофизике, рассмотрим основные свидетельства роли указанных выше ионов в возникновении  $E_p$  у высших растений, включая полученные к настоящему времени данные о системах пассивного транспорта через мембрану.

## Механизм пассивной проницаемости мембран для ионов

Пассивный транспорт ионов через клеточные мембраны направлен в сторону уменьшения электрохимического потенциала этих ионов и, по существующим представлениям, осуществляется в основном через поры в липидном матриксе при участии переносчиков или с помощью каналов [28, 95, 231].

Поры, по-видимому, представляют собой сквозные липопротеиновые "окошечки" в мембране, диаметр которых может быть сравнительно велик, до 2 нм [95]. Ионы проходят через поры, будучи растворенными в воде. Помимо ионов по гидрофильным порам свободно диффундируют такие низкомолекулярные соединения, как мочевины, этанол, этиленгликоль и др.

Пассивный транспорт ионов при участии переносчиков имеет ряд черт, отличающих его от свободной диффузии через поры. В их число входят специфичность, связанная со способностью переносчиков различать транспортируемые ионы, и наличие эффекта насыщения субстратом, когда скорость транспорта ионов увеличивается с ростом их концентрации лишь до некоторой предельной величины.

Результаты исследований дают основания считать, что у высших растений при участии переносчиков осуществляются процессы  $K^+/H^+$ -,  $Na^+/H^+$ -,  $Ca^{2+}/nH^+$ -антипорта и  $H^+/Cl^-$ -симпорта на плазматической и вакуолярной мембранах [10, 318, 384, 397, 455, 497, 652]. Предпринимаются первые попытки по солюбилизации и реконструкции ионных переносчиков в липосомах. В частности, удалось реконструировать в активной форме вакуолярный  $H^+/Ca^{2+}$ -антипортер [620].

Каналы, судя по всему, являются наиболее совершенными структурными образованиями клеточных мембран, предназначенными для осуществления пассивного транспорта ионов [614, 655]. Они сформированы пронизывающими мембрану белковыми макромолекулами и осуществляют селективный транспорт тех или иных ионов. Скорость селективного транспорта ионов по каналам, находящимся в открытом состоянии, очень высока —  $10^8 \text{ с}^{-1}$ , что на 3—4 порядка превышает, например, скорость ионного транспорта с участием переносчиков [613]. Селективность по отношению к ионам обеспечивается в канале специальной зоной — фильтром, где имеет место сильное электростатическое взаимодействие иона с заряженными группами стенок канала. В формировании селективного фильтра каналов принимают важное участие, по-видимому,  $COO^-$  и  $NH_2$ -группы белков [40, 95].

Изучение ионных каналов в настоящее время проводят с помощью методов пэтч-клямп, реконструкции каналов и ингибиторного анализа [20, 83, 110, 144, 192, 418, 420, 421, 613, 655]. Показано, что ионные каналы клеточных мембран отличаются большим разнообразием. Это связано, с одной стороны, с их специфичностью по отношению к тому или иному иону. В частности, в плазмалемме растительных клеток

показано наличие калиевых [4, 250, 308, 420, 433, 439, 522, 615, 619], кальциевых [22, 83, 84, 85, 495] и хлорных [22, 110, 420, 461, 495, 615] каналов. С другой стороны, каналы, специфичные к определенному иону, способны различаться между собой по ряду структурных и функциональных особенностей. Например, в обзоре [614], посвященном вопросу о многообразии ионных каналов, выделяются 7 подклассов  $K^+$ -каналов, 3 из которых найдены у растений. Это: 1)  $K^+$ -каналы, которые открываются вслед за деполяризацией и спонтанно не инактивируются; 2)  $K^+$ -каналы, открывающиеся с задержкой, но медленно инактивирующиеся, и 3)  $K^+$ -каналы, активируемые внутриклеточным  $Ca^{2+}$  и называемые  $Ca^{2+}$ -активируемыми  $K^+$ -каналами.

В число основных характеристических параметров ионных каналов входят их проводимость, плотность распределения на мембране и особенности активации.

По данным, полученным с помощью метода пэтч-клямп, проводимость одиночных  $K^+$ -селективных каналов плазмалеммы высших растений лежит в диапазоне от 3,3 до 40 пСм [439, 522, 615, 619], а плотность распределения составляет 1 канал на 15  $\mu\text{м}^2$  [619]. Аналогичные данные, полученные на протопластах харовых водорослей [4, 433], свидетельствуют о возможности еще более плотного распределения  $K^+$ -каналов на плазматической мембране растительного происхождения — 1 канал на 1—10  $\mu\text{м}^2$ .

Проводимость  $Cl^-$ -каналов плазмалеммы высших растений больше, чем проводимость  $K^+$ -каналов, и составляет, например, у ластовня [615] около 100 пСм. Сходную по величине проводимость (65 пСм) имеют  $Cl^-$ -каналы тилакоидных мембран пеперомии [618].

Активация ионных каналов нередко обнаруживает отчетливую потенциалзависимость. Эта особенность присуща многим идентифицированным в последнее время катион- и анионселективным каналам плазмалеммы, тонопласта, тилакоидов высших и низших растений [22, 418, 420, 421, 500, 613, 618, 655]. Характер потенциалзависимости ионных каналов весьма различен. В частности, как показано еще в 1981 г. в опытах на клетках нителлы [250],  $K^+$ -каналы плазмалеммы могут быть подразделены на активируемые деполяризацией (Д-каналы) и активируемые гиперполяризацией (Г-каналы). Сходный феномен в характере потенциалзависимости  $K^+$ -каналов плазмалеммы высших растений был продемонстрирован на примере моторных клеток самана [523]. Вероятность перехода в открытое состояние  $K^+$ -каналов этого объекта, активируемых гиперполяризацией, увеличивалась с изменением потенциала на мембране от  $-70$  до  $-180$  мВ. Напротив,  $K^+$ -каналы, активируемые деполяризацией, открывались с большей вероятностью при потенциалах, более положительных, чем  $-50$  мВ. Константа времени активации каналов обоих типов составляла несколько секунд, время жизни в открытом состоянии — несколько минут.

Потенциалзависимая активация  $Ca^{2+}$ -каналов плазмалеммы контролируется внутриклеточной концентрацией цАМФ [22, 84]. В свою очередь, ионы  $Ca^{2+}$ , находящиеся в цитоплазме и поступающие в нее

из внешней среды или вакуоли, являются наряду с потенциалом активаторами ионных каналов плазмалеммы и тонопласта [22, 419]. При этом зависимость активации каналов от концентрации ионов  $\text{Ca}^{2+}$  в цитоплазме и потенциала на мембране может проявляться одновременно. Например, в опытах Г.Н. Берестовского и соавторов [22] на харьковской водоросли нителлопсис показано, что на ранней стадии развития  $\text{Ca}^{2+}$ -индуцированного хлорного тока  $\text{Cl}^-$ -каналы обнаруживают и потенциалзависимость — активируются в ответ на деполяризацию.

Два типа  $\text{Ca}^{2+}$ -активируемых потенциалзависимых ионных каналов, опосредующих потоки катионов и анионов через тонопласт, были обнаружены Гедрихом и Неером [419]. Один тип каналов активировался повышением цитоплазматического  $\text{Ca}^{2+}$  (более 0,3 мкМ) при отрицательных и слабо положительных значениях потенциала на мембране. Кинетика активации каналов этого типа была медленной (каналы медленного вакуолярного типа). Другие каналы активировались снижением концентрации цитоплазматического  $\text{Ca}^{2+}$  (менее 0,3 мкМ) как при отрицательных, так и при положительных значениях потенциала и имели быструю кинетику активации (каналы быстрого вакуолярного типа).

Подводя итог изложенному выше о транспортных системах, обеспечивающих пассивный перенос ионов через клеточные мембраны, следует отметить их большое многообразие, связанное, в частности, с высоким уровнем дифференциации даже среди систем одного типа. На наш взгляд, благодаря этому обстоятельству пассивный транспорт ионов является в немалой степени гораздо более универсальным, чем транспорт активный, и менее зависит от условий, в которых он осуществляется.

## Роль $\text{K}^+$ в возникновении диффузионного потенциала

**Зависимость диффузионного потенциала от концентрации  $\text{K}^+$  в среде.** По-видимому, решающим показателем важности  $\text{K}^+$  в возникновении  $E_D$  клеток высших растений является наличие отчетливо выраженной  $\text{K}^+$ -зависимости  $E_m'$  в условиях, когда вклад  $E_p$  в  $E_m'$  пренебрежимо мал или отсутствует (например, вследствие внесения в омывающую клетки среду ингибиторов метаболизма) [243, 347, 348, 361, 464, 473, 542, 593, 664]. Эта зависимость близка к линейной в достаточно широком диапазоне концентраций  $\text{K}^+$  в среде (от ~ 3 до 100 мМ) и лишь при более низких концентрациях этого иона (менее 3 мМ) претерпевает заметные отклонения от линейного характера (рис. 6). Показательно также, что деполяризация клеточной мембраны при 10-кратном увеличении концентрации  $\text{K}^+$  как правило, значительна и варьирует в пределах от 30 до 55 мВ [243, 347, 348, 361, 425, 464, 473, 542, 593]. В последнем случае правомерно считать, что клеточная мембрана ведет себя как идеальный  $\text{K}^+$ -селективный электрод,

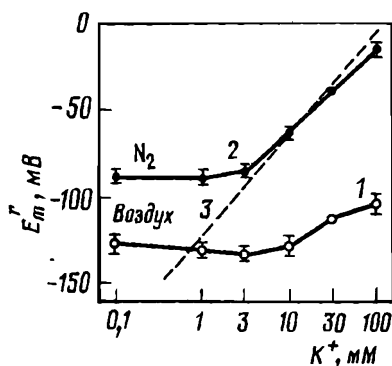


Рис. 6. Зависимость  $E_m^r$  (1) и  $E_D$  (2) клеток клубня картофеля от концентрации  $K^+$  во внешней среде [473]  
 $E_K$  (3) —  $K^+$ -равновесный потенциал, рассчитанный по уравнению Нернста для внутриклеточной концентрации  $K^+$ , равной 133 мМ

так как согласно уравнению Нернста при 25°

$$E_K = -58 \lg \frac{[K^+]^{in}}{[K^+]^{out}} = -58 \lg 10 = -58 \text{ мВ}, \quad (3)$$

где  $[K^+]^{in}$ ,  $[K^+]^{out}$  — соответственно концентрации  $K^+$  внутри и снаружи клетки.

Характер  $K^+$ -зависимости  $E_m^r$  в целом, включающего значительный  $E_p$ , может иметь как существенные отличия [427, 473] (рис. 6), так и заметное сходство с характером  $K^+$ -зависимости  $E_D$  [347, 348, 361, 664]. С учетом того, что зависимость  $E_p$  от концентрации  $K^+$  в омывающей среде, по-видимому, далека от линейной [347, 348, 664], причем в ряде случаев величина  $E_p$  с повышением концентрации  $K^+$  заметно возрастает [473], следует полагать, что  $K^+$ -зависимость  $E_D$  вносит существенный, но не всегда определяющий вклад в формирование  $K^+$ -зависимости  $E_m^r$ .

**Проницаемость плазмалеммы для  $K^+$ , роль  $Ca^{2+}$  в ее регуляции.** Наличие отчетливо выраженной зависимости  $E_D$  клеток высших растений от концентрации  $K^+$  в омывающей среде предполагает значительную проницаемость их плазматических мембран для этого иона. Действительно, сравнение величин относительных коэффициентов проницаемости плазмалеммы для ионов  $K^+$  ( $P_K$ ),  $Na^+$  ( $P_{Na}$ ) и  $Cl^-$  ( $P_{Cl}$ ), проведенное на клетках колеоптиля овса [575], показывает, что эта мембрана преимущественно проницаема для ионов  $K^+$ :

$$P_K : P_{Na} : P_{Cl} = 1,00 : 0,68 : 0,034.$$

У животных объектов, плазматическая мембрана которых также наиболее проницаема для ионов  $K^+$ , аналогичное соотношение, по данным для аксона кальмара [541], имеет вид

$$P_K : P_{Na} : P_{Cl} = 1,00 : 0,04 : 0,45.$$

$K^+$ -проницаемость плазмалеммы клеток высших растений зависит от многих факторов. В частности, существенным ее модулятором яв-

ляются ионы  $\text{Ca}^{2+}$ . Это не удивительно, учитывая способность  $\text{Ca}^{2+}$  выступать в роли стабилизатора мембранной структуры [112]. От присутствия ионов  $\text{Ca}^{2+}$  в среде зависят, в частности, величина заряда мембранной поверхности [401] и текучесть липидного матрикса мембран [341, 579].

Электрофизиологические исследования отчетливо показывают, что наличие  $\text{Ca}^{2+}$  в омывающей клетки среде заметно влияет на крутизну  $\text{K}^+$ -зависимости  $E_D$  или  $E'_m$ . Так, у клеток коры корней тыквы [343] в присутствии 0,1 мМ  $\text{Ca}^{2+}$  эта зависимость в диапазоне концентраций  $\text{K}^+$  от 1 до 100 мМ была весьма невелика — около 10 мВ на 10-кратное увеличение концентрации  $\text{K}^+$ . В бескальциевой среде клетки деполяризовались при аналогичном увеличении концентрации  $\text{K}^+$  на 52 мВ.

Сходные результаты получены в опытах на протопластах клеток гипокотилия вигны [542]. Было показано, что внесение 0,5 мМ  $\text{Ca}^{2+}$  в среду сопровождается деполяризацией мембраны и заметным снижением крутизны  $\text{K}^+$ -зависимости  $E_D$ .

Более выраженная  $\text{K}^+$ -зависимость  $E_D$  или  $E'_m$  в бескальциевой среде означает, что величина  $P_K$  в этих условиях выше, чем в среде, содержащей ионы  $\text{Ca}^{2+}$ . Это подтверждают результаты опытов на клетках корня кукурузы [664], выполненные в интервале концентраций  $\text{K}^+$  от 25 мкМ до 10 мМ. Величина  $P_K$  в бескальциевой среде была исходно заметно больше и изменялась от  $2,6 \cdot 10^{-7}$  до  $0,7 \cdot 10^{-7}$  см  $\cdot$  с $^{-1}$  в среде с 0,2 мМ  $\text{Ca}^{2+}$  — от  $1,3 \cdot 10^{-7}$  до  $0,6 \cdot 10^{-7}$  см  $\cdot$  с $^{-1}$ .

Наряду с анализом влияния  $\text{Ca}^{2+}$  на характер  $\text{K}^+$ -зависимости  $E'_m$  весьма интересен, на наш взгляд, анализ изменений  $E'_m$  клеток высшего растения в условиях варьирования концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  при постоянстве содержания  $\text{K}^+$ . В ходе такого анализа, выполненного на клетках coleoptилия кукурузы [531], было установлено наличие оптимума  $E'_m$ , соответствующего определенному соотношению  $\text{Ca}^{2+}/\text{K}^+$  в среде. Представляется вполне вероятным, что соответствие оптимума  $E'_m$  определенному соотношению  $\text{Ca}^{2+}/\text{K}^+$  имеет видоспецифический характер. Следует, однако, учитывать, что данный оптимум  $E'_m$  может иметь не столько пассивную, сколько активную природу и быть вызван влиянием  $\text{Ca}^{2+}$  на работу электрогенного насоса плазмалеммы [1].

Помимо  $\text{Ca}^{2+}$ , в число наиболее значительных модуляторов  $\text{K}^+$ -проницаемости плазмалеммы клеток растений входит температура. Исследования, выполненные, к сожалению, лишь на водорослях [432, 435], показали, что проницаемость мембраны для  $\text{K}^+$  с понижением температуры в пределах интервала 25—2° существенно падает. При этом если энергия активации процесса проникновения  $\text{K}^+$  через плазмалемму морской красной водоросли гриффитии [435] не претер-

певают резких изменений во всем исследованном диапазоне температур, то у пресноводной зеленой водоросли хары на кривых Аррениуса для  $P_K$  [435] и проводимости  $K^+$ -каналов [432] имеет место перегиб в области  $13-15^\circ$ . Энергия активации транспорта  $K^+$  через каналы при температуре перегиба изменяется от  $36 \pm 1$  кДж · моль<sup>-1</sup> (выше температуры перегиба) до  $50 \pm 2$  кДж · моль<sup>-1</sup> (ниже температуры перегиба) [432]. Причиной этого феномена может быть термотропная структурная перестройка в плазмалемме, охватывающая своим влиянием ионные каналы (см. раздел 7).

**Внутриклеточная активность  $K^+$ .** Для описания роли  $K^+$  равно как и других ионов, в возникновении  $E_D$  необходимы сведения не только о составе омывающей клетку среды, но и внутриклеточных эффективных концентрациях этих ионов. Измерение внутриклеточной активности ионов у высших растений осуществляют обычно с помощью ионселективных электродов [43, 112, 130, 180], а также методами пламенной фотометрии [180] и радиометрии (с помощью радиоактивных изотопов) [112].

К настоящему времени данные о внутриклеточном содержании  $K^+$  получены для значительного числа высших растений [36, 37, 89, 97, 142, 160, 284, 373, 426, 464]. Эти данные позволяют заключить, что величина внутриклеточной активности  $K^+$  ( $a_K$ ) составляет у них в среднем около 100 мМ и является весьма лабильной, обнаруживая зависимость от возраста клеток, их функционального назначения, состояния и т.д.

Например, показано, что  $a_K$  цитоплазмы корневых волосков триanei в ходе роста последних увеличивается от  $97 \pm 8$  до  $133 \pm 7$  мМ [36, 160]. При этом имеет место корреляция ( $r = 0,95$ ) между конечной длиной клетки и  $a_K$  в ней на стадии интенсивного роста волосков.

Возрастные изменения содержания  $K^+$  в тканях корня высшего растения отмечены также в опытах с проростками кукурузы [97]. Внутритканевая концентрация  $K^+$  у 2—4-дневных проростков резко снижалась до уровня 35—40 мМ, после чего начинала проявляться тенденция к некоторому ее повышению. Поскольку на 4—5-й день развития проростков выход  $K^+$  из корней сменяется его поглощением, можно предположить, что достижение уровня 35—40 мМ  $K^+$  в тканях корня, вероятно, является пусковым сигналом для включения системы поглощения  $K^+$  [97].

Убедительные свидетельства связи величины  $a_K$  с функциональным состоянием клеток получены при электрофизиологическом исследовании устьичного комплекса традесканции [373]. Показано, что  $a_K$  замыкающих клеток при полном закрывании устьиц составляет 88 мМ, при открывании — 247 мМ.

Изменение содержания  $K^+$  в растительных клетках отмечается также при различных эндогенных и экзогенных воздействиях [2, 159, 284], модифицирующих функциональное состояние клеток. При этом процент гибели клеток (на примере семядолей огурца) в ответ на потенциально летальное повреждающее воздействие прямо коррели-

рует с содержанием в них  $K^+$  [158, 159]. С учетом высокой физиологической значимости  $K^+$  эти данные позволяют считать, что изменения внутриклеточной  $a_K$  при различного рода воздействиях имеют приспособительный или регуляторный характер.

Знание внутриклеточной  $a_K$  и содержания  $K^+$  снаружи клеток дает возможность с помощью уравнения Нернста судить о  $E_D$  по величине  $K^+$ -равновесного потенциала. Однако такой весьма упрощенный подход, основанный на феномене преимущественной проницаемости клеточной мембраны для  $K^+$ , нередко оказывается неудовлетворительным. Об этом свидетельствуют, в частности, расхождения в характере  $K^+$ -зависимости  $E_K$  и реального  $E_D$ , измеренного в клетке высшего растения в условиях аноксии, которые имеют место главным образом при низких концентрациях  $K^+$  во внеклеточной среде (см. рис. 6). Более полно  $E_D$  клетки высшего растения может быть описан с учетом вклада в его формирование других ионов, прежде всего  $Na^+$  и  $Cl^-$  [112, 427].

### Уравнение Гольдмана. Роль $Na^+$ и $Cl^-$ в возникновении диффузионного потенциала

Расчет  $E_D$  растительных клеток осуществляют по уравнению Гольдмана—Ходжкина—Катца, известному так же как уравнение Гольдмана для потенциала. Обычно это уравнение представляют следующим образом:

$$E_D = \frac{RT}{F} \ln \frac{P_K [K^+]^{out} + P_{Na} [Na^+]^{out} + P_{Cl} [Cl^-]^{in}}{P_K [K^+]^{in} + P_{Na} [Na^+]^{in} + P_{Cl} [Cl^-]^{out}}, \quad (4)$$

где  $P_K, P_{Na}, P_{Cl}$  — коэффициенты проницаемости для соответствующих ионов;  $[K^+]^{out}, [Na^+]^{out}$  и  $[Cl^-]^{out}$  — концентрации этих ионов с наружной стороны;  $[K^+]^{in}, [Na^+]^{in}$  и  $[Cl^-]^{in}$  — концентрации ионов внутри клеток.

Уравнение показывает, что диффузионная компонента  $E_{\text{м}}$  определяется распределением этих ионов во внутренней и внешней средах и зависит от их коэффициентов проницаемости.

В величину  $E_D$  могут вносить заметный вклад и другие ионы. В более общем виде для одновалентных катионов ( $j^+$ ) и анионов ( $j^-$ ) уравнение Гольдмана имеет следующий вид:

$$E_D = \frac{RT}{F} \ln \frac{\sum P_j [j^+]^{out} + \sum P_j [j^-]^{in}}{\sum P_j [j^+]^{in} + \sum P_j [j^-]^{out}}. \quad (5)$$

При необходимости в уравнение Гольдмана могут быть введены еще дополнительные члены на случай, когда в средах присутствуют в значительных количествах двухвалентные ионы, например  $Ca^{2+}$ ,  $SO_4^{2-}$  и т.п. [136]. Однако в биологической литературе, в частности в

работах по биоэлектrogenезу и ионному транспорту у растений  $E_D$  рассчитывают, как правило, по уравнению 4 [306]. Вместо абсолютных величин коэффициентов проницаемости  $P_j$  часто подставляют относительные коэффициенты проницаемости  $P_j/P_K$ :

$$E_D = \frac{RT}{F} \ln \frac{[K^+]^{\text{out}} + P_{Na}/P_K [Na^+]^{\text{out}} + P_{Cl}/P_K [Cl^-]^{\text{in}}}{[K^+]^{\text{in}} + P_{Na}/P_K [Na^+]^{\text{in}} + P_{Cl}/P_K [Cl^-]^{\text{out}}}, \quad (6)$$

Из уравнения 6 хорошо видно, что в случае, если  $P_K \gg P_i$ ,  $E_D$  действительно определяется только распределением  $K^+$  по обе стороны мембраны в соответствии с уравнением Нернста (3) для  $K^+$ .

Уравнение Гольдмана именуют также уравнением постоянного поля. Гольдман ввел "приближение постоянного поля" для того, чтобы рассчитать величину мембранного потенциала с учетом основных ионных потоков, текущих через мембрану. Оно заключается в том, что градиент изменения электрического потенциала в мембране линеен (мембрана гомогенна). Ходжкин и Катц, сделав затем дополнительное допущение о пропорциональности концентрации ионов в мембране концентрации этих ионов в средах, получили так называемое уравнение постоянного поля Гольдмана—Ходжкина—Катца для плотности потока ионов сорта  $j$  (или просто уравнение Гольдмана для потока) в его окончательном виде:

$$I_i = \frac{z_j F E_m P_j}{RT} \frac{[j]^{\text{in}} - [j]^{\text{out}} \exp(-z_j F E_m / RT)}{1 - \exp(-z_j F E_m / RT)}. \quad (7)$$

Это уравнение можно умножить на  $z_j F$ , получив уравнение Гольдмана для тока:

$$J_j = \frac{z_j^2 F^2 E_m P_j}{RT} \frac{[j]^{\text{in}} - [j]^{\text{out}} \exp(-z_j F E_m / RT)}{1 - \exp(-z_j F E_m / RT)}. \quad (8)$$

В стационарных условиях, когда суммарный ионный ток  $J$  равен нулю ( $J = \sum J_j = 0$  или  $J = J_K + J_{Na} + J_{Cl} = 0$ ), и при еще одном допущении теории постоянного поля, что ионы движутся через мембрану независимо, не взаимодействуя между собой, уравнение 8 дает выражение для нахождения  $E_D$  (4 и 5).

Кроме теории постоянного поля для описания трансмембранных ионных потоков (токов) параллельно используется и другой подход, основанный на эквивалентной электрической схеме клеточной мембраны (см. разделы 5 и 14). В уравнениях эквивалентных схем используется понятие проводимости мембраны  $g_m$ . Это величина, обратная удельному мембранному сопротивлению и равная сумме проводимостей мембраны для отдельных ионов ( $g_m = \sum g_j$ ). В связи с этим важно отметить, что, хотя ионная проводимость  $g_j$  тесно сопряжена с ионной проницаемостью  $P_j$ , так как изменения проницаемости

всегда сопровождаются изменением проводимости, тем не менее эти два понятия следует отличать друг от друга. Важным свойством коэффициента проницаемости  $P_j$  является его независимость от концентрации  $j$  во внешней и внутренней средах. Величина  $P_j$  прямо пропорциональна подвижности иона в мембране  $u_j$ , его коэффициенту распределения  $\gamma_j$  в мембране и обратно пропорциональна толщине мембраны  $x$  ( $P_j = u_j \gamma_j RT/x$ ), т.е.  $P_j$  объективно характеризует свойства самой мембраны по отношению к данному иону. В то же время ионная проводимость  $g_j$ , являющаяся коэффициентом пропорциональности между изменениями тока и мембранного потенциала ( $g_j = dJ_j/dE_m$ ), как и сам ток  $J_j$ , зависит от концентрации  $j$  в среде по обе стороны мембраны. Считается, что уравнения постоянного поля более корректны, а уравнения эквивалентных схем — наглядны и удобны для применения [485].

Рассчитанные по уравнению Гольдмана для потока коэффициенты проницаемости  $K^+$  для мембран любых растительных клеток варьируют обычно от  $10^{-8}$  до  $10^{-6}$  см · с $^{-1}$  [231]. Это справедливо, по-видимому, и для высших растений. Так, плазматические мембраны клеток корней овса имеют  $P_K$  в пределах от  $0,8 \cdot 10^{-8}$  до  $22,0 \cdot 10^{-8}$  см · с $^{-1}$  [654]. В нашей лаборатории также было показано, что  $P_K$ , рассчитанный по выходу из цитоплазмы изолированных проводящих пучков стебля тыквы  $^{86}\text{Rb}^+$  (аналог  $K^+$ ), составляет примерно  $2 \cdot 10^{-7} \div 7 \cdot 10^{-7}$  см · с $^{-1}$  [194]. Есть основания считать, что величина  $P_K$  действительно наибольшая из всех  $P_j$ , определяемых в клетках высших растений, и, следовательно, дает наибольший вклад в величину  $E_D$ .

По данным Хигинботема и соавторов [427], натриевая проницаемость для клеток высших растений близка к калиевой:  $P_{Na}/P_K = 0,68$ . Согласно другим исследователям [312], клетки высших растений могут иметь довольно низкую натриевую проницаемость:  $P_{Na}/P_K = 0,06$ . Реальный вклад  $\text{Na}^+$  в генерацию  $E_D$  в любом случае невелик. Это связано с тем, что  $K^+$ - $\text{Na}^+$ -асимметрия, характерная для животных, в клетках наземных и пресноводных растений отсутствует. Хотя  $\text{Na}^+$  мало в цитоплазме, но в вакуоли он накапливается весьма эффективно, так же как и  $K^+$  [44]. Распределение  $[\text{Na}^+]^{\text{out}}/[\text{Na}^+]^{\text{in}}$  примерно соответствует соотношению  $[\text{K}^+]^{\text{out}}/[\text{K}^+]^{\text{in}}$ . Концентрация  $\text{Na}^+$  в симпласте и апопласте клеток высших растений обычно значительно меньше, чем  $K^+$  (см., например, табл. 7).

Заметную роль в генерации  $E_D$ , по-видимому, играют анионы  $\text{Cl}^-$ . Это обусловлено тем, что внутриклеточная концентрация  $[\text{Cl}^-]^{\text{in}}$  в тканях высших растений весьма высока —  $10 \div 100$  мМ [510], а также тем, что коэффициент хлорной проницаемости  $P_{\text{Cl}}$  может составлять достаточно значимую величину. Вместе с тем  $P_{\text{Cl}}$  у высших растений, как правило, все же заметно меньше, чем  $P_K$ . Например, в нашей лаборатории в экспериментах по одновременному измерению выхода  $^{86}\text{Rb}^+$  (как аналога  $K^+$ ) и  $^{36}\text{Cl}^-$  из цитоплазмы изолированных проводящих пучков тыквы [194, 222, 224, 549] было показано, что в стационарных

условиях относительная проницаемость  $P_{Cl}/P_{K(Rb)}$  клеток проводящих тканей составляет  $\sim 0,07$ . Близкие по порядку величин относительные коэффициенты хлорной проницаемости плазмалеммы и тонопласта высших растений отмечаются и в других исследованиях [122, 427, 654]. Сравнительно низкая хлорная проницаемость обеспечивает эффективность работы активных транспортных систем, закачивающих  $Cl^-$  против крутого градиента электрохимического потенциала в покое (см. табл. 7). Эта особенность может быть использована растительной клеткой при различных переходных процессах. Если  $P_{Cl}$  в силу каких-либо причин увеличивается, то это вызовет увеличение выходящего потока  $I_{Cl}$ , снижение  $E_D$  в соответствии с уравнением 4, выход значительных количеств  $K^+$  из клеток, а также падение осмотического и тургорного давления. В той или иной степени все эти явления действительно имеют место при работе устьичного аппарата, при различных настических движениях и, наконец, при генерации ПД в возбудимых клетках высших растений (см. раздел 14). Очевидно, это соответствует той важной "биофизической" роли  $Cl^-$  у высших растений как наиболее эффективного противоиона  $K^+$ , которую ему в последнее десятилетие начинают уделять [45, 173, 352].

## 5. ПРИРОДА МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ СОСТАВЛЯЮЩЕЙ ПОТЕНЦИАЛА ПОКОЯ. ЭЛЕКТРОГЕННЫЕ НАСОСЫ

**$H^+$ -АТФаза плазмалеммы и ее участие в генерации метаболической составляющей мембранного потенциала**

$H^+$ -АТФаза является одной из наиболее мощных электрогенных систем плазмалеммы клеток высших растений. Ее исследованию посвящено большое количество работ, что неудивительно, поскольку она играет ключевую роль во многих функциях растительной клетки. В настоящее время основательно изучены свойства  $H^+$ -АТФазы плазмалеммы растений: принадлежность к  $E_1E_2$  типу; зависимость от pH среды (оптимум pH 6,0—6,5); влияние на активность фосфорилирования—дефосфорилирования фермента; чувствительность к ионам, ингибиторам, ионофорам, фитогормонам, липидному окружению и т.д. Интенсивно ведется изучение ее молекулярного строения: субъединичного состава (основная каталитическая субъединица 100—105 кД), строения каталитического центра, олигомерного строения и др. Все это обстоятельно изложено в соответствующих обзорах [45, 196, 202, 507, 624, 652].

Значительно меньше исследованы механизмы работы  $H^+$ -АТФазы плазмалеммы растений и ее функциональная роль, в частности, участие в генерации потенциала на этой мембранной системе.

**АТФ-зависимая генерация градиента электрического потенциала в везикулах плазмалеммы и липосомах.** Известны два вида  $H^+$ -АТФазы по отношению к электрогенезу [285]. Первый вид

фермента работает в электронейтральном режиме за счет антипортного переноса протона и какого-либо другого катиона (например,  $K^+$ ). Он встречается в животных тканях, в частности в слизистой желудка [607]. Другой вид фермента функционирует в электрогенном режиме. К такому виду, по имеющимся данным, следует отнести  $H^+$ -АТФазу плазмалеммы высших растений, хотя не исключено, что так же, как и  $Na^+$ ,  $K^+$ -АТФаза животных, она может менять режим работы вплоть до электронейтрального. Этот вопрос, однако, до сих пор остается дискуссионным, поскольку неясно, является ли транспорт протона  $H^+$ -АТФазой плазмалеммы клеток растений унипортным, или же, как предполагают некоторые исследователи [45], он может быть в той или иной степени сцеплен с противотранспортом  $K^+$ . По нашим данным [100, 544], при функционировании  $H^+$ -АТФазы плазмалеммы стехиометрия  $H^+/K^+$  обмена равна 2, т.е. 2 протона обмениваются на 1  $K^+$ . При этом, по-видимому, значительная часть транспорта  $K^+$  не включена непосредственно в цикл работы фермента, а осуществляется по каналам и идет в соответствии с  $E_m$ , генерируемым  $H^+$ -АТФазой. В пользу такой возможности свидетельствуют результаты опытов по блокированию сопряженного транспорта  $K^+$  блокатором калиевых каналов ТЗА.

Для установления электрогенных свойств  $H^+$ -АТФазы плазмалеммы растений наибольшее значение имеют эксперименты, выполненные на везикулах или липосомах, в которые встроен этот фермент. Если в целой клетке электрогенность  $H^+$ -АТФазы может маскироваться рядом процессов, протекающих на поверхностной мембране (работа других электрогенных систем, осуществление компенсаторного транспорта ионов, вторичный активный транспорт и др.), а ингибиторы или активаторы данного фермента могут не проявлять в полной мере своего действия, то в модельных экспериментах имеются значительно более простые и регулируемые условия.

Одним из первых исследований, в которых была продемонстрирована АТФ-зависимая генерация мембранного потенциала на везикулах плазмалеммы клеток высших растений, была работа, выполненная в нашей лаборатории [105, 106]. С использованием флуоресцентных зондов в ней четко показана АТФ-зависимая генерация мембранного потенциала со знаком "плюс" внутри везикул плазмалеммы клеток флоры борщевика. Важно, что этот результат был получен с помощью "двойного контроля", а именно при применении как положительно (аурамин 00), так и отрицательно (АНС) заряженного флуоресцентного зонда. Генерация потенциала в везикулах резко подавлялась в присутствии ингибитора  $H^+$ -АТФазы ДЦКД и протонифора КЦХФГ, что указывало на ее связь с работой этой ферментной системы. Знак "плюс" внутри везикул свидетельствовал об их вывернутости, и этот тест на ориентацию везикул является в настоящее время весьма распространенным.

АТФ-зависимая генерация  $E_m$  в везикулах плазмалеммы клеток различных органов растений показана и в работах других авторов [51, 198, 399, 653]. Следует, однако, отметить, что проводя эксперименты с

везикулами, исследователи нередко ограничиваются измерением транспорта протона, не акцентируя внимание на изменении потенциала. Это не дает возможности судить об электрогенности  $H^+$ -АТФазы.

Для оценки величины  $E_m$ , генерируемого  $H^+$ -АТФазой в везикулах плазмалеммы высших растений, применяют обычно калибровку флуоресцентных ответов соответствующих зондов по индуцированному валиномицином  $K^+$ -диффузионному потенциалу. При работе с везикулами плазмалеммы флоры борщевика были получены значения в интервале от 10 до 60 мВ [105]. Сходные величины (30 ÷ 40 мВ) установлены для везикул плазматических мембран каллюса табака [653]. Сравнительно небольшие мембранные потенциалы, генерируемые в везикулах, могут быть обусловлены недостаточной замкнутостью последних, отсутствием других электрогенных систем, действующих в плазмалемме нативной клетки (например, ЭТЦ), потерей плазмалеммой при выделении некоторых свойств, существенных для электрогенеза. Тем не менее проведение изучения электрогенных свойств  $H^+$ -АТФазы на таком уровне предстает важным и требует дальнейшего совершенствования.

Безусловно, значительным достижением следует считать развертывание исследований данного вопроса на еще более простой модельной системе — протеолипосомах со встроенной  $H^+$ -АТФазой. Впервые такое встраивание осуществлено Вара и Серрано [623, 682]. Исследованиями этих, а также других авторов [460, 543] было показано, что даже в такой упрощенной системе  $H^+$ -АТФаза плазмалеммы проявляет основные свойства, характерные для нее в нативной мембране: ее активность подавляется ванадатом, ДЦКД, ДЭС, грамицидином S; имеет оптимум pH 6,5; стимулируется моновалентными катионами; ингибируется  $Ca^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ; на нее практически не действует убаин, олигомицин, азид. Но самое существенное состоит в том, что в протеолипосомах  $H^+$ -АТФаза сохраняет способность к АТФ-зависимому транспорту протона [460, 543, 623, 682]. При этом наряду с химической формируется и электрическая компонента  $\Delta\bar{\mu}H^+$  [637].

Таким образом, исследования, выполненные на везикулах плазматических мембран и липосомах, убеждают в том, что в формировании электрогенной компоненты  $E_m^r$  клеток высших растений существенная

роль принадлежит  $H^+$ -АТФазе. Однако, несмотря на большое удобство работы с этими системами, ситуация, существующая в них, значительно упрощена. Реальную оценку вклада  $H^+$ -АТФазы в формирование  $E_m^r$  необходимо исследовать с использованием также и интактных клеток.

**Влияние ингибиторов  $H^+$ -АТФазной активности и протонофоров на потенциал покоя интактных клеток.** Использование в опытах на интактных клетках физиологически активных соединений, ингибирующих  $H^+$ -АТФазу плазматических мембран высших растений *in vitro* (ДЦКД, ДЭС, ванадат и др.), в сочетании с соединениями, обладающими протонофорным действием (КЦХФГ, ДНФ и др.),

является эффективным методическим приемом установления причастности  $H^+$ -АТФазы плазмалеммы к формированию электрогенной компоненты  $E_m^r$  клеток высших растений *in vivo*.

Следует, однако, учитывать, что интерпретация влияния указанных выше соединений на  $E_m^r$  интактных клеток далеко не всегда представляется столь однозначной, как в опытах на мембранных везикулах. Например, ингибирующее влияние на  $E_m^r$  клеток со стороны ДЦКД и ДЭС может быть обусловлено не только подавлением активности  $H^+$ -АТФазы плазмалеммы, но и в определенной степени угнетением клеточного метаболизма в целом [348]. В свою очередь, протонофоры способны снижать электрогенную компоненту  $E_m^r$  как путем увеличения проводимости плазмалеммы для  $H^+$  (если  $E_p$  возникает при участии  $H^+$ -насоса), так и за счет уменьшения энергообеспечения насоса в результате угнетения окислительного фосфорилирования в митохондриях и фотофосфорилирования в хлоропластах [381].

Избежать нежелательной неопределенности в интерпретации результатов ингибиторного анализа природы электрогенной компоненты  $E_m^r$  интактных клеток высших растений в значительной мере позволяет: а) использование в опытах одновременно значительного числа различных ингибиторов  $H^+$ -АТФазы и других соединений, угнетающих  $E_p$ , с целью сравнительной оценки эффекта и выявления информации, касающейся непосредственно  $H^+$ -АТФазы [186, 215, 348, 361, 488]; б) выбор концентраций ингибиторов и протонофоров (обычно низких), оказывающих влияние на  $E_p$  преимущественно на стадии проникновения агентов через плазмалемму [186; 348, 381]; в) поиск новых соединений, специфически угнетающих  $H^+$ -АТФазу плазмалеммы [16, 354, 356].

Предварительную информацию о том, что возникновение  $E_p$  клетки высшего растения тесно связано с активным транспортом  $H^+$  через плазмалемму, может предоставить в опытах *in vivo* сравнение эффектов влияния на  $E_m^r$  протонофоров (чаще всего КЦХФГ) и таких ингибиторов клеточного метаболизма, как, например, азид, прямое действие которого на  $H^+$ -АТФазу плазмалеммы не обнаружено [507]. В результате проведенного сравнения нередко оказывается, что переход  $E_m^r$  на новый стационарный уровень в присутствии КЦХФГ совершается быстрее, чем в присутствии азиды или цианида (см. рис. 2) [186, 215, 381, 488]. При этом если скорость деполяризации под влиянием азиды или цианида коррелирует со скоростью снижения внутриклеточной концентрации АТФ этими агентами, то в случае КЦХФГ деполяризация заметно опережает снижение концентрации АТФ в клетке [381, 488]. Эти данные дают основания считать, что

КЦХФГ, по крайней мере на начальной стадии своего действия на клетку, снижает  $E'_m$  за счет увеличения протонной проводимости плазматической мембраны, и, следовательно, возникновение  $E_p$  тесно связано с электрогенным транспортом  $H^+$ , осуществляемым протонным насосом.

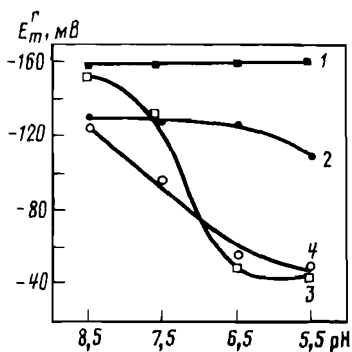
Предварительная информация об участии электрогенного  $H^+$ -насоса в формировании метаболической компоненты  $E'_m$  интактных клеток высших растений, полученная в описанных выше опытах, делает более обоснованным дальнейшее использование ингибиторов  $H^+$ -АТФазной активности плазмалеммы для выяснения того, представлен ли данный насос  $H^+$ -АТФазой.

Определенную проблему при этом составляет выбор рабочих концентраций ингибиторов  $H^+$ -АТФазы. Дело в том, что использование низких концентраций ингибиторов, позволяющих достаточно однозначно судить об их влиянии на  $E_p$  путем угнетения активности  $H^+$ -АТФазы [348], в опытах *in vivo* далеко не всегда оказывается эффективным. Снижение  $E_p$  в этих условиях обычно составляет менее 30% от исходного уровня, что дает возможность лишь тестировать участие  $H^+$ -АТФазы в работе протонного насоса [186]. Особенно неэффективен в опытах *in vivo*, судя по некоторым данным [186, 354, 672], ванадат, являющийся, по-видимому, наиболее специфическим ингибитором  $H^+$ -АТФазы плазмалеммы из числа известных на сегодняшний день [356, 507]. Это обстоятельство нередко заставляет исследователей идти на увеличение рабочих концентраций ингибиторов в ущерб избирательности их действия на  $H^+$ -АТФазу плазмалеммы. При использовании высоких концентраций ингибиторов  $H^+$ -АТФазы угнетение  $E_p$  достигает 50% и более. Поскольку такое значительное угнетение  $E_p$  оказывается сопоставимым по величине с угнетением  $E_p$  в присутствии, например, протонофора КЦХФГ [215], можно заключить, что  $H^+$ -АТФаза плазмалеммы, выступая в качестве электрогенного протонного насоса, вносит по меньшей мере определяющий вклад в формирование  $E_p$  интактных клеток высших растений.

**Зависимость электрогенного потенциала от рН.** Возникновение в ходе активного транспорта  $H^+$ , осуществляемого  $H^+$ -АТФазой плазмалеммы, значительной электрогенной составляющей  $E'_m$  клеток высших растений и ее поддержание на стационарном уровне (в неизменных условиях) предполагает наличие низкой пассивной проницаемости плазмалеммы для  $H^+$ .

Действительно, данные об отсутствии влияния или весьма слабом влиянии изменения рН внешней среды в интервале от 8,5 до 5,5 на  $E'_m$  клеток ряда высших растений однозначно подтверждают это [694]. Весьма показательно также, что при искусственном увеличении протонной проводимости плазматической мембраны путем внесения в среду протонофора клетки тех же растений приобретали способ-

Рис. 7. Влияние рН на  $E_m^r$  клеток колеоптилей пшеницы (1, 3) и овса (2, 4) до и после обработки протонофором диклофопом [694]. Диклофоп (100 мкМ) внесен в среду при рН 8,5. 1, 2 — контроль (до обработки); 3, 4 — опыт (после обработки)



ность реагировать изменением  $E_m^r$  на изменение рН среды (рис. 7). В этих условиях снижение величины рН от 8,5 до 5,5 приводило к сильной деполяризации, которая завершалась выходом  $E_m^r$  на уровень  $E_D$  при рН 5,5—6,0. Таким образом, очевидно, что изменение в зависимости от рН внешней среды претерпевал не  $E_m^r$  в целом, а его электрогенная компонента, имевшая протонную природу. При этом изменения  $E_r$  были обратимыми, поскольку последующее повышение рН вновь до 8,5 сопровождалось гиперполяризацией плазматической мембраны [694].

$E_r$  клеток высших растений, слабо зависящий от рН внешней среды, обнаруживает, напротив, отчетливо выраженную зависимость от рН цитоплазмы. Данных, свидетельствующих об этом, получено немало. Например, показано, что слабые кислоты (бутират и др.), а также при определенных условиях  $\text{CO}_2$ , действуя на клетки высших растений, вызывают быстрое подкисление цитоплазмы, активацию  $\text{H}^+$ -АТФазы плазмалеммы, усиление электрогенного выхода  $\text{H}^+$  и, как следствие, гиперполяризацию мембраны [15, 294, 383, 463, 593, 606]. С изменением рН цитоплазмы, может быть, в той или иной мере связано и влияние на  $E_r$  света, фитогормонов, ингибиторов метаболизма [335, 385, 386, 593, 673].

Отсюда возникает закономерный вопрос о том, чем регулируется *in vivo* величина электрогенной компоненты  $E_m^r$ , возникающей при участии  $\text{H}^+$ -насоса АТФазной природы: внутриклеточным АТФ, с уровнем содержания которого величина темнового  $E_r$  нередко коррелирует (см. раздел 3), и/или величиной рН цитоплазмы.

На этот вопрос в литературе нет однозначного ответа. Так, по мнению Уолкера и Смита [685],  $E_m^r$  растительной клетки является функцией как  $\Delta\text{pH}$ , так и концентрации АТФ в цитоплазме. В то же время другие авторы [15, 593, 594, 606] склонны считать, что  $E_m^r$  (точнее, его электрогенная компонента) регулируется прежде всего цитоплазматическим рН.

На наш взгляд, важность роли цитоплазматического рН в регуляции активности электрогенного  $H^+$ -насоса плазмалеммы (в частности,  $H^+$ -АТФазы) и как следствие величины электрогенной компоненты  $E_m^r$  клеток растений (причем регуляции оперативной, "тонкой") предствляется вполне очевидной. Тем не менее для окончательного вывода о справедливости той или иной точки зрения на данную проблему необходимы дальнейшие исследования.

## Редокс-цепь плазмалеммы и ее роль в электрогенезе клеток

Исследования природы электрогенеза и транспорта ионов в растительных клетках, бурно развивавшиеся в 1980-е годы, показывают, что на роль электрогенного протонного насоса плазмалеммы помимо  $H^+$ -АТФазы реально может претендовать редокс-цепь (или ЭТЦ) плазмалеммы. Гипотеза о том, что электрогенный транспорт  $H^+$  через плазмалемму клеток растений осуществляется при участии ЭТЦ, впервые была предложена В.А. Новаком и Н.Г. Иванкиной [171]. В рамках этой гипотезы предусматривалось, что исходным звеном редокс-цепи выступают восстановленные пиридиннуклеотиды, а конечным акцептором электронов, как и в случае ЭТЦ митохондрий, является  $O_2$ . В пользу правомерности предложенной гипотезы, по мнению авторов, в той или иной степени свидетельствовали данные о возможности участия восстановленных пиридиннуклеотидов в электрогенезе клеток растений, результаты гистохимического анализа локализации предполагаемых компонентов редокс-цепи в плазмалемме и т.д.

В дальнейшем исследования ЭТЦ плазмалеммы проводились по двум основным направлениям, которые условно можно подразделить на "структурное" и "функциональное".

Несомненным успехом "структурного" направления исследований можно считать то обстоятельство, что реальность присутствия компонентов редокс-цепи в плазмалемме клеток растений, в том числе высших, в настоящее время уже ни у кого не вызывает сомнений. Во фракциях плазматических мембран идентифицированы, в частности, такие составные элементы ЭТЦ, как флавины, цитохромы *b* и, вероятно, цитохромы *c* [131, 446, 585, 611]. Выделен белковый комплекс, обладающий НАДН-оксидазной активностью, который состоит из трех компонентов с молекулярной массой соответственно 36, 52 и 72 кД [321].

Успехи "функционального" направления исследований ЭТЦ также весьма существенны. Редокс-реакции обнаружены в плазмалемме как фотосинтезирующих, так и гетеротрофных клеток, причем у весьма значительного числа растительных объектов [172, 447]. При этом есть основания считать, что в плазмалемме даже одного и того же объекта может иметь место целый ряд отдельных редокс-активностей с различной специфичностью к пиридиннуклеотидам [496].

Что же касается участия ЭТЦ в работе электрогенного  $H^+$ -насоса плазмалеммы и формировании метаболической составляющей  $E_m^r$  клеток, то на этот счет у исследователей нет единого мнения.

Достаточно распространенной является точка зрения, согласно которой редокс-цепь плазмалеммы является альтернативной  $H^+$ -АТФазе электрогенной системой, осуществляющей активный транспорт  $H^+$  из клетки [93, 172, 234, 347, 417, 447, 490, 539]. Об этом свидетельствуют прежде всего результаты опытов, моделирующих работу редокс-цепи плазмалеммы *in vitro*. Показано, например, что добавление НАДН в среду вызывает у мембранных везикул клеток колеоптилей кукурузы генерацию  $E_m$  ("плюс" внутри везикул), сопоставимого по знаку и величине с АТФ-зависимым  $E_m$  на тех же везикулах [93]. Конечным акцептором электронов, переносимых редокс-цепью, при этом выступал, очевидно,  $O_2$ . На везикулах плазматических мембран корней хлопчатника [417] генерация  $E_m$  ("плюс" внутри везикул) происходила, когда донором электронов внутри везикул выступал аскорбат, а их акцептором снаружи везикул — феррицианид.

В опытах *in vivo* редокс-реакции плазмалеммы также нередко сопровождаются электрическими явлениями. В частности, внеклеточное окисление восстановленных пиридиннуклеотидов (НАДН, НАДФН) эндогенным акцептором электронов может приводить к увеличению  $E'_m$

протопластов и клеток высших растений [234, 490, 665]. Напротив, внеклеточное восстановление феррицианида вызывает быструю глубокую деполяризацию плазматической мембраны. При этом имеет место закисление внешней среды [172, 234, 347, 447, 482, 509, 539].

Если исходить из того, что ЭТЦ осуществляет электрогенный транспорт  $H^+$  из растительной клетки [171], деполяризация плазмалеммы в ходе феррицианидредуктазной реакции дает основания считать, что феррицианид, конкурентно перехватывая электроны у ЭТЦ, препятствует выполнению данной системой функции электрогенного протонного насоса. Действительно, поскольку восстановление феррицианида происходит внеклеточно, оно должно приводить к нарушению трансмембранного разделения  $\bar{e}$  и  $H^+$  [172, 447]. Следовательно, выход  $H^+$  из клетки будет сопровождаться лишь закислением внешней среды, а  $E'_m$  клетки в присутствии феррицианида уменьшится на

величину вклада ЭТЦ в его формирование.

В соответствии с таким подходом некоторые авторы считают, что вклад ЭТЦ плазмалеммы в формирование  $E'_m$  клеток растений может быть очень значительным и соответствовать даже  $E_p$  в целом. При этом речь идет как о темновом, так и о фотоиндуцированном  $E_p$  [172, 447, 539]. Последний в этой связи можно рассматривать как результат активации редокс-цепи плазмалеммы на свету [536, 539].

Однако представления о том, что изменения  $E'_m$  клеток высших растений в ходе феррицианид-редуктазной реакции эквивалентны потенциалу, генерируемому редокс-цепью, и могут достигать величины  $E_p$  в целом, находятся в сильном противоречии с рассмотренными выше данными о ведущей роли  $H^+$ -АТФазы в функционировании

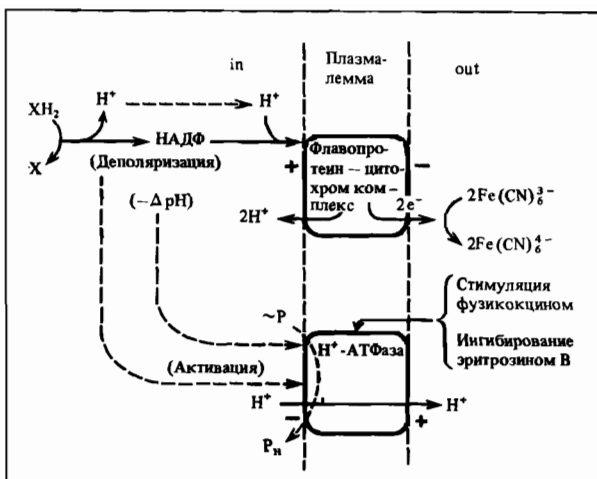


Рис. 8. Предполагаемая модель потоков  $e^-$  и  $H^+$ , связанных с восстановлением феррицианида, и взаимоотношений между редокс-цепью плазмалеммы и АТФ-зависимой секрцией  $H^+$  (несколько упрощенная схема [509])

электрогенного  $H^+$ -насоса плазмалеммы. В этой связи обращает на себя внимание предложенная недавно [509] иная интерпретация событий, протекающих на плазмалемме клеток в ходе внеклеточной феррицианид-редуктазной реакции. Предполагается, что восстановление феррицианида и наблюдаемое при этом подкисление среды обусловлены двумя различными механизмами: первичным транспортом только  $e^-$  к феррицианиду, приводящим к деполяризации мембраны (за счет увеличения концентрации  $H^+$  в цитоплазме), и последующим выходом  $H^+$ , осуществляемым  $H^+$ -АТФазой, активируемой внутриклеточным подкислением и деполяризацией (рис. 8.). Это подтверждают, в частности, результаты опытов с ингибитором  $H^+$ -АТФазной активности эритрозином В, который сильно угнетал вызываемое феррицианидом подкисление среды, но весьма слабо влиял непосредственно на процесс восстановления феррицианида [509].

Таким образом, альтернативная точка зрения на редокс-цепь плазмалеммы может состоять в том, что эта система не участвует в осуществлении электрогенного транспорта  $H^+$  через плазматическую мембрану клеток растений [482, 509]. Данная точка зрения, равно как и та, которая приписывает редокс-цепи ведущую роль в осуществлении электрогенного выхода  $H^+$  из клетки, представляется нам крайней. Решение вопроса о роли редокс-цепи плазмалеммы в электрогенезе клеток растений, в частности вышших, будет связано с дальнейшим изучением механизма ее функционирования и анализом взаимоотношений с  $H^+$ -АТФазой.

## Электрогенные свойства $H^+$ -АТФазы и пирогосфатазы тонопласта

Тонoplast вносит значительно меньший вклад в электрогенез клетки высшего растения, чем плазмалемма (см. раздел 2). Тем не менее его способность к генерации  $E_m$  по-видимому, весьма существенна для обмена веществами с вакуолью, изменения механических размеров последней и т.д.

Поскольку изучение электрогенных свойств тонoplastа в интактной клетке крайне затруднено, то основное внимание исследователей в последние годы было уделено работе с везикулами этой мембранной структуры. Удалось выявить две основные электрогенные системы тонoplastа:  $H^+$ -АТФазу и  $H^+$ -пирогосфатазу [592].

$H^+$ -АТФаза тонoplastа относится к новому, или, как его называют, третьему, типу  $H^+$ -АТФаз [503, 592]. Она отличается по своим свойствам от  $F_0F_1$  или  $E_1E_2H^+$ -АТФаз. Для нее характерно более щелочное значение оптимума pH, чем для  $H^+$ -АТФазы плазмалеммы, отсутствие фосфорилирования в цикле работы, нечувствительность к ванадату, стимуляция  $Cl^-$ , угнетение  $NO_3^-$ . В то же время, как и плазмалеммная  $H^+$ -АТФаза, она нечувствительна к олигомицину, убаину, азиду, ингибируется ДЦКД, ДЭС [476, 503, 592]. Хотя предложены конкретные модели ее строения [592], субъединичный состав данной ферментной системы пока четко не установлен и разные авторы приводят разные данные [320, 501, 590].

Электрогенность тонoplastной АТФазы показана весьма четко. При этом в подавляющем большинстве исследований генерируемый  $E_m$  имеет знак "плюс" внутри везикул [286, 303, 346, 456]. Это связано с тем, что при выделении везикул сохраняется ориентация мембраны, свойственная нативной клетке, т.е. везикулы обращены цитоплазматической стороной наружу [476]. Следует иметь в виду, что на результаты измерений  $E_m$  тонoplastа сильное влияние может оказать выбор метода. Так, по данным [400], при использовании для измерения  $E_m$  проникающих липофильных катионов ТФМФ $^+$ , ТФФ $^+$  регистрируется знак "минус" внутри тонoplastных везикул, хотя в тех же опытах измерения с помощью микроэлектродов дали значения со знаком "плюс". Авторы объясняют это явление электростатическим связыванием липофильных катионов с фиксированными отрицательными зарядами наружной и внутренней поверхности мембраны.

Существенно, что абсолютная величина  $E_m$  генерируемого в везикулах тонoplastа, как правило, невелика и варьирует в пределах  $5 + 20$  мВ [286, 346, 400, 452], хотя способность этой мембраны диссипировать протонный градиент в несколько раз меньше, чем у плазмалеммы [487]. Лишь по некоторым наблюдениям,  $E_m$  может достигать 100 мВ [303]. Трудно сказать, связано ли данное обстоятельство со свойствами выделенных везикул условиями наблюдения или отражает меньшую мощность протонных помп тонoplastа по сравнению с таковыми плазмалеммы.

В электрогенезе тонoplastа важное значение имеет разрядка

генерируемого  $E_m$  проникающими анионами, в особенности  $\text{Cl}^-$ . Последний, с одной стороны, как проникающий анион вызывает диссипацию  $E_m$ , что может оказывать стимулирующее действие на  $\text{H}^+$ -АТФазу тонопласта [302, 303, 333, 351]. С другой стороны,  $\text{Cl}^-$ , по-видимому, непосредственно действует на данный фермент, о чем, в частности, свидетельствует уменьшение под его влиянием  $K_m$  для АТФ [410]. Интересно, что это влияние  $\text{Cl}^-$  не связано с каталитическим центром. По мнению ряда авторов, прямое действие  $\text{Cl}^-$  на  $\text{H}^+$ -АТФазу тонопласта, которое проявляется и на ее солибилизированной форме [302], связано с наличием  $\text{Cl}^-$ -канала, являющегося интегральным компонентом данного фермента [302, 303]. Функционирование этого комплекса (фермент-канал) приводит к электро-нейтральному совместному транспорту  $\text{H}^+$  и  $\text{Cl}^-$ . Несомненно, что важную роль в электрогенных свойствах тонопласта играют также процессы совместного переноса  $\text{H}^+$  с другими веществами. Например,  $\text{H}^+$ -антипорт сахаров приводит к разрядке  $E_m$  и делает содержимое тонопластных везикул более отрицательным, а иногда вызывает и обращение полярности ("минус" внутри) [334, 474].

Что касается другой электрогенной системы тонопласта —  $\text{H}^+$ -пирофосфатазы, то она привлекла внимание исследователей, по-видимому, в связи с установлением важной роли пирофосфата в энергетике растительной клетки [310]. Ее относят к четвертому типу  $\text{H}^+$ -фосфогидролаз, встречающихся в мембранах растений [592]. Свойства этой мембранной системы исследованы на мембранных везикулах тонопласта, а также в солибализованном виде [344, 512, 591, 687]. Показано, что она имеет оптимум pH в щелочной среде (pH 7—8), стимулируется  $\text{K}^+$ , ингибируется  $\text{Na}^+$ , ДЭС, ДЦКД,  $\text{NaF}$ , МДФ, нечувствительна к ванадату, молибдату, олигомицину, азиду,  $\text{NO}_3^-$  и другим анионам, подавляется ионофорами — нигерицином, моненсином, валиномицином. По некоторым данным [512], ее молекулярная масса 64 кД, а  $K_m$  для  $\text{PP}_i$  составляет  $2,3 \cdot 10^{-4}$  М. Установлено, что  $\text{H}^+$ -пирофосфатаза, так же как и тонопластная  $\text{H}^+$ -АТФаза, может осуществлять транспорт  $\text{H}^+$  в вакуоль [343, 512], причем этот транспорт является электрогенным, т.е. сопровождается генерацией электрического потенциала со знаком "плюс" внутри [344, 456, 498, 687]. Таким образом,  $\text{H}^+$ -пирофосфатаза представляет собой второй весьма существенный источник ЭДС на тонопласте. Что касается ЭТЦ, то ее участие в электрогенезе вакуолярной мембраны клеток высших растений еще предстоит исследовать.

### **$\text{Ca}^{2+}$ -АТФаза плазмалеммы — электрогенный насос? Влияние $\text{Ca}^{2+}$ на электрогенную компоненту потенциала покоя**

Наличие специализированных  $\text{Ca}^{2+}$ -транспортирующих систем у растений показано в митохондриях, эндоплазматическом ретикулуме, плазмалемме и тонопласте [252, 369, 497, 504]. При их участии осуществляется строгий контроль за содержанием в цитоплазме

клеток  $\text{Ca}^{2+}$ , играющего, судя по всему, центральную роль в регуляции многих физиологических процессов.

На плазмалемме функцию систем, осуществляющих выведение  $\text{Ca}^{2+}$  из цитоплазмы во внешнюю среду, могут выполнять, по-видимому,  $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ -антипортер, использующий энергию создаваемого  $\text{H}^{+}$ -АТФазой  $\Delta\bar{\mu}\text{H}^{+}$ , и  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФаза [258, 588, 705]. Возникает закономерный вопрос, является ли  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФаза плазмалеммы электрогенной системой?

Исследования механизма поглощения  $\text{Ca}^{2+}$  изолированными везикулами плазмалеммы редиса [588] показали, что при участии  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФазы имеет место скорее всего не  $\text{Ca}^{2+}$ -унипорт, а  $\text{H}^{+}/\text{Ca}^{2+}$ -обмен, катализируемый данной системой. От соотношения обменивающихся  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{H}^{+}$  (т.е. величины коэффициента  $n$ ) зависит, будет ли этот процесс электронейтральным или электрогенным. Во всяком случае, тот факт, что поглощение  $\text{Ca}^{2+}$  везикулами сопровождалось увеличением их трансмембранного потенциала, свидетельствует, по-видимому, в пользу правомочности последнего варианта.

Таким образом,  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФаза наряду с  $\text{H}^{+}$ -АТФазой и редокс-цепью плазмалеммы, вероятно, может быть отнесена к числу систем, участвующих в формировании электрогенной компоненты  $E'_m$  клеток высших растений. Однако оценить предполагаемый вклад  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФазы в этот процесс пока не представляется возможным.

Следует отметить, что ионы  $\text{Ca}^{2+}$  могут участвовать в формировании метаболической компоненты  $E'_m$  клеток растений не только непосредственно (за счет работы  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФазы плазмалеммы), но и косвенно, оказывая регуляторное влияние на активность электрогенного  $\text{H}^{+}$ -насоса, представленного  $\text{H}^{+}$ -АТФазой. Медиатором регуляторного влияния  $\text{Ca}^{2+}$  выступает кальмодулин [369, 504]. Механизм действия комплекса  $\text{Ca}^{2+}$ —кальмодулин на  $\text{H}^{+}$ -АТФазу плазмалеммы, согласно проведенным исследованиям [704], выглядит следующим образом:  $\text{Ca}^{2+}$ —кальмодулин изменяет активность  $\text{Ca}^{2+}$ -зависимой, кальмодулин-стимулируемой протеинкиназы; последняя, в свою очередь, увеличивает уровень фосфорилирования белков плазматической мембраны, включая  $\text{H}^{+}$ -АТФазу; повышение уровня фосфорилирования сопровождается снижением активности  $\text{H}^{+}$ -АТФазы.

В соответствии с указанным механизмом увеличение концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  в цитоплазме должно вызывать угнетение активности  $\text{H}^{+}$ -АТФазы. Действительно, как показывают опыты на мембранных везикулах [355, 588], ионы  $\text{Ca}^{2+}$  в миллимолярных концентрациях являются сильным и даже весьма избирательным ингибитором  $\text{H}^{+}$ -АТФазы плазмалеммы.

Исходя из этого, можно ожидать, что ионы  $\text{Ca}^{2+}$  должны оказывать угнетающее действие на трансмембранный потенциал, создаваемый при участии  $\text{H}^{+}$ -АТФазы плазмалеммы в качестве электрогенного протонного насоса. В определенной мере такое предположение подтверждается данными о том, что антагонисты кальмодулина стимулируют секрецию  $\text{H}^{+}$  и вызывают гиперполяризацию клеток интактных растительных тканей [479]. В то же время, по другим данным [1], зависимость электрогенной компоненты  $E'_m$  клеток высшего растения

(трианеи) от концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  в среде (диапазон 0,6—2,5 мМ) имела достаточно сложный характер, с отчетливым максимумом при 1,5 мМ  $\text{Ca}^{2+}$ , свидетельствующим, по мнению авторов, о возможности активации ионами  $\text{Ca}^{2+}$  электрогенного  $\text{H}^+$ -насоса плазмалеммы. Есть также сведения о том, что  $\text{Ca}^{2+}$  активирует электрогенный протонный насос плазмалеммы у гриба нейроспоры [486].

Таким образом, очевидно, что величина  $E_p$ , возникающего у растений при решающем участии электрогенного  $\text{H}^+$ -насоса, обнаруживает сильную зависимость от  $\text{Ca}^{2+}$ . Однако характер этой зависимости, опосредованный регуляторным влиянием  $\text{Ca}^{2+}$  на работу насоса, представляется весьма неоднозначным.

## $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФаза плазмалеммы и другие возможные электрогенные системы

Если у большинства животных объектов  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФаза является основной электрогенной системой плазматических мембран, то ее значение в электрогенезе клеток высших растений остается до сих пор не вполне ясным. Сообщения о наличии  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФазы у высших растений появились в основном в начале 1970-х годов. Они касались как целых органов растений, так и мембранных препаратов, и основывались преимущественно на эффекте подавления АТФазной активности специфическим ингибитором  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФазы убаином [48, 58, 235, 480]. Однако позднее было показано, что эффект убаина наблюдался далеко не всегда [636]. Отсутствие эффекта убаина, с одной стороны, может быть связано с условиями проведения опытов (концентрацией ингибитора, содержанием ионов и др.). С другой стороны, оно, по-видимому, определяется свойствами самих растений.

Идея о разнокачественности различных видов в отношении проявления  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФазной активности неоднократно высказывалась в литературе. Так, по данным [528], если у  $\text{C}_4$ -растений обнаруживаются две изотермы этого фермента с оптимумами рН 7,5 при 35° и рН 8,5 при 30°, то у  $\text{C}_3$ -растений убаинчувствительная АТФазная активность не была найдена. Однако идея о различии проявления  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФазной активности у разных видов растений нашла более четкое и доказательное оформление после того, как в практику исследований была введена работа с препаратами изолированных плазматических мембран, позволяющими более строго контролировать условия экспериментов. Опыты, проведенные на этих препаратах, показали наличие убаинчувствительной АТФазы у ряда высших растений [107]. Однако, как оказалось, в основном  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФаза характерна для плазматических мембран галофитов, т.е. растений, устойчивых к засолению [162]. У растений с меньшей устойчивостью к этому фактору (факультативных галофитов) величина  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФазной активности значительно ниже. Наконец, у солеустойчивых растений (облигатных

гликофитов)  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФазная активность практически отсутствует [257]. Таким образом,  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФаза, по данным этих авторов, высокоактивна у тех растений, которым необходимо противостоять сильному засолению и производить удаление избыточного количества  $\text{Na}^+$  из клеток. Существенно, что указанные исследователи вполне строго подошли к установлению критериев  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФазной активности и использовали не только реакцию на убаин, но и оценку синергического действия  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$ .

Представление о зависимости величины  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФазной активности плазмалеммы клеток высших растений от степени их солеустойчивости представляется вполне оправданным. По-видимому, в обычных условиях растение вполне справляется с выводом излишнего  $\text{Na}^+$  из клетки с помощью  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -обменника, работающего за счет  $\Delta\bar{\mu}\text{H}^+$ , создаваемого  $\text{H}^+$ -АТФазой. И только в условиях повышенного засоления необходимо подключение самостоятельной системы, обеспечивающей вывод  $\text{Na}^+$  в обмен на  $\text{K}^+$ .

Тем не менее в литературе продолжают существовать крайние взгляды на распространение  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФазы у высших растений. Согласно одной точке зрения, эта ферментная система у них отсутствует [516], согласно другой — она имеется у всех растений, но у многих видов находится в латентном, скрытом состоянии [44, 174]. В пользу последней точки зрения отчасти свидетельствуют результаты исследований, проведенных как на растительных, так и на животных объектах, которые показывают, что в условиях возбуждения, когда происходят конформационные изменения поверхностных возбудимых мембран, проявляется дополнительная убаинчувствительная АТФазная активность. Возбуждение как бы "выявляет" латентную  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТфазу [148, 181].

Таким образом, ситуация с  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФазой высших растений все еще остается недостаточно определенной. Естественно, что в этих условиях сложно оценить возможный вклад данной ферментной системы в электрогенез растительной клетки. Трудность изучения этого вопроса состоит в том, что неизвестны особенности функционирования  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФазы растений, в частности стехиометрия переноса ионов  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$ , которая, как известно, у животных объектов может варьировать вплоть до электронейтрального режима [248, 345]. По имеющимся наблюдениям [96, 642],  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФаза плазмалеммы клеток высших растений является электрогенной системой и вносит вклад в генерацию  $E_m'$ . Однако, согласно другим данным, эта особенность не обнаруживается [128]. С учетом изложенных результатов такие расхождения вполне могут быть объяснены как условиями опытов, так и разными объектами.

Все сказанное позволяет заключить, что вопрос о вкладе в электрогенез клетки высшего растения  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФазы остается пока открытым.

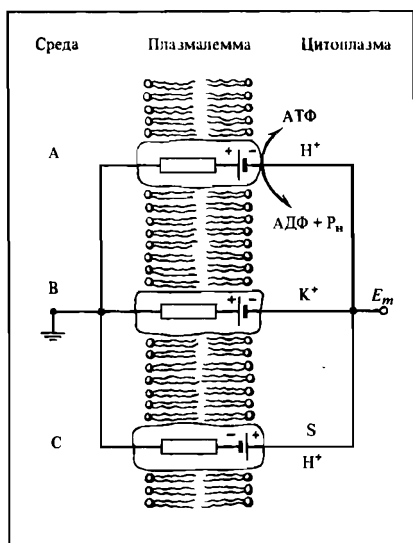


Рис. 9. Электрофизиологическая модель плазматической мембраны растений с тремя интегрированными в липидный бислой транспортными белками [306]

Белок: А —  $H^+$ -АТФаза; В —  $K^+$ -канал; С — переносчик, осуществляющий симпорт  $H^+$  с нейтральным субстратом S. Участие транспортной системы С в формировании  $E_m$  при упрощенных расчетах обычно не учитывается

Среди других возможных электрогенных систем растительной клетки определенное внимание привлекает так называемый хлорный насос, который связывают нередко со специальной АТФазной системой. Такая система по ряду признаков имеется у водоросли ацетабулярии [402]. Высказывались предположения о ее наличии у высших растений [291, 566]. Однако значение этой системы в электрогенезе последних остается неясным.

## Эквивалентная электрическая цепь плазмалеммы.

### Уравнение для потенциала покоя

Наиболее удовлетворительным электрическим аналогом плазматической мембраны растений является эквивалентная цепь, в которой элементы, соответствующие системам пассивного и активного мембранного транспорта, соединены параллельно [306, 347, 645, 646]. Один из возможных упрощенных вариантов такой цепи представлен на рис. 9.

В этой связи представляется важным оценить, как соотносятся между собой величины ЭДС каналов пассивной диффузии и электрогенного насоса, с одной стороны, и величины  $E_D$  и  $E_p$  — с другой. Анализ данного вопроса показывает, что если ЭДС каналов пассивной диффузии примерно эквивалентна величине  $E_D$ , рассчитанного по уравнению Гольдмана (4), то между ЭДС насоса и электрогенной компонентой  $E_m$ , т.е.  $E_p$ , аналогичного соответствия нет [525, 646].  $E_p$ , понимаемый как пропорциональный активности насоса потенциал, может быть описан с учетом параллельного соединения элементов

эквивалентной электрической цепи плазмалеммы уравнением вида

$$E_p = \frac{g_p}{g_p + g_D} (E'_p - E'_D), \quad (9)$$

где  $E'_p$ ,  $E'_D$  — ЭДС электрогенного насоса и каналов пассивной

диффузии соответственно;  $g_p$ ,  $g_D$  — проводимость насоса и каналов пассивной диффузии соответственно [306, 525, 646].

Отсюда с определенностью вытекает, что в соответствии с изложенными нами в разделе 3 представлениями о наличии в составе  $E'_m$  клеток высших растений двух основных составляющих — пассивной ( $E_D$ ) и активной ( $E_p$ ) вполне обоснованно рассматривать  $E'_m$  в виде алгебраической суммы указанных составляющих:

$$E'_m = E_D + E_p. \quad (10)$$

$E_D$  при этом может быть рассчитан по уравнению (4), а  $E_p$  — по уравнению (9). В случае, когда предполагаемых электрогенных насосов несколько,  $E_p$  имеет комплексную природу и, в свою очередь, состоит из ряда компонент. Например, в работе Чизмэна и соавторов [348]  $E_p$  рассматривается как сумма ДЦКД-чувствительной и ДЦКД-нечувствительной составляющих.

## 6. ФАКТОРЫ, МОДИФИЦИРУЮЩИЕ ЭЛЕКТРОГЕНЕЗ КЛЕТОК ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ В ПОКОЕ

Электрогенез клеток высших растений в покое весьма лабилен и чутко реагирует на действие факторов как экзогенного (температура, свет и др.), так и эндогенного (фитогормоны и др.) происхождения. Возникающие при этом изменения  $E'_m$  достаточно многообразны и могут рассматриваться как регуляторные и приспособительные реакции. Анализ их особенностей и природы составляет задачу настоящей главы.

### Температурный фактор

Температурный фактор занимает, очевидно, одно из ведущих мест среди многих других экзогенных факторов, оказывающих существенное модифицирующее влияние на жизнедеятельность высших растений. Это обусловлено тем, что растения относятся к числу организмов, собственная температура которых в подавляющем большинстве случаев определяется условиями внешней среды.

Формы воздействия температурного фактора на растения могут быть весьма различными. По-видимому, наиболее простой из них является достаточно резкое изменение температуры в сторону охлаждения или нагревания. Реакция  $E_m^r$  клеток высших растений на такое температурное воздействие, как правило, отчетливо выражена. Ее важной особенностью является то, что изменения  $E_m^r$  во времени развиваются фактически столь же быстро, как и изменения температуры, т.е. без заметного лаг-периода [468, 517, 533, 534]. Это с отчетливостью свидетельствует о том, что механизмы, формирующие клеточный электрогенез, отличаются значительной температурной чувствительностью и высокой функциональной подвижностью.

Ответная реакция  $E_m^r$  клеток высших растений на резкое воздействие температуры обнаруживает сильную зависимость от таких его параметров, как амплитуда, скорость и направление изменения (охлаждение или нагревание). В частности, амплитудой и скоростью температурного воздействия определяется величина реакции  $E_m^r$ : она тем больше, чем значительнее амплитуда и скорость стимула [468, 517, 533, 534]. Напротив, адаптивные изменения  $E_m^r$  в условиях резко измененной температуры среды, судя по процессу адаптивной реполяризации при охлаждении, развиваются сильнее там, где температурный перепад оказывается менее глубоким [468, 517, 534].

Направление резкого температурного воздействия влияет, по-видимому, на форму ответной реакции  $E_m^r$ . Так, по данным для клеток колеоптиля кукурузы [533, 534], изменение  $E_m^r$  при резком понижении температуры на  $16^\circ$  от исходной  $22^\circ$  не являлось зеркальным отражением реакции  $E_m^r$  на сопоставимое по величине быстрое нагревание. В случае охлаждения реакция имела характер ступенчатого перехода на новый, менее энергизованный уровень  $E_m^r$ , а в случае нагревания — характер двухфазного импульса длительностью около 10 мин с последующим выходом  $E_m^r$  на стационарный уровень, почти не отличавшийся по величине от исходного.

Временное положение минимума  $E_m^r$  клеток кукурузы в пределах двухфазной реакции на импульсообразное нагревание и скорость восстановления потенциала до стационарного уровня, при вари-

ровании исходной температуры опытов обнаруживали отчетливую зависимость от величины последней. Чем она была выше, тем быстрее развивались изменения  $E_m^r$  [533].

Таким образом, очевидно, что реакция  $E_m^r$  клеток высших растений на резкое изменение температуры сама по себе температурно-зависима. Это проявляется в том, что амплитуда, форма и временные особенности реакции, а также ее обратимость во многом определяются параметрами резкого температурного воздействия.

Анализ природы реакций  $E_m^r$  клеток высших растений на резкие температурные воздействия показывает, что эти реакции обусловлены прежде всего изменением величины  $E_p$ . Об этом свидетельствует, например, сходство эффектов влияния на  $E_m^r$  быстрого глубокого охлаждения и ингибиторов клеточного метаболизма [468, 534]. В то же время установлено, что электрические импульсы, возникавшие в клетках корня огурца [517] в качестве ответной реакции  $E_m^r$  на импульсообразное охлаждение, угнетались блокатором  $\text{Ca}^{2+}$ -каналов  $\text{LaCl}_3$ , а также удалением  $\text{Ca}^{2+}$  из омывающей клетки среды и, наоборот, стимулировались высокими концентрациями  $\text{Ca}^{2+}$  в среде. Это дает основания считать, что возникновение реакции  $E_m^r$  клеток высших растений в ответ на быстрое охлаждение может быть связано не только с модуляцией активности электрогенного насоса, но и с изменением пассивной проницаемости плазмалеммы прежде всего для  $\text{Ca}^{2+}$ .

Несмотря на то, что реакции  $E_m^r$  на резкие температурные воздействия обладают рядом рассмотренных выше особенностей, их информативность для понимания природы и характера температурной зависимости  $E_m^r$  в том или ином диапазоне явно недостаточна. Для этого необходим анализ температурных кривых  $E_D$  и  $E_p$ .

Поскольку возникновение  $E_D$  представляет собой типичный физический процесс, скорость которого мало зависит от температуры, априори можно ожидать, что температурная зависимость  $E_D$  должна быть сравнительно слабой. Действительно, коэффициент крутизны температурных кривых  $E_m^r$  клеток высших растений в условиях, когда  $E_m^r$  близок или равен  $E_D$ , очень невелик и составляет менее 2 мВ/град [211, 215, 514, 534]. При этом величина  $E_D$  с повышением температуры несколько возрастает, а с понижением — уменьшается.

Характер температурной зависимости  $E_D$  тесно связан с особенностями влияния температуры на пассивную проницаемость плазма-

тических мембран. К сожалению, комплексное исследование влияния температуры на  $E_D$ , сопротивление мембраны  $R_m$  и коэффициент проницаемости для ионов проведено к настоящему времени лишь на низших растениях и в основном для интервала  $25-2^\circ$  [212, 277]. Результаты такого исследования показывают, что энергия активации процесса диффузии ионов через плазматическую мембрану в пределах исследованного температурного диапазона остается неизменной далеко не всегда, что во многом опосредовано протеканием в мембране термотропных структурных перестроек. "Критическая" температура, при которой энергия активации диффузионного процесса резко изменяет свою величину, обычно совпадает с температурой перегиба на температурных кривых  $E_D$  и  $R_m$  [212, 277]. Следует в то же время заметить, что коэффициент крутизны температурной зависимости  $E_D$  в области перегиба изменяется обычно не очень существенно [278, 431, 435, 534].

Невысокая степень зависимости  $E_D$  от температуры во многом объясняет тот факт, что температурная зависимость биоэлектрической активности клеток,  $E_m^r$  которых включает, помимо  $E_D$ , значительную метаболическую составляющую, обусловлена прежде всего влиянием температуры на  $E_p$ .

На рис. 10 представлена полученная в ходе опытов с постепенным нагреванием ( $5-40^\circ$ ) температурная кривая  $E_m^r$  паренхимной клетки стебля тыквы [215], наглядно иллюстрирующая вклад изменений  $E_D$  и  $E_p$  в ее формирование. Лишь в пределах от  $5$  до  $12^\circ$  эта кривая имеет низкий коэффициент крутизны ( $\sim 0,5$  мВ/град), что характерно для температурной зависимости  $E_D$ . Выше  $12^\circ$  особенности кривой могут быть объяснены главным образом влиянием температуры на  $E_p$ . Отчетливо видно, что температурная зависимость  $E_m^r$  в диапазоне  $12-40^\circ$  резко нелинейна, что связано с наличием перегибов, расположенных в области  $16-18$  и  $22-23^\circ$  (последний менее выражен) и максимума при  $32-33^\circ$ . Наиболее значительный коэффициент крутизны, равный  $\sim 15$  мВ/град, соответствует интервалу от  $12-13$  до  $16-18^\circ$ .

Температурная зависимость  $E_m^r$  клетки высшего растения, представленная на рис. 10, получена при изменении температуры в одном направлении. Дополнительная информация о характере температурной зависимости  $E_m^r$  может быть выявлена в случае, когда температурное воздействие на объект осуществляется циклически, т.е. по типу охлаждения-нагревание или нагревание-охлаждение. В этих условиях особенностью температурной зависимости  $E_m^r$  клеток высших растений является гистерезис [211, 514].

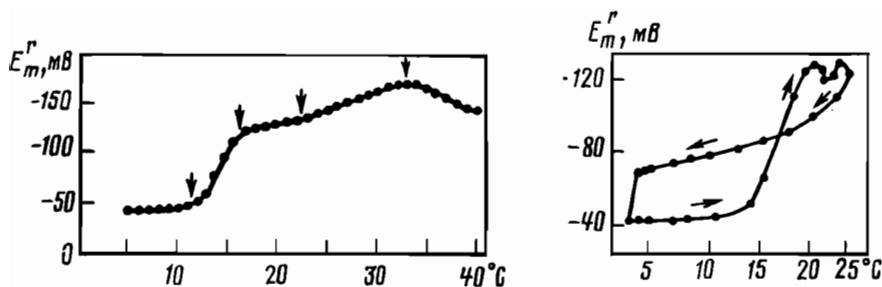


Рис. 10. Температурная зависимость  $E_m^r$  клетки паренхимы стебля тыквы [215]

Стрелки указывают на положение перегибов и максимума кривой

Рис. 11. Гистерезис температурной зависимости  $E_m^r$  пыльцевой трубки энотеры, полученный при циклическом изменении температуры [514]

Стрелки показывают направление изменения температуры

Появление гистерезиса температурной зависимости  $E_m^r$  можно ожидать тогда, когда температурные кривые биоэлектрической активности клеток нелинейны и их ход на этапах охлаждения и нагревания не совпадает (рис. 11).

Основная причина несовпадения кривых состоит обычно в том, что сходные по характеру резкие изменения  $E_m^r$  на этапах охлаждения и нагревания происходят при разных "критических" температурах. Так, если циклическое температурное воздействие осуществляется по типу охлаждение-нагревание, то резкие изменения  $E_m^r$  при нагревании, как правило, имеют место в более высокотемпературной области, чем при охлаждении. Например, по данным для клеток стебля тыквы [211], резкие изменения крутизны температурной кривой  $E_m^r$  в интервале  $23-11^\circ$  при охлаждении наблюдались вблизи  $17^\circ$ , при нагревании — вблизи  $18^\circ$ .

Другая причина гистерезиса температурной зависимости  $E_m^r$  может быть связана с более сложными различиями в характере температурных кривых, соответствующих этапам охлаждения и нагревания. Так, у пыльцевых трубок энотеры [514] на этапе охлаждения ( $26-4^\circ$ ) можно выделить три, а на этапе нагревания — только две области резкого изменения  $E_m^r$  (см. рис. 11).

Различия в поведении  $E_m^r$  под влиянием температуры у разных растительных объектов приводят к тому, что форма гистерезиса может быть весьма неоднозначной. Например, у клеток стебля тыквы

[211] образующие гистерезис температурные кривые  $E_m^r$  (интервал 23—11°) отчетливо сигмоидны. Сходный по форме гистерезис температурной зависимости  $E_m^r$  обнаружен в интервале 20—2° на клетках морской водоросли ацетабулярии [47]. Напротив, у пыльцевой трубки энотеры [514] гистерезис в интервале 26—4° имел вид цифры восемь, поскольку составляющие его кривые пересекались в области 17° (см. рис. 11).

Анализ природы гистерезиса температурной зависимости  $E_m^r$  клеток высших растений показывает, что он обусловлен прежде всего изменением активной составляющей потенциала, т.е.  $E_p$  [211, 514]. В свою очередь, изменения  $E_p$  могут быть объяснены влиянием температуры на работу электрогенного протонного насоса плазмалеммы [212, 215]. Это влияние может осуществляться различными путями.

Среди них важное место занимает путь, связанный с протеканием в плазматической мембране термотропных структурных изменений, которые могут иметь различную природу (см. раздел 7).

Влияние температуры на работу электрогенного насоса может проявляться также через модуляцию процессов дыхания и фотосинтеза, служащих основным источником клеточной энергии. В частности, по мнению И.И. Гунара и Л.А. Паничкина [71], обнаруженный ими сильный нелинейный характер изменений  $E_m^r$  клеток корня тыквы при охлаждении в интервале 22—2° был обусловлен угнетением активного транспорта ионов в результате подавления митохондриального дыхания. Представления, связывающие влияние температурных воздействий на  $E_m^r$  растительных клеток (на примере пресноводной водоросли нителлы) с модуляцией фотосинтеза, развиваются в работах Хансена и соавторов [390, 647]. Как одно из основных подтверждений своей точки зрения авторы рассматривают наличие зависимости рассчитанной ими "быстрой" константы времени (3—30 С) температурного влияния на электрогенный  $H^+$ -насос плазмалеммы от интенсивности света [647].

В то же время исследование связи величины  $E_m^r$  эпидермальных клеток корня кукурузы [319] с митохондриальным дыханием показало, что прямой корреляции между температурными зависимостями  $E_m^r$  и дыхания нет и величина  $E_m^r$  при низких положительных температурах, по-видимому, не лимитирована наличной активностью дыхания. Сходные данные были получены при исследовании влияния температуры в интервале 25—5° на ионный состав, ионные потоки и метаболизм пресноводной водоросли хары [589]. На основании этих данных был сделан вывод, что активный транспорт ионов при низких

положительных температурах не лимитируется скоростью его энергообеспечения за счет процессов дыхания или фотосинтеза.

На наш взгляд, заметная несхожесть в оценках механизмов влияния температуры на работу электрогенного насоса плазмалеммы и как следствие  $E_p^r$  растительных клеток является результатом недостаточной на сегодняшний день изученности данной проблемы. Можно в этой связи предположить, что наиболее плодотворным здесь должен оказаться подход, основанный на одновременном учете особенностей различных путей влияния температуры на работу электрогенного насоса, а также на дифференциации специфики того или иного растительного объекта (степень устойчивости к действию низких и высоких температур, способность клеток к фотосинтезу и т.д.).

## Свет

Световой фактор наряду с температурным относится к числу основных экзогенных модуляторов электрической активности высших растений. Под влиянием освещения  $E_m^r$  зеленых клеток обычно переходит на новый, более энергизованный стационарный уровень, что связано с возрастанием метаболической компоненты  $E_m^r$  на величину фотоиндуцированного  $E_p^r$ , возникающего при участии электрогенного  $H^+$ -насоса плазмалеммы [3, 169, 170, 361, 362, 567, 673].

Переход  $E_m^r$  от темнового стационарного состояния к фотоиндуцированному имеет ряд закономерностей, общих для клеток большинства исследованных видов высших растений. В частности, при включении света процесс гиперполяризации развивается, как правило, не сразу, а спустя этап кратковременной деполяризации, амплитуда которой варьирует от нескольких милливольт до нескольких десятков милливольт [3, 90, 169, 349, 673]. Сходным образом реагирует  $E_m^r$  и на ступенчатообразное увеличение уровня освещенности клеток [680]. При выключении действующего света последовательность изменений  $E_m^r$  оказывается, как правило, обратной: этап кратковременной гиперполяризации сменяется деполяризацией, в результате которой  $E_m^r$  возвращается на темновой уровень [90, 349, 361, 567, 673].

Помимо рассмотренной выше весьма типичной кинетики фотоиндуцированных изменений  $E_m^r$  клеток высших растений, в литературе описаны случаи и иного реагирования потенциала на действие света. В частности, на моторных клетках листовых подушечек фасоли [538] было показано развитие в ответ на освещение синим светом (461 нм) стойкой деполяризации, а при выключении света — гиперполяризации до исходного темнового уровня. При этом ход изменений  $E_m^r$  сопровождался возникновением осцилляций.

О причинах возможных различий в ответах  $E_m^r$  клеток высших растений на действие света судить с достаточной определенностью пока весьма трудно. Тем не менее уже сейчас представляется ясным, что характер фотоиндуцированной реакции  $E_m^r$  может зависеть от интенсивности действующего света [668], его спектрального состава [537, 581], а также функциональной принадлежности клеток [90, 537, 538, 581]. В этой связи неизбежно возникает вопрос о механизмах действия света на  $E_m^r$  растительных клеток.

При ответе на этот вопрос следует прежде всего отметить, что по своей природе фотоиндуцированные изменения  $E_m^r$  клеток высших растений обнаруживают тесную связь с фотосинтезом. На это указывает, в частности, наличие угнетающего эффекта на вызванные светом реакции  $E_m^r$  со стороны ингибиторов фотосинтетической ЭТЦ (диурон и др.) [33, 170, 361, 567, 668, 673] и разобщителей фотофосфорилирования (тентоксин) [362]. Другим убедительным свидетельством в пользу связи между фотоиндуцированными изменениями  $E_m^r$  и фотосинтезом может быть сходство их спектров действия [663, 668].

В рамках представлений о связи фотоиндуцированных изменений  $E_m^r$  с фотосинтезом одним из наиболее вероятных источников энергии для генерации фотоиндуцированной "настройки"  $E_m^r$  может быть названо нециклическое фотофосфорилирование [673]. Об этом свидетельствуют результаты ингибиторного анализа. Что касается этапа кратковременной деполяризации сразу после включения света или после ступенчатообразного увеличения его интенсивности, то ее возникновение может быть удовлетворительно объяснено на основе модели, связывающей потенциал плазмалеммы и фотосинтез [415]. Согласно этой модели, свет индуцирует поглощение протонов во внутреннем пространстве тилакоидов, куда протоны переходят через тилакоидную мембрану из стромы хлоропластов. Убыль протонов в строме приводит, в свою очередь, к их импорту через оболочку хлоропласта и увеличению pH цитоплазмы. Фотоиндуцированное увеличение pH цитоплазмы как промежуточное звено рассматриваемой последовательности событий было экспериментально продемонстрировано с помощью pH-чувствительных микроэлектродов на клетках ряда высших растений [385, 597]. Подщелачивание цитоплазмы вызывает, очевидно, снижение активности электрогенного  $H^+$ -насоса плазмалеммы, что реализуется в деполяризации мембраны.

Изложенное выше показывает, каким образом протекание фотосинтеза в хлоропластах способно через модуляцию активности

электрогенного  $H^+$ - насоса плазмалеммы влиять на  $E'_m$  клетки, обуславливая его фотоиндуцированные изменения. Следует, однако, учитывать, что это, судя по всему, не единственно возможный путь связи фотоиндуцированных изменений  $E'_m$  с фотосинтезом. Так, на примере клеток харовой водоросли нителлопсис было установлено, что фотоэлектрический сигнал функциональных мембран хлоропластов, генерируемый ЭТЦ, вносит непосредственный вклад в фотоиндуцированный ответ потенциала плазмалеммы [412]. Быстрый фотоэлектрический сигнал "хлоропластного" прохождения удалось отчетливо зарегистрировать на плазмалемме в опытах с тентоксином, с помощью которого были устранены гораздо более медленные и значительные фотоиндуцированные изменения  $E'_m$  в сторону гиперполяризации. Зарегистрированный сигнал имел кинетику и форму фотоэлектрического ответа одиночного хлоропласта, угнетался диуроном и восстанавливался при последующем внесении в среду кофактора фотосистемы I — МФМС, причем со значительным увеличением амплитуды, как и в случае опытов на одиночном хлоропласте [337]. Все это однозначно свидетельствовало о том, что сигнал на плазмалемме отражал фотоэлектрическую реакцию функциональных мембран хлоропласта. Это явление, обнаруженное у водоросли, по-видимому, должно иметь место и у высших растений.

По некоторым данным, также полученным на клетках ряда харофитов [80, 413], определенный вклад в  $E'_m$ , измеряемый между цитоплазмой клетки и внешней средой, и его фотоиндуцированные изменения может вносить, помимо плазмалеммы, так называемая хлоролемма — непрерывная мембрана, расположенная, вероятно, между иммобилизованным слоем хлоропластов и движущейся цитоплазмой. Тем не менее, поскольку сведения о наличии хлоролеммы продолжают оставаться, судя по всему, весьма дискуссионными даже для водорослей, актуальность учета возможного участия этой гипотетической мембраны в фотоиндуцированных изменениях  $E'_m$  у высших растений сегодня, очевидно, невелика.

Тесная связь фотоиндуцированных изменений  $E'_m$  клеток высших растений с фотосинтезом не исключает контроля над ними со стороны других возможных механизмов. Так, фотоиндуцированные изменения  $E'_m$ , запускаемые в красной и синей областях спектра [450, 537, 538, 581], могут быть опосредованы реакциями с участием таких клеточных пигментов, как фитохром и флавопротеид.

Фитохром — билипротеиновый пигмент, локализованный, по-видимому, во многих местах клетки, в том числе и в плазмалемме [77]. Стабильная в темноте форма фитохрома поглощает красный свет с длиной волны 660 нм и способна переходить в результате этого акта в

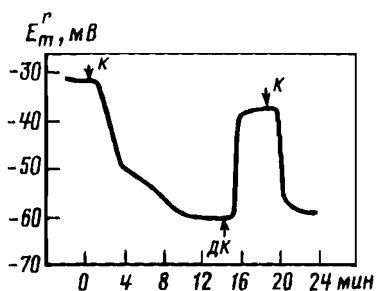


Рис. 12. Фитохром-контролируемые изменения  $E_m^r$  моторной клетки листочка самана [581]

K — красный свет (660 нм); ДК — дальний красный свет (730 нм)

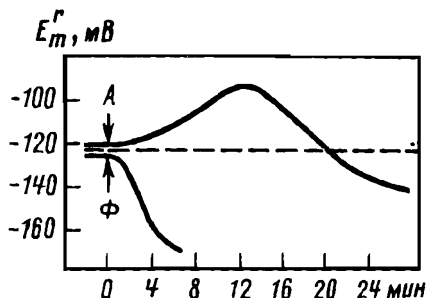


Рис. 13. Реакция  $E_m^r$  клетки coleoptilia овса на действие  $10^{-5}$  М ауксина и  $10^{-5}$  М фузикокина [295]

A — ауксин; Ф — фузикокин

другую форму — с длиной волны поглощения 730 нм. Эта более длинноволновая форма фитохрома является физиологически активной и контролирует значительное число фотоморфогенетических реакций. Было показано [450, 581], что при последовательном освещении клеток светом 660 и 730 нм их биоэлектрическая активность претерпевает заметные изменения. Как видно из рис. 12, где приведена фотоиндуцированная реакция  $E_m^r$  моторной клетки

листочка самана [581], при 660 нм имеет место гиперполяризация клетки, а при 730 нм — деполяризация. Повторное использование света 660 нм вновь вызывало гиперполяризацию, причем с гораздо более значительной скоростью, чем в первом случае. То обстоятельство, что указанные изменения  $E_m^r$  протекали при длинах волн поглощения света фитохромом, дает основания рассматривать их как фитохром-контролируемые [581].

Пигмент флавопротенид, как полагают, наряду с фитохромом также регулирует определенные фотоморфометрические реакции растений, но при действии синего света [77]. Вполне правомерно в этой связи считать, что изменения  $E_m^r$  наблюдаемые под влиянием синего света, например в моторных клетках листовых подушечек фасоли и предшествующие по времени двигательным актам [537, 538], являются звеном в цепи реакций, запускаемых флавопротенидом. Нельзя, однако, исключать здесь и возможное участие фитохрома, так как обе его формы способны поглощать помимо красного в определенной мере и синий свет [77].

Итак, фотоиндуцированные изменения  $E_m^r$  клеток высших растений весьма неоднозначны по своей природе и как следствие — форме. В

значительной степени эти изменения связаны с модуляцией активности электрогенного  $H^+$ -насоса плазмалеммы при участии фотосинтеза, в то же время фотоэлектрический ответ плазмалеммы может быть опосредован и иными механизмами. Это следует учитывать при анализе фотоэлектрических реакций, вызванных комплексным белым светом.

## Растительные гормоны

В отличие от температурного и светового факторов, растительные гормоны являются эндогенными модуляторами электрической активности клеток. Вызываемые ими изменения  $E_m^r$  следует рассматривать как звено в цепи регуляторных реакций, запускаемых гормонами на клеточном уровне.

К настоящему времени, по-видимому, наиболее исследовано влияние на  $E_m^r$  клеток высших растений такого фитогормона, как ауксин, контролирующего скорость растяжения клеток и направление роста [77, 200, 202]. Следует отметить, что исследования по влиянию на  $E_m^r$  ауксина нередко проводились и проводятся параллельно с использованием фузикоцина — грибного токсина, представляющего собой дитерпеновый гликозид, действие которого на растительные клетки во многом аналогично действию ауксина, но является гораздо более сильным [202, 295, 353, 365, 506, 508, 622]. Учитывая тот факт, что присутствие фузикоцина было недавно показано в тканях высших растений [165], его также можно рассматривать как природный фитогормон.

Типичная кинетика изменения  $E_m^r$  клетки высшего растения (на примере овса) под влиянием ауксина и фузикоцина представлена на рис. 13. Отчетливо видно, что начальным ответом  $E_m^r$  на действие ауксина ( $10^{-5}$  М) является деполяризация на 20—25 мВ, длящаяся около 10 мин. Далее процесс деполяризации сменяется реполяризацией, в результате которой  $E_m^r$  не только достигает исходного уровня, но и становится более электроотрицательным на  $22 \pm 2,5$  мВ [295]. В противоположность ауксину, фузикоцин ( $10^{-5}$  М) вызывает только быструю гиперполяризацию клетки на 35—40 мВ (см. рис. 13). При этом латентный период действия фузикоцина, соответствующий времени до начала гиперполяризации (в случае ауксина — до начала реполяризации), является на порядок более низким, чем таковой для ауксина.

Продолжительность латентного периода действия ауксина на  $E_m^r$  может быть уменьшена путем увеличения используемой концентрации гормона [295, 444]. По данным для вигны [444], увеличение

концентрации ауксина от  $10^{-6}$  до  $10^{-3}$  М приводило к сокращению латентного периода примерно в 2 раза.

Следует отметить, что от концентрации ауксина зависит и время выхода  $E_m^r$  на максимальный уровень [444]. В интервале концентраций от  $10^{-6}$  до  $10^{-3}$  М оно уменьшается у вигны соответственно от 50—40 до 30—20 мин. Что касается зависимости доза — эффект, то, по одним данным [444], величина гиперполяризации зависит от концентрации ауксина, а по другим [295] — нет.

В ряде работ [276, 407] показано влияние ауксина на  $E_m^r$  клеток высших растений, отличное от представленного на рис. 13 и выражавшееся в проявлении медленных осцилляций потенциала со средним периодом времени 14,5 мин (рис. 14). Это дало основания некоторым авторам [202] считать, что медленные колебания являются более универсальной, комплексной реакцией  $E_m^r$  на действие ауксина,

а изменения  $E_m^r$ , подобные представленным на рис. 13, следует рассматривать как фрагмент или частный случай таких колебаний. По-видимому, в русле этой точки зрения находится и предположение Г.Т. Казаряна и Г.Н. Хачатряна [98] о том, что ауксин и другие фитогормоны своим действием лишь возмущают мембранную систему, вызывая в ней быстро релаксирующие переходные процессы, заканчивающиеся возвращением  $E_m^r$  в исходное состояние. В то же время в работах других авторов [295, 365, 444, 492, 622] обсуждаемая точка зрения подтверждения не находит.

Сравнение действия ауксина на  $E_m^r$  клеток высших растений с действием цитокининов (на примере кинетина) и гиббереллинов (на примере гиббереллина  $A_3$ ) обнаруживает заметное сходство возникающих ответных реакций. В частности, многие авторы указывают на наличие эффекта гиперполяризации, вызываемого кинетином и гиббереллином  $A_3$  [9, 96, 98, 99, 284, 532, 650] хотя этот эффект обычно меньше, чем в случае ауксина. Так, по данным для клеток coleoptila пшеницы [650], интенсивность эффекта, оказываемого фитогормонами на  $E_m^r$ , уменьшается в последовательности ауксин — гиббереллин  $A_3$  — кинетин. Аналогичная последовательность для клеток корня кукурузы [99] имеет вид: кинетин — ауксин — гиббереллин  $A_3$ . На клетках корня кукурузы было, кроме того, продемонстрировано, что при увеличении концентрации фитогормонов до определенного "критического" уровня их стимулирующий эффект на  $E_m^r$  сменяется на угнетающий [99].

Оценивая в целом ситуацию по влиянию любого из упомянутых выше фитогормонов на  $E_m^r$  клеток высших растений, нельзя не

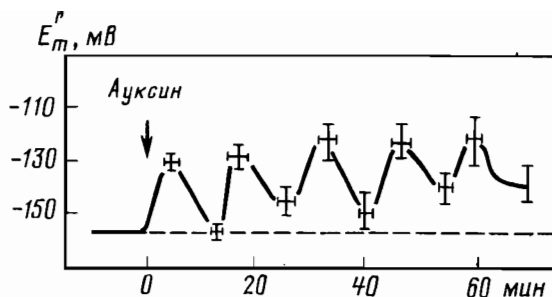


Рис. 14. Изменение  $E_m^r$  клеток coleoptilia кукурузы под влиянием ауксина ( $5 \cdot 10^{-5}$  М) [407]

отметить того факта, что возникающие ответные реакции могут характеризоваться как общностью, так и разнообразием форм. Последнее обстоятельство определяется, судя по всему, различными причинами. Одной из них, как уже отмечалось выше, является, вероятно, концентрация фитогормона [99]. Помимо этого, есть данные, что на характер реакции  $E_m^r$  влияет ионный состав экспериментальной среды. В частности, волны гиперполяризации, обуславливающие колебания  $E_m^r$  при действии ауксина, лучше выражены, если объект находится в среде с  $0,1$  мМ  $\text{Ca}^{2+}$  [202]. Показано также, что амплитуда вызванной ауксином реакции  $E_m^r$  заметно модифицируется при изменении содержания KCl в среде [622]. При  $0,1$  мМ KCl эта реакция отчетливо выражена и имеет типичную форму, при  $30$  мМ KCl — почти полностью угнетена. Наконец, по данным Г.Б. Максимова [147], характер реакции растительной клетки на действие фитогормона определяется ее функциональным (точнее, электрофизиологическим) состоянием в момент, предшествующий воздействию. Эти данные были получены в опытах с кинетином на клетках пресноводной водоросли нителлы. Добавление кинетина в среду в конечной концентрации  $5 \cdot 10^{-5}$  М вызывало быстрое падение  $E_m^r$  с последующим переходом клеточной мембраны в гиперполяризованное, деполяризованное или исходное состояние. Проведенный анализ показал, что реакция на фитогормон определялась исходной величиной  $E_m^r$  и была направлена в сторону его расчетного модального значения.

Действие фитогормонов на  $E_m^r$  во многом может быть связано с модуляцией величины его метаболической компоненты [147, 202, 506, 507]. Свидетельств в пользу такой точки зрения в литературе немало.

Прежде всего это результаты ингибиторного анализа, показывающие, что гиперполяризующий эффект фитогормонов снимается или

заметно уменьшается в присутствии, например, уабаина, ДНФ и ДЦКД [9, 96, 98]. В свою очередь, фитогормоны "смягчают" угнетающее действие на  $E_m^r$  со стороны ингибиторов [98, 361].

Ингибирующее влияние на индуцированную ауксином и фузикоксином гиперполяризацию оказывает также аноксия [365, 520]. Сравнительный анализ величин  $E_p$  и  $E_D$  до и после влияния на  $E_m^r$  ауксина, проведенный у вигны [365] на основе использования аноксии, показал, что  $E_D$  в присутствии ауксина даже несколько уменьшается. Таким образом, весь прирост  $E_m^r$  под влиянием ауксина должен быть отнесен исключительно за счет увеличения  $E_p$ . Уровень  $E_p$ , достигаемый при этом, весьма значителен и составляет 111% от контроля в случае ауксина и 205% в случае фузикокцина [365].

Наконец, на примере эгерии [361] обнаружено, что действие фузикокцина в значительной степени компенсирует уменьшение метаболической компоненты  $E_m^r$ , вызванное исключением света.

Поскольку возникновение  $E_p$  у высших растений обусловлено главным образом активным транспортом  $H^+$  через плазматическую мембрану [306, 507, 646, 652], изложенные выше результаты трудно объяснить иными причинами, чем стимулирующим влиянием со стороны фитогормонов на осуществление данного транспорта. Убедительным доказательством этого может служить показанная рядом авторов [508, 520] корреляция во времени между ауксин-индуцированными изменениями  $E_m^r$  и секрецией  $H^+$  во внеклеточное пространство.

Стимуляция активного транспорта  $H^+$  под влиянием фитогормонов может быть опосредована прежде всего их регуляторным действием на работу электрогенного  $H^+$ -насоса.

Так, есть достаточно весомые основания считать, что фитогормоны способны стимулировать активный транспорт  $H^+$ , осуществляемый  $H^+$ -АТФазной системой плазмалеммы. Об этом свидетельствует, например, продемонстрированная в опытах на мембранных везикулах регуляция активности  $H^+$ -АТФазы ауксином и фузикоксином [314, 395, 586, 616].

Под влиянием фитогормонов наряду с  $H^+$ -АТФазой (или вместо нее?) может быть стимулирована также система активного транспорта  $H^+$ , источником энергии для которой не является АТФ. Такие данные были получены при исследовании молекулярного механизма действия фузикокцина [17]. Этой системой является, очевидно, редокс-цепь плазмалеммы. В этой связи следует отметить, что в плазматических мембранах гипокотыля сои показано наличие ауксин-стимулируемого НАДН-оксидазного комплекса [321].

Регуляторное влияние на ферментные системы, осуществляющие активный транспорт  $H^+$ , фитогормоны оказывают скорее всего не непосредственно, а через структурные "возмущения" в мембране, инициированные связыванием фитогормона с белком-рецептором [116,

133, 229]. Такие белки-рецепторы обнаружены в плазматических мембранах высших растений, по существу, для всех известных в настоящее время фитогормонов [229]. Не исключено, однако, что стимулирующий эффект ауксина и фузикокцина на электрогенный  $H^+$ -насос обусловлен также в той или иной мере подкислением цитоплазмы, вызываемым этими гормонами [335, 385].

Представления о стимуляции фитогормонами электрогенной секреции  $H^+$  через модуляцию активности  $H^+$ -насоса плазмалеммы не исключают альтернативных подходов к интерпретации механизма гормонального эффекта на активный транспорт  $H^+$ . В частности, критические взгляды на фузикокцин как стимулятор  $H^+$ -насоса развивает Блэтт [313]. В опытах на клетках эпидермиса вики им было обнаружено, что фузикокцин уменьшает прохождение тока по путям вторичного активного транспорта, осуществляющегося за счет электрохимического градиента  $H^+$ . По мнению автора, "чистый" выход  $H^+$  в результате увеличивается даже без стимулирующего действия фузикокцина на  $H^+$ -насос.

Помимо модифицирующего действия на активный транспорт через плазматическую мембрану и величину  $E_p$ , фитогормоны способны модифицировать пассивную проницаемость и как следствие  $E_D$ .

Так, по мнению [295], увеличением пассивной проницаемости мембраны для  $Cl^-$  относительно  $K^+$  объясняется начальная деполяризация в ответе  $E_m^r$  на действие ауксина. снижение  $E_D$  как результат влияния ауксина сохраняется при последующем общем росте  $E_m^r$  за счет увеличения  $E_p$  [365].

Существенное влияние на пассивную проницаемость плазмалеммы оказывает, по-видимому, гиббереллин  $A_3$ . В опытах на клетках колеоптиля кукурузы [532] было обнаружено, что вызванные изменением концентрации  $K^+$  во внешней среде соответствующие изменения  $E_D$  в присутствии гиббереллина заметно выше, чем при действии ауксина или в контроле.

Итак, влияние фитогормонов способно приводить к значительным изменениям биоэлектрогенеза клеток высших растений, что связано с модуляцией как активного, так и пассивного мембранного транспорта. Функциональная значимость изменений  $E_m^r$ , вызываемых фитогормонами, судя по всему, велика. В частности, сегодня есть основания полагать, что ауксин-индуцированная гиперполяризация является первичным звеном в цепи процессов, приводящих к ускорению роста растений под влиянием этого гормона. Эта гиперполяризация, оказывая влияние на транспортные процессы и клеточный метаболизм, может выступать, по-видимому, как более существенный фактор в стимуляции роста ауксином, чем подкисление клеточной стенки [335, 336]. В свете этих представлений, на наш взгляд, весьма примечателен установленный в опытах на вигне [492] феномен многократного ускорения в присутствии ауксина процесса регенерации  $E_m^r$ .

измеренного на границе ксилема/симпласт, после процедуры отрезания сегмента гипокотыля. Можно полагать, что под влиянием ауксина в данной ситуации идет ускоренное восстановление прежде всего того звена в механизме осуществления гормонального контроля за ростовыми процессами, которое играет наиболее существенную роль.

## Прочие факторы

Помимо рассмотренных выше основных экзогенных факторов, модифицирующих электрогенез клеток высших растений в покое, можно назвать еще ряд воздействий различной природы, которые, по данным литературы, способны оказывать влияние на  $E'_m$ . В их число входят гравистимуляция [296], механическое воздействие, включая повреждение [477, 574], давление [554], запахи [157], электромагнитное миллиметровое излучение [199], ультрафиолетовое излучение [261, 458] и др.

Реакции  $E'_m$  на указанные воздействия достаточно многообразны. К сожалению, условия экспериментов далеко не всегда позволяют в полной мере оценить характер этих реакций и судить об их природе.

Например, изменения  $E'$  в ответ на действие давления были зарегистрированы в опытах не на интактных клетках, а на протопластах, изолированных из мезофилла и эпидермиса коммелины [554], и поэтому оказались специфичными. Протопласты при нулевом давлении в микропипетке-присоске имели  $E'_m$  от 0 до 5 мВ. Увеличение давления в микропипетке приводило к появлению отрицательных значений  $E'_m$  с градиентом 14,3 и 10,5 мВ/кПа для протопластов мезофилла и эпидермиса соответственно. Эти данные были использованы авторами для объяснения противоречий в оценках знака  $E'_m$  в электрофизиологических исследованиях на протопластах. Для нас полученные результаты интересны прежде всего тем, что они иллюстрируют возможность модуляции  $E'_m$  клеток высшего растения действием такого фактора, как давление.

Изменение потенциала плазматических мембран клеток листа в ответ на электромагнитное миллиметровое облучение было показано в опытах на бальзаминусе [199]. Здесь обращает на себя внимание качественное совпадение переходных характеристик зарегистрированной реакции потенциала с таковыми для ответа на фотосинтетически активное излучение, а также подавление реакции при обработке листа разобщителями фотофосфорилирования. Это дает основания считать, что электромагнитное миллиметровое излучение влияет на потенциал плазмалеммы через активацию фотосинтетической ЭТЦ тилакоидов хлоропластов.

В отличие от миллиметрового, ультрафиолетовое излучение (390, 1170 и 3900 Дж·м<sup>-2</sup>) с длиной волн 253,7 нм вызывало деполяризацию клеток колеоптиля кукурузы [458], которая при выключении излучения лишь в случае 390 Дж·м<sup>-2</sup> была полностью обратимой и составляла 25% от исходного уровня  $E_m^r$ . Более сильное излучение (1170, 3900 Дж·м<sup>-2</sup>) приводило соответственно к более значительной деполяризации (до 50% исходного  $E_m^r$ ), которая только частично обращалась за время эксперимента (3 ч).

Несколько иные данные о влиянии ультрафиолетового излучения на  $E_m^r$  получены в опытах на клетках элодеи и валлиснерии [261].

Помимо медленно развивающейся деполяризации, непрерывное облучение вызывало появление быстрого (менее 1 мин) импульсообразного электрического ответа, предшествующего деполяризации. Сходный по форме быстрый ответ возникал при кратковременном (15 с) облучении. Изучение спектра действия медленной деполяризации показало, что ее максимум лежит при 280 нм. Спектр действия быстрого ответа  $E_m^r$  был ограничен интервалом длин волн 289—312 нм.

Тот факт, что ультрафиолетовое излучение подавляет ауксининдуцированную гиперполяризацию и угнетает секрецию  $H^+$  из клеток [458], позволяет связать влияние излучения на  $E_m^r$  с ингибированием активности электрогенного  $H^+$ -насоса плазмалеммы. Не исключено, что функцию такого насоса выполняет чувствительная к действию ультрафиолетового излучения АТФаза [261].

Распространенной реакцией  $E_m^r$  клеток растительной ткани на ее механическое повреждение является, по-видимому, гиперполяризация [477, 574]. Например, у клеток прорастающей семядоли сои [477] после процедуры приготовления среза повышение  $E_m^r$  развивалось примерно от -31 до -80 мВ в течение первых 3 ч регистрации. Гиперполяризованное состояние клеточных мембран сохранялось далее несколько часов неизменным, после чего  $E_m^r$  постепенно возвращался к исходному уровню. Исходя из характера реакции, можно полагать, что изменение  $E_m^r$  в данной ситуации имело скорее всего активную природу.

Интересные данные, свидетельствующие об участии биоэлектрической активности в тропизмах, были получены при исследовании вызванных грависимуляцией ответов  $E_m^r$  латеральных статочитов корня лепидиума [296]. Статочиты вертикально растущих корней имели стабильный, без спонтанных флуктуаций уровень  $E_m^r$ , равный

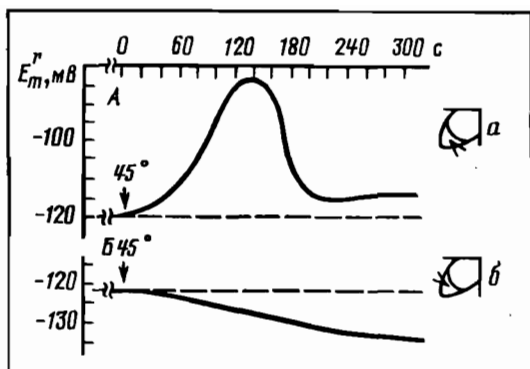


Рис. 15. Записи изменений  $E_m^r$  статочитов корня лепидиума при гравистимуляции [296]

А, Б — гравизлектрические ответы статочитов соответственно нижней (а) и верхней (б) сторон корня (после отклонения на  $45^\circ$  от вертикального положения). Момент отклонения корня на  $45^\circ$  от вертикального положения показан стрелкой

$-118 \pm 5,9$  мВ. При отклонении положения корня на  $45^\circ$  от вертикали в нем развивалась электрическая асимметрия (рис. 15). Статоциты на физически нижней стороне корня сначала деполяризовались на  $\sim 25$  мВ. Эта деполяризация возникала спустя небольшой латентный период (8 с) и достигала минимума (примерно  $-93$  мВ) за 170 с. По завершении деполяризации клеточная мембрана в течение 60 с реполяризовалась до уровня на  $\sim 10$  мВ более положительного, чем исходный потенциал. Иной характер изменений  $E_m^r$  имел место в статочитах верхней стороны наклоненного корня. Они медленно гиперполяризовались (время полуперехода 168 с) до стабильного уровня, на  $\sim 10$  мВ более негативного, чем исходный.

Зарегистрированные реакции  $E_m^r$ , представляющие собой гравизлектрический ответ, оказались присущими только статенхеме корня. В клетках коры и ризодермы аналогичные изменения  $E_m^r$  обнаружены не были. Следует также отметить, что гравизлектрические ответы удалось зарегистрировать в статочитах лишь 25% всех подвергнутых тестированию корней. Корни, в которых гравизлектрические ответы не возникли, характеризовались редуцированным продольным ростом. Представляется в этой связи очевидным, что асимметрия в гравизлектрическом ответе статочитов играет важную роль в осуществлении геотропизма.

Наконец, весьма любопытной является информация о том, что  $E_m^r$  клеток растений способен реагировать на запахи [157]. Испытания с такой целью были проведены на растениях более 20 видов. Установлено, что  $E_m^r$  хорошо реагирует, в частности, на запах

формальдегида (гиперполяризация на 5—10 мВ), этилмеркаптана (быстрая гиперполяризация, сменяющаяся линейной деполяризацией) и др. В целом реакция  $E_m^r$  на запахи, по-видимому, сильно зависела от восприимчивости того или иного растения к запаху какого-либо вещества.

## 7. РОЛЬ СТРУКТУРНОЙ ЛАБИЛЬНОСТИ КЛЕТОЧНЫХ МЕМБРАН В РЕГУЛЯЦИИ ПОТЕНЦИАЛА ПОКОЯ

Клеточные мембраны представляют собой высокоорганизованные белково-липидные образования, которые из-за особенностей своей структуры могут быть охарактеризованы как жидкие кристаллы смектического типа [31, 91, 268]. Именно жидкокристалличность мембран — основное условие осуществления таких ключевых мембранных функций, как ферментативная активность и селективная проницаемость [13, 92, 268, 579, 612].

Структуре клеточных мембран присущ высокий уровень лабильности, под которой подразумевается способность мембран претерпевать различного рода структурные перестройки, вызванные "возмущающим" действием экзогенных или эндогенных факторов [116, 117, 119]. Такие перестройки, охватывая сферой своего влияния мембранные системы, ответственные за осуществление пассивного и активного транспорта ионов, приводят в той или иной мере к модификации их функций [13, 28]. Это, в свою очередь, неизбежно должно отражаться на электрической активности клеток.

Тем не менее в биологической литературе до сих пор существует заметный дефицит информации по вопросу о роли структурных перестроек мембран в регуляции различных форм электрической активности клеток, и прежде всего  $E_m^r$ . Этот дефицит, на наш взгляд,

может быть объяснен несколькими причинами. В их число входят и недостаточная изученность природы структурных "возмущений", вызываемых в мембранах действием того или иного модифицирующего электрогенез фактора, и ограниченность представлений о причинно-следственных отношениях между возникающими в мембранах структурными и функциональными изменениями, и неполнота знаний о характерных особенностях ответной реакции  $E_m^r$  на то или иное воздействие.

В этой связи весьма актуальным является комплексный подход к рассматриваемому вопросу, состоящий в изучении влияния экзогенных или эндогенных факторов на биоэлектрическую активность клеток, лежащие в ее основе механизмы и структурное состояние клеточных мембран. Такой комплексный подход в опытах на высших растениях был применен в нашей лаборатории в работах С.С.Пятыгина и соавторов [190, 211, 215], где была продемонстрирована роль структурных перестроек, происходящих в плазматических мемб-

ранах, в регуляции  $E'_m$  клеток стебля тыквы при постепенном изменении температуры в пределах от 5 до 40°.

Температурная кривая  $E'_m$  у тыквы в диапазоне 5—40° имела сложный нелинейный характер (см. рис.10), который в пределах от 12 до 40° был обусловлен влиянием температуры главным образом на  $E_p$ . Об этом свидетельствовали значительная величина коэффициента крутизны кривой в указанных пределах и результаты ингибиторного анализа с использованием  $\text{NaN}_3$ ,  $\text{KClXFG}$  и ДЦКД [215].

Важными особенностями температурной зависимости  $E'_m$  клеток тыквы в пределах от 12 до 40° являются отчетливо выраженный перегиб, расположенный в области 16—18°, и максимум при 32—33°. Если появление максимума свидетельствует, вероятно, о том, что электрогенный насос при 32—33° работает в наиболее оптимальном режиме, то по наличию резкого перегиба в области 16—18° можно судить о существенной перестройке режима функционирования насоса, связанной с изменением его температурной чувствительности. Последнее подтверждается построением температурной зависимости  $E'_m$  в координатах Аррениуса (рис.16). Величина энергии активации процесса изменения  $E_p$  на линейном участке аррениусовской кривой выше перегиба при 16—18° составила  $\sim 19 \text{ кДж} \cdot \text{моль}^{-1}$ , ниже перегиба  $\sim 122 \text{ кДж} \cdot \text{моль}^{-1}$  [211].

Поскольку в возникновении  $E_p$  у высших растений, включая тыкву, важную роль играет электрогенный  $\text{H}^+$ -насос, представленный  $\text{H}^+$ -АТФазой плазмалеммы [196, 202, 215, 507, 624, 646, 652], естественно было предполагать, что характер температурной зависимости  $E'_m$  у тыквы, обусловленной в решающей степени изменением  $E_p$ , во многом должен повторять характер температурной зависимости активности  $\text{H}^+$ -АТФазы. В пользу обоснованности такого предположения априори свидетельствовало большое сходство величин энергии активации для процесса изменения  $E_p$  у тыквы, с таковыми для процесса гидролиза АТФ транспортными АТФазами плазматических мембран как растительного, так и животного происхождения [211, 212].

Как оказалось, температурная кривая активности  $\text{H}^+$ -АТФазы изолированных плазматических мембран стебля тыквы, представленная на рис. 17, действительно во многом совпадает по характеру с температурной кривой  $E'_m$  интактных клеток в диапазоне 5—40° (см.

рис. 10). В частности,  $\text{H}^+$ -АТФазная активность мембран, предварительно охлажденных до 5°, находится в состоянии низкотемпературного угнетения вплоть до 12°, где начальная скорость  $V_0$  реакции гидролиза АТФ начинает достаточно круто нарастать. Это совпадает с данными о том, что  $E_p$  начинает вносить свой вклад в температурную зависимость  $E'_m$  также вблизи 12° (см. рис. 10).

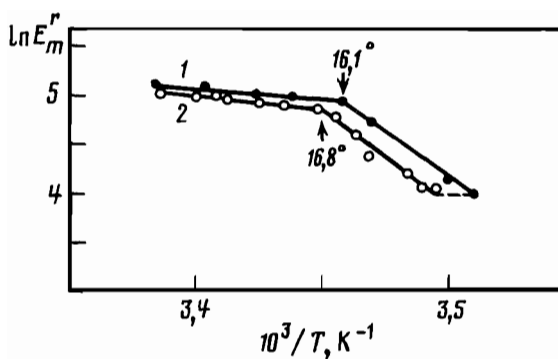


Рис. 16.

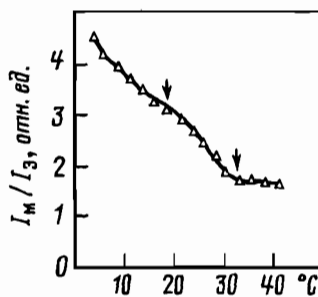


Рис. 18.

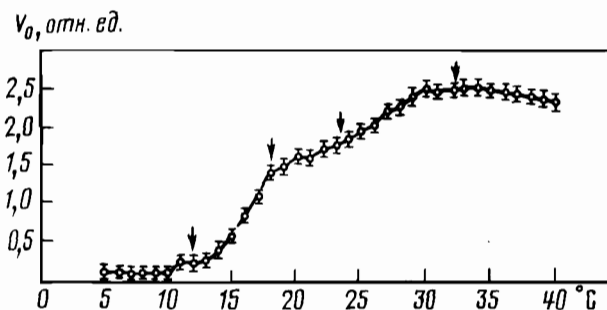


Рис. 17.

Рис. 16. Аррениусовские кривые  $E_m^r$  клетки паренхимы стебля тыквы при охлаждении (1) и последующем нагревании (2) [215]

Пунктиром показан участок, связанный с влиянием температуры на  $E_D$ . Стрелки указывают на положение перегибов кривых

Рис. 17. Температурная зависимость  $H^+$ -АТФазной активности плазматических мембран клеток стебля тыквы [215]

$V_0$  — начальная скорость реакции гидролиза АТФ. Стрелки указывают на положение перегибов и максимума температурной кривой

Рис. 18. Температурная зависимость интенсивности флуоресценции пирена, связанного с плазматическими мембранами клеток паренхимы стебля тыквы [215]

$I_m$  и  $I_3$  — интенсивности флуоресценции мономерной и эксимерной форм пирена соответственно. Стрелки указывают на положение перегибов температурной кривой

Рост  $V_0$ , как и увеличение  $E_m^r$  за счет  $E_p$ , происходит нелинейно с отчетливо выраженным перегибом в области 16—18°. По достижении 16—18° крутизна температурной кривой  $V_0$  реакции гидролиза АТФ заметно падает, а после 23° вновь несколько возрастает. Температурный оптимум данной реакции, которому соответствует наибольшая  $V_0$ , совпадает с температурным оптимумом  $E_m^r$ , располагаясь при 32—33°. Выше температуры оптимума  $V_0$  реакции гидролиза

АТФ подобно  $E'_m$ , нелинейно снижается. Таким образом, представляется очевидным, что у тыквы именно температурная зависимость  $H^+$ -АТФазной активности плазматических мембран лежит в основе температурной зависимости  $E'_m$ . Эта связь реализуется через потенциал  $E_p$ , изменения которого, как отмечалось выше, вносят решающий вклад в изменения  $E'_m$  под влиянием температуры.

Возникает вопрос о причинах нелинейности температурной кривой активности  $H^+$ -АТФазы в диапазоне  $5-40^\circ$ , в частности, о природе перегиба при  $16-18^\circ$ . Наличие подобного перегиба на графиках температурной зависимости ферментативных процессов рассматривается как результат конформационного перехода ферментной системы в состояние соответственно с низкой или высокой каталитической активностью [28, 116, 583]. При этом триггером такого конформационного перехода в случае мембраносвязанных ферментных систем нередко выступают термотропные изменения в структуре их липидного окружения [116, 612]. Поскольку транспортная  $H^+$ -АТФаза плазмалеммы высших растений является мембраносвязанной ферментной системой, причем весьма чувствительной к состоянию липидного окружения [196, 342, 460, 511, 513, 617], можно было предполагать, что причиной перегиба при  $16-18^\circ$  на температурной кривой ее активности у тыквы является конформационный переход, инициированный структурной перестройкой мембранных липидов. В пользу такого предположения косвенно свидетельствовал показанный в опытах с постепенным охлаждением и последующим нагреванием в интервале  $23-11^\circ$  гистерезис температурной зависимости  $E_p$  клеток стебля тыквы [211], сопровождавшийся несовпадением температур перегиба на кривых для этапов охлаждения и нагревания (см. рис. 16).

Именно для липидов свойствен феномен подобного несовпадения термотропных изменений в структуре при постепенном понижении и последующем повышении температуры: на этапе нагревания структурные перестройки происходят в более высокотемпературной области, чем на этапе предшествующего охлаждения [392, 513]. Известно также, что мембраны холодочувствительных высших растений, в число которых входит тыква, содержат насыщенные фосфолипиды, которые (прежде всего, по-видимому, фосфатидил-глицерины) претерпевают термотропные фазовые переходы типа жидкий кристалл-квазикристалл при положительных, причем достаточно высоких температурах [528, 584].

С учетом сказанного выше, с помощью флуоресцентных зондов МБА и пирена была исследована возможность протекания температурно-зависимой фазово-структурной перестройки липидов в изолированных плазматических мембранах клеток стебля тыквы при  $16-18^\circ$  [190, 215]. Оба использованных зонда высокогидрофобны и локализуются в липидном бислое в области глицериновых остатков (МБА) и жирнокислотных цепей (пирен) молекул фосфолипидов [38].

При этом пирен способен находиться в бислое одновременно в мономерной и эксимерной формах, соотношение между которыми изменяется в зависимости от вязкости липидного окружения.

Судя по представленной на рис.18 кривой, характеризующей изменение степени эксимеризации пирена в плазматических мембранах тыквы в диапазоне 5—40°, ее величина с повышением температуры существенно нарастает, т. е. вязкость липидного матрикса мембран вследствие разжижения заметно снижается. При этом в области 16—18° на кривой имеет место перегиб, свидетельствующий о протекании в липидах резкой структурной перестройки, которая, как можно ожидать, посредством липид-белковых связей вовлекает электрогенный  $H^+$ -насос в сферу своего влияния. На реальность протекания такой структурной перестройки липидов при 16—18° указывают и данные, полученные в опытах с МБА [190]. Из характера представленной на рис.18 кривой также следует, что резкие термотропные изменения в мембранных липидах происходят и вблизи 32°. Вполне вероятно, что структурная перестройка липидов при 32° соответствует той стадии снижения вязкости липидного окружения  $H^+$ -АТФазы при повышении температуры, которая является неблагоприятной для поддержания высокой каталитической активности фермента и приводит к его прогрессивно нарастающей инактивации.

Рассмотренные выше данные, полученные на интактных клетках и изолированных плазматических мембранах стебля тыквы, наглядно показывают, каким образом вызванные экзогенным фактором (например, градуальным температурным воздействием) структурные изменения в мембранных липидах способны через модуляцию активности электрогенного насоса оказать регуляторное влияние на  $E_m^r$ . На

основании этих данных, разумеется, не следует делать вывод о том, что "липидные" перестройки играют роль некоего универсального триггера в цепи событий, протекающих в клеточных мембранах при действии температурного и других факторов и приводящих в конечном итоге к изменению  $E_m^r$ . В частности, изменение  $E_m^r$  клеток

растений под влиянием достаточно высоких положительных температур (выше 30°) может быть связано со значительными перестройками (обратимыми и необратимыми) непосредственно в белковой структуре электрогенных насосов и каналов пассивной диффузии [7, 212].

"Самостоятельные" термотропные перестройки в структуре мембранных белков, причастных к осуществлению ионного транспорта, могут также играть существенную роль в модуляции электрической активности клеток при изменении температуры в физиологическом диапазоне у тех высших растений, липиды которых претерпевают фазовые переходы из жидкокристаллического состояния в квазикристаллическое при низких положительных и отрицательных температурах [579, 584, 695].

Наконец, нельзя не отметить, что определенную роль в регуляции мембранной проницаемости и  $E_m^r$  растительных клеток могут играть, вероятно, и изменения структуры вицинальной воды, происходящие в физиологическом диапазоне температур вблизи 15 и 30°. Такие данные были получены в опытах на пресноводной водоросли харе [287, 288].

Таким образом, природа термотропных структурных перестроек, протекающих в мембранах клеток растений и приводящих к изменению  $E_m^r$ , может быть весьма разнообразной.

Этот вывод, по-видимому, в равной мере касается и структурных перестроек, индуцируемых в мембранах другими факторами, например изменением рН среды, фитогормонами и т.д. [116, 117, 119, 133, 134].

В частности, показано, что фитогормоны способны непосредственно связываться с мембранными белками, выполняющими функцию рецепторов, и вызывать далее структурную перестройку значительных регионов мембраны [133, 134, 229]. Характерной особенностью гормониндуцированных структурных перестроек является, как отмечает С.В. Конев [116], их запуск от очень ограниченного числа рецепторов, составляющих ничтожно малую долю клеточных белков. Автор высказывает далее предположение, согласно которому возникающая и распространяющаяся по мембране волна структурного "возмущения" вовлекает в сферу своего влияния другие белковые молекулы и изменяет их состояние. В роли акцепторов при этом могут, в частности, выступать ферментные системы, ионные каналы и др. Наступающие в результате изменения в процессах активного и пассивного транспорта заметно отражаются на клеточном электрогенезе [98, 133, 622].

К существенной модификации структурной организации клеточных мембран, включая образование трансмембранных ионных каналов, приводит также воздействие гербицидов и пестицидов [12, 57]. Ряд из них, увеличивая протонную проводимость плазмалеммы, способен снижать метаболическую компоненту  $E_m^r$  путем шунтирования работы электрогенного  $H^+$ -насоса [694]. На изменение пассивной проницаемости мембраны при действии этих агентов, несомненно, реагирует и  $E_D$ .

Для того чтобы оказать регулирующее действие на клеточный электрогенез, структурное "возмущение" в мембране не обязательно должно быть значительным. Известно, например, что в фазовых переходах по типу жидкий кристалл-квазикристалл в физиологическом диапазоне температур у высших растений участвует не более 10% общего количества мембранных липидов [513, 584]. Тем не менее, как показывают наши данные [190, 211, 215] и данные ряда других авторов [166, 514], эти "липидные" перестройки могут быть реальной причиной изломов и гистерезиса температурных кривых метаболической компоненты  $E_m^r$ . Несоответствие между срав-

нительно небольшой величиной фазово-структурного "возмущения" в мембране и последующим значительным функциональным ответом, выражающимся в изменении константы скорости ферментативной реакции, в ходе которой возникает  $E_p$ , не находит объяснения в рамках классической теории кинетики химических реакций. Однако, если предположить, что взаимодействие электрогенного насоса с субстратом включает в себя стадию, представляющую собой процесс континуальной диффузии (т.е. имеет не статистический, а динамический характер, учитывающий конформационные превращения макромолекулы фермента) [259], возможность такого несоответствия становится допустимой. Об этом свидетельствует успешное использование аналогичного подхода к анализу химических реакций, протекающих в условиях полимерных матриц [259]. На основе методологии уравнения Фоккера—Планка авторы убедительно показали протекание в полимерных матрицах таких реакций, у которых зависимость константы скорости от подвижности реагентов является нелинейной и допускает существование "критических" явлений, выражающихся в непропорционально больших изменениях скорости реакции при сравнительно малом изменении подвижности реагентов.

Подводя итог изложенному выше, следует отметить, что амплитуда и характер изменений  $E'_m$ , вызываемых модификацией мембранной структуры под влиянием тех или иных причин, далеко не однозначны. Тем не менее можно полагать, что, поскольку доля  $E_p$  в формировании  $E'_m$  у высших растений, как правило, более велика, чем доля  $E_p$ , структурные изменения в мембранах, модулирующие активный транспорт, должны преимущественным образом сказываться на величине  $E'_m$  и определять характер его изменения в негомогенных условиях.

## 8. РОЛЬ ПОТЕНЦИАЛА ПОКОЯ В ЖИЗНЕДЕЯТЕЛЬНОСТИ КЛЕТОК ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ

Несмотря на то, что измерения мембранных потенциалов у высших растений проводятся давно, анализ их роли в функционировании растительной клетки можно, по-видимому, отнести к числу все еще слабо изученных вопросов. Долгое время  $E'_m$  рассматривались как неизбежное следствие пассивных и активных транспортных процессов, которые нередко имеют электрогенный характер. В них зачастую не видели фактора, который может иметь вполне определенное самостоятельное значение в протекании ряда важных явлений на мембране.

Лишь в последние годы в этом направлении наметились определенные позитивные сдвиги. Их в значительной мере следует связать с благотворным влиянием концепции Митчела, согласно которой  $\Delta\psi$

(вместо этого весьма широко принятого при анализе электрохимических соотношений на мембранах обозначения разности электрических потенциалов мы в дальнейшем, в целях единообразия, а также исходя из имеющихся рекомендаций [494], будем употреблять символ  $E_m$ ) является столь же важной составной частью электрохимического потенциала ионов, как и его химического компонента. Становится все более ясным, что  $E_m$  представляет собой одну из универсальных конвертируемых форм энергии в клетке. При этом она имеет ряд существенных особенностей: 1) эта форма энергии непосредственно связана с мембраной; 2) носит не скалярный, а векторный характер; 3) в известной степени делокализована по мембране [247], хотя может в определенных случаях иметь, по-видимому, и строго локальную ориентацию [125]; 4) имеет в своей основе несколько механизмов, обеспечивающих ее генерацию; 5) весьма чувствительна к действию внешних и внутренних факторов. Все эти особенности создают большую значимость данной формы энергизации клетки в ее жизнедеятельности. Эта значимость, очевидно, определяется двумя обстоятельствами. С одной стороны,  $E_m$  несомненно играет организующую, стабилизирующую роль в структурных и функциональных свойствах биомембран. С другой стороны,  $E_m$  принимает непосредственное участие в регуляции этих свойств.

Важная роль  $E_m$  в функционировании клетки становится особенно очевидной, если принять во внимание значения напряженностей электрического поля на биомембранах. При толщине мембраны в среднем  $\sim 10$  нм и величине ее мембранного потенциала 0,1 В напряженность электрического поля через мембрану составит  $10^5$  В/см. Особенно большие напряженности имеют место, по-видимому, в клетках высших растений, у которых  $E_m$  могут достигать  $-250+/-300$  мВ.

Такие огромные напряженности электрического поля оказывают сильное влияние прежде всего на структурную организацию биомембран. Поскольку молекулы или отдельные части молекул белков и липидов могут иметь дипольный момент, то электрическое поле будет непосредственно влиять на их структурное состояние в биомембранах. Существующая на сегодняшний день информация позволяет считать, что  $E_m$  поддерживает мембрану в термодинамически неравновесном напряженном состоянии [121]. Принципиально важно, что наряду с другими факторами  $E_m$  по принципу обратной связи обеспечивает относительную устойчивость сложной диссипативной структуры биомембраны.

Имеются следующие пути влияния  $E_m$  на структуру биомембран [116, 120]: прямое влияние на мембранные белки или липидный бислой и опосредованное влияние на белки и белок-белковые взаимодействия через модификацию липидного бислоя.

Прямое влияние  $E_m$  на мембранные белки проявляется через изменение их ориентации, а также путем сдвигов в конфигурации функционально значимых центров [56, 120, 599, 670].

Влияние  $E_m$  на липидный бислой искусственных и природных мембран осуществляется двумя путями. Во-первых, может иметь

место изменение микровязкости мембранных липидов [14, 256, 550, 551]. Микровязкость липидов зависит от  $E_m$  нелинейно. Это выражается в том, что с увеличением  $E_m$  (особенно за пределами 120 мВ) крутизна данной зависимости прогрессивно растет [550, 551]. На наш взгляд, учет этого обстоятельства при рассмотрении событий, протекающих на мембранном уровне, для высших растений особенно важен, поскольку  $E_m$  их клеток характеризуются, как уже отмечалось, высокой абсолютной величиной (обычно более 120 мВ). Во-вторых, под влиянием трансмембранного электрического поля наблюдается явление электрострикции (электромеханического сжатия липидного бислоя), обнаруженное, в частности, и на растительных мембранах [91, 141, 197, 298, 300]. Степень электрострикции, как было показано на плазмалемме хары [298, 300], растет с увеличением температуры.

Инициированные потенциалом изменения микровязкости мембранных липидов способны вовлекать в сферу своего влияния мембранные белки. В частности, именно этим может быть объяснено наличие потенциалзависимости встраивания латротоксина в бислойную фосфолипидную мембрану, показанное в опытах А.Н.Чантурия и В.К.Лишко [266]. Что касается влияния потенциалиндуцированных изменений в липидном бислое на белок-белковые взаимодействия, то, по мнению С.В.Конева и Г.В.Калера [120],  $E_m$  через регуляцию упорядоченности бислоя способен повышать эффективность таких взаимодействий.

Влияние  $E_m$  на структуру мембраны представляет один из наиболее важных путей, которым электрическая полярность может регулировать протекание многих мембранных процессов. Наиболее отчетливо это выявляется в отношении процессов мембранного транспорта. Конечно, если говорить о транспорте заряженных веществ (ионов), то электрическое поле может непосредственно действовать на него через электрофоретическую компоненту трансмембранного переноса. Однако поскольку такой перенос осуществляется в конкретных структурных условиях, то и в этом случае влияние  $E_m$  на структуру оказывается иногда решающим.

При пассивном мембранном транспорте структурная опосредованность действия  $E_m$  может проявляться, по-видимому, по-разному для разных его типов. Так, каналный транспорт, как известно, в сильной степени зависит от энергетического профиля канала, который, в свою очередь, определяется его структурными особенностями. Изменение структурного состояния канальных белков под влиянием  $E_m$  на мембране (прямым или косвенным) должно привести к изменению его энергетического профиля. В результате может увеличиться или уменьшиться интенсивность транспорта через канал. Интересно, что при этом следует ожидать также иных условий и для непосредственного электрофоретического влияния  $E_m$  на передвижение заряженных частиц в канале [231].

Не подлежит сомнению вероятность действия структурных изменений в мембране под влиянием  $E_m$  на такие способы пассивного транспорта, как кинковая проводимость и перенос с участием

переносчиков (облегченная диффузия). Однако экспериментальные данные в этом направлении практически отсутствуют.

Особенно важен анализ влияния  $E_m$  на процессы первичного активного транспорта, которые играют решающую роль в энергизации мембран путем создания соответствующих электрохимических градиентов. Из двух основных систем, обеспечивающих протекание этих процессов — транспортных АТФаз и ЭТЦ, определенные сведения по данному вопросу имеются относительно первой системы. Идея о том, что транспортные АТФазы, являясь электрогенными молекулярными машинами, по принципу обратной связи должны находиться под контролем мембранного потенциала, успешно разрабатывается в последние годы [367]. Однако она еще не получила достаточно полного обоснования.

Влияние  $E_m$  на работу транспортных АТФаз возможно, с одной стороны, через изменение состояния липидной фазы мембраны, поскольку липидное окружение играет исключительно важную роль в работе этих ферментов [27, 81, 416], в том числе и у высших растений [553]. В то же время необходимо иметь в виду вероятность непосредственного действия мембранного потенциала на конформационную подвижность транспортных АТФаз.

Потенциалзависимость транспортных АТФаз подтверждается прежде всего в экспериментах по влиянию внешних электрических полей. Так, например,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФаза под влиянием электрического поля может осуществлять конформационный переход из калиевой формы в натриевую [587] и использовать энергию поля для транспорта ионов даже без участия АТФ [290]. В связи с этим был введен термин — "электроконформационное сопряжение" [290, 670].

Однако не только внешние электрические поля, но и поля, создаваемые  $E_m$  самой мембраны, могут влиять на работу транспортных АТФаз. Для  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазы зависимость от  $E_m$  носит линейный характер, что свидетельствует о наличии в реакционном центре данного фермента одной, связанной с потенциалом стадии [367]. На фосфолипидных везикулах со встроенной  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазой при варьировании мембранного потенциала с помощью градиента ионов  $\text{K}^+$  в присутствии валиномицина показано, что такой потенциалзависимой стадией является, по-видимому, конформационный переход  $\text{E}_1\text{P}(3\text{Na}^+) \rightarrow \text{E}_2\text{P}(3\text{Na}^+)$ , связанный с переносом трех ионов  $\text{Na}^+$  через мембрану [403, 599].

Существенно, что зависимость работы транспортных АТФаз от мембранного потенциала имеет известные пределы. Выше определенной величины  $E_m$ , которая может быть разной у разных объектов, работа помпы прекращается [367, 518]. Наряду с другими факторами эта особенность работы транспортных АТФаз обеспечивает, по-видимому, предупреждение чрезмерной гиперполяризации мембраны. Потенциалзависимость транспортных АТФаз растительных клеток, по существу, не исследована, хотя отдельные положительные указания на этот счет имеются как для высших растений [509], так и для харафитов [305, 470].

Если регуляторная роль  $E_m$  в работе первичных электрогенных систем активного транспорта осуществляется скорее всего по принципу "обратного контроля", то для процессов вторичного активного транспорта следует, по-видимому, признать прямой эффект  $E_m$ . Он состоит в том, что вторичные системы лишь реализуют электрическое поле, генерируемое преимущественно первичными системами. Условно следует различать два аспекта такой реализации. Первый является термодинамическим и состоит в том, что энергия электрического поля используется для движения через мембрану заряженных комплексов в соответствии с компонентой  $e^{-Em/FRT}$ . Второй аспект является скорее кинетическим и связан с влиянием электрического поля на конформацию переносящей системы, что отражается на ее сродстве к переносимым веществам и соответственно скорости переноса их через мембрану.

Участие  $E_m$  во вторичном активном транспорте веществ через мембрану подтверждается большим количеством исследований, выполненных разными авторами и на самых разных объектах. Однако особенно перспективным в этом плане оказалось использование везикул изолированных мембран. Ситуация в данной системе значительно проще, чем в целой клетке, и, кроме того, она позволяет искусственно менять условия переноса — величину электрохимических градиентов тех или иных ионов, соотношение внешних и внутренних концентраций транспортируемых веществ, наличие или отсутствие энергодающих систем и т.д.

Было показано, что в принципе (в модельных условиях) во вторичном активном переносе может участвовать как пассивная, так и активная компонента мембранного потенциала. Так, в опытах нашей лаборатории [101] вторичный активный транспорт сахарозы в везикулах плазматических мембран клеток флоры борщевика, оцениваемый по изменению светопропускания суспензии везикул, наблюдался в отсутствие АТФ под влиянием диффузионного калиевого потенциала, создаваемого на мембране градиентом ионов  $K^+$  в присутствии валиномицина (рис.19). Эти эксперименты прямо свидетельствуют об участии  $E_m$  во вторичном активном транспорте. Результаты в пользу такого заключения получены недавно и в других лабораториях [484].

Однако в целой клетке, когда мембрана "подключена" к соответствующим системам, обстановка значительно сложнее. В этих условиях решающее значение во вторичном активном переносе имеет, по-видимому, метаболическая составляющая  $E_m^r$ , создаваемая протонной помпой [595]. При этом в цепь событий включается ряд регуляторных звеньев, позволяющих, с одной стороны, поддерживать  $E_m^r$  во время транспорта на определенном уровне, а с другой — отключать транспорт при неблагоприятном отклонении системы от стационарных условий.

Если говорить о плазмалемме, то необходимость поддержания на ней  $E_m$  во время вторичного транспорта обусловлена тем, что

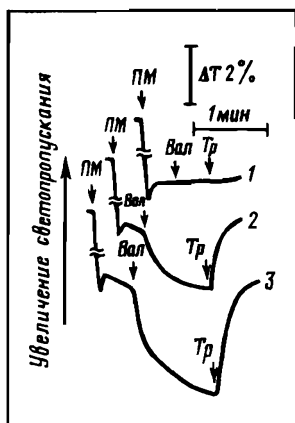


Рис. 19. Изменение светопропускания везикул плазматических мембран, выделенных из флоры борщевика, с сахарозой при генерации  $K^+$ -диффузионного потенциала [101]

Среда инкубации: 25 мМ МЭС-трис, pH 6,0; сахароза и  $K_2SO_4$ . Концентрация сахарозы,  $K_2SO_4$  и значения потенциала соответственно равны: 1 — 242,5 и 5 мМ, 0 мВ; 2 — 212,5 и 25 мМ, 41 мВ; 3 — 25 и 150 мМ, 87 мВ; pH внутри везикул 6,0, концентрация  $K_2SO_4$  — 5 мМ.

Стрелки показывают момент введения в среду фракции везикул (ПМ), валяномицина (Вал) и тритона X-100 (Тр)

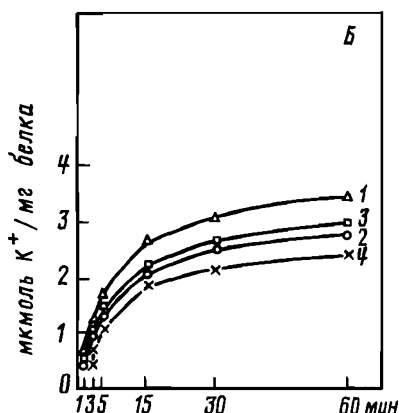
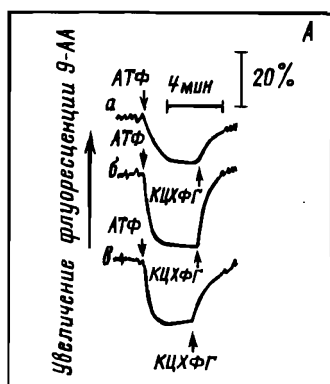


Рис. 20 Влияние ионов  $K^+$  на АТФ-зависимое изменение флуоресценции 9-аминоакридина при генерации  $\Delta pH$  в везикулах плазматических мембран клеток флоры борщевика (А) и кинетика  $K^+$  из везикул при добавке АТФ и в присутствии ингибиторов (Б) [100]

а — диализованные везикулы, среда инкубации: 25 мМ трис-НСl, pH 6,0; 3 мМ  $MgCl_2$ ; 50 мМ KCl,  $5 \cdot 10^{-6}$  М 9-аминоакридин; б — диализованные везикулы, среда инкубации та же, что и в а, + 0,1 мМ валяномицина; в —  $K^+$ -обогащенные везикулы (50 мМ KCl), среда инкубации та же, что и в а, без KCl. 1 — АТФ, 2 мМ; 2 — контроль; 3 — АТФ+ДЦД ( $10^{-4}$  М; 4 — АТФ+ТЭА ( $5 \cdot 10^{-3}$ )).

практически для всех веществ он протекает с участием комплекса вещество—переносчик (ES), имеющего, как правило, положительный заряд. Последний возникает в результате протонирования ES и образования  $ESH^+$ . Исключение составляют лишь некоторые соединения, например основные аминокислоты, перенос которых осуществляется в виде положительно заряженного комплекса  $ES^+$  без симпорта с протоном и носит унипортный характер [451, 467]. Таким образом, во время вторичного транспорта через плазмалемму

растений происходит диссипация  $E_m$ . Это выражается в деполяризации мембраны.

Факт деполяризации плазмалеммы при вторичном транспорте сахаров и других веществ неоднократно показан на самых разных растительных объектах и разными методами [393, 468, 489, 491, 595]. Однако существенно, что деполяризация носит, как правило, кратковременный характер и сменяется реполяризацией. В результате  $E_m$  выходит на уровень, близкий к первоначальному. Причина реполяризации не представляется окончательно выясненной. Наиболее простой путь считать, что по принципу обратной связи закисление цитоплазмы в результате симпортного переноса протона активирует протонную помпу, что приводит к устранению деполяризации. Однако, как показали эксперименты, реполяризация начинается раньше, чем прекращается защелачивание наружного раствора. Это наводит на мысль, что кроме протонной помпы в процесс регулирования  $E_m$  при вторичном транспорте вовлечены и другие, возможно, более лабильные процессы. К числу последних следует отнести прежде всего компенсационный диффузионный выход  $K^+$  из клетки. Не подлежит сомнению, что этот процесс должен протекать значительно быстрее, чем активация ферментных систем, входящих в состав протонного насоса.

В связи с этим необходимо отметить, что роль  $K^+$  в мембранном транспорте веществ, в частности сахаров, давно обсуждалась в литературе [595], но не нашла пока четкой интерпретации. Хотя значение  $K^+$  как иона, компенсирующего изменение заряда поверхностной мембраны при вторичном транспорте, признается рядом авторов [316, 366], характер сопряжения потока этого иона с работой протонной помпы и вторичных систем транспорта веществ недостаточно ясен. По нашим данным, роль  $K^+$  в этих процессах весьма неоднозначна.

С одной стороны,  $K^+$  может входить внутрь клетки по  $E_m$ , создаваемому протонной помпой. В результате происходит конверсия  $E_m$  на мембране в  $\Delta pH$ , определенная величина которого необходима для нормального функционирования вторичных транспортных систем. Это подтверждается экспериментами, в которых в присутствии  $K^+$  и валиномицина на везикулах плазматических мембран флоры борщевика генерировался значительно больший АТФ, зависимый градиент рН, чем в контроле ( $K^+$  без валиномицина), а выход  $K^+$  из везикул (соответствует входу  $K^+$  в клетку, так как везикулы вывернуты) значительно ускорялся в присутствии АТФ, причем ДЦКД снижал этот эффект (рис.20) [100, 101, 184].

С другой стороны,  $K^+$  может выходить из клеток при электрогенном вторичном активном транспорте, обеспечивая компенсационный вынос заряда и устраняя возникшую деполяризацию. Эта роль  $K^+$  отчетливо прослеживается в экспериментах по вторичному транспорту сахарозы из везикул флоры борщевика [101]. Выход сахарозы из везикул (соответствует входу в клетку) происходит

значительно интенсивнее в условиях, когда может осуществляться компенсационный транспорт  $K^+$ . И наоборот, если создать условия для вторичного транспорта сахарозы из везикул (соответствует входу в клетку), а именно ввести в среду АТФ для генерации  $\Delta\bar{\mu}H^+$  первичной системой, что наблюдается увеличение концентрации  $K^+$  внутри везикул.

Принципиально важный вопрос состоит в том, является ли сопряжение потока  $K^+$  с первичной и вторичной транспортными системами прямым или косвенным. Если судить по нашим данным, это сопряжение может носить косвенный характер. В описанных выше опытах компенсационные потоки  $K^+$  значительно блокировались блокатором калиевых каналов ТЭА (см. рис. 20). Это позволяет говорить о наличии на плазмалемме компенсационного диффузионного калиевого русла, общего как для протонной помпы, так и для вторичных транспортных систем. Таким образом, интегральный калиевый поток через эту мембрану есть отражение взаимодействия первичных и вторичных транспортных систем. Существование такого взаимодействия подтверждают результаты опытов нашей лаборатории, в которых при наличии активного вторичного транспорта сахарозы наблюдалась стимуляция активности  $H^+$ -АТФазы плазматических мембран флоридина борщевика по сравнению с контролем (без вторичного транспорта сахарозы) или с вариантом, где вместе с сахарозой находился флоридзин [273].

Все сказанное соответствует положению о том, что  $K^+$  является высоко подвижным ионом в клетке и выполняет важную электрохимическую роль. Наряду с этим высказываются соображения о более конкретном значении  $K^+$  во вторичном транспорте веществ через плазмалемму. В частности, предполагается, что  $\Delta\bar{\mu}K^+$  может играть самостоятельную роль в транспорте сахаров и аминокислот, особенно при высоких рН снаружи, когда ион  $K^+$  начинает, как полагают, конкурировать с протоном за места связывания на переносчике. Однако эта гипотеза не получила экспериментального развития [595].

Говоря о роли  $E_m$  во вторичном транспорте через плазмалемму, следует учитывать, что эта компонента является составной частью электрохимических градиентов ионов на мембране, и в первую очередь  $\Delta\bar{\mu}H^+$ , создаваемого протонными насосами. Поскольку  $\Delta\bar{\mu}H^+$  наряду с электрической ( $E_m$ ) включает химическую составляющую ( $\Delta pH$ ), то встает отдельный вопрос о соотносительной роли этих компонент во вторичном активном транспорте.

С термодинамической точки зрения обе эти компоненты должны быть равноценны. Это не только вытекает из концепции Митчела, но и подтверждается экспериментально. Так, если искусственно создать на мембране везикул из плазмалеммы флоридина борщевика  $E_m$  или  $\Delta pH$ , примерно равные в энергетическом отношении, то в обоих случаях наблюдается сходный выход сахарозы из везикул [101, 457].

Однако данное обстоятельство не означает, что  $E_m$  и  $\Delta pH$  играют одинаковую конкретную роль во вторичном транспорте. В этом слу-

чае речь должна, очевидно, идти не столько об энергетическом (силовом), сколько о кинетическом аспекте их действия, т. е. о влиянии на те конкретные механизмы, которые лежат в основе вторичного переноса и которые прежде всего связаны со структурным состоянием как самой мембраны, так и транспортирующей системы.

Эта специфическая роль как  $E_m$ , так и  $\Delta pH$  проявляется в ряде признаков. Так, во-первых, одно и то же в энергетическом отношении значение каждого из обоих градиентов при различных условиях может иметь различное влияние на вторичный транспорт. Например, по нашим данным, полученным на везикулах плазматических мембран флоры борщевика [101], при значении  $\Delta pH$  1,5 вторичный транспорт сахарозы оказывается большим, когда внутри везикул  $pH$  6,0, а снаружи 7,5, чем когда внутри везикул  $pH$  7,5, а снаружи 9,0.

Во-вторых, в зависимости от конкретной обстановки, в которой протекает вторичный транспорт, например при разных  $pH$  среды, доминирующее значение может иметь электрическая или химическая компонента  $\Delta \mu H^+$  [101, 656].

Наконец, в-третьих, изменение  $E_m$  или  $\Delta pH$  может привести к неадекватным изменениям вторичного транспорта с энергетической точки зрения. Так, по данным [294], при действии на клетки ряски проникающих слабых кислот наблюдается гиперполяризация плазматической мембраны, т. е. увеличение  $E_m$ , однако процессы вторичного

транспорта аланина и фосфата уменьшаются. Авторы связывают этот факт с закислением цитоплазматического  $pH$ .

Последнее обстоятельство наряду с данными [595] наводит на мысль о том, что роль энергетических градиентов во вторичном транспорте определяется не только их абсолютными значениями, но и пороговыми величинами соответствующих показателей ( $E_m$  или  $pH$ ). Поэтому, например, спор о том, что важнее для вторичного транспорта —  $\Delta pH$  или абсолютные значения  $pH$  внутри или снаружи клетки [251, 294], в известном отношении лишен смысла. Важны по-видимому, оба условия, но проявляются они в конкретных сочетаниях. Так, вполне достаточные в энергетическом плане градиенты  $pH$  могут не вызывать вторичного транспорта, если при этом цитоплазматический  $pH$  будет ниже 6,0 [595]. Можно допустить, что определенные пороговые значения существуют и для влияния на вторичные транспортные системы электрических градиентов на мембране. Картина становится еще более сложной, если учесть наложение эффектов электрической и химической компонент  $\Delta \mu H^+$ . По данным [656], изменение  $E_m$  влияет на вторичный транспорт сахаров в щелочных средах, но не влияет в кислых. Наличие пороговых значений  $E_m$  и  $pH$  подводит к конкретным механизмам действия  $E_m$  и  $\Delta pH$  на вторичный транспорт.

Поскольку вторичный активный транспорт веществ через плазмалемму высших растений осуществляется на белковых переносчиках в симпорте с  $H^+$ , то механизм действия компонент  $\Delta \mu H^+$  на вторичный транспорт веществ следует, вероятно, увязывать со строением и

принципами работы этих переносчиков. К сожалению, имеющиеся в этом отношении данные для высших растений скудны. Лишь в последнее время в нашей лаборатории удалось выделить из плазматических мембран флоры борщевика полипептиды с молекулярной массой 42 и 116 кД, которые являются, по-видимому, компонентами соответственно переносчиков сахарозы и глюкозы [272]. Примечательно, что полипептид с молекулярной массой 42 кД, входящий в состав переносчика сахарозы, выделен недавно также из плазматических мембран конских бобов [568]. Известна высокая специфичность переносчиков у растений, которая может доходить до уровня стереоспецифичности [382], а также важная роль SH-групп в осуществлении связи переносчика с переносимым веществом [366, 475, 489].

Предварительные результаты, полученные в нашей лаборатории В.А.Калининым и И.М.Швец, дают основания полагать, что участки переносчика, комплементарные переносимому веществу, включают SH-группы, а сам перенос вещества связан с изменением конформационного состояния переносящей системы. В соответствии с этим можно допустить, что кинетические аспекты действия  $E_m$  на вторичный транспорт обусловлены прежде всего его влиянием на конформационное состояние переносчика или его активных участков. О том, что такое влияние в принципе возможно, свидетельствуют данные, полученные на переносчике лактозы *E. coli* [683]. Встроенный в фосфолипидную мембрану, он мог уменьшать  $K_m$  для лактозы в 7—10 раз при соответствующем изменении  $E_m$  на мембране. Для высших растений аналогичных данных пока нет.

Влияние  $E_m$  на конформационное состояние переносчика или его активных участков объясняет наличие пороговых значений  $E_m$  для вторичного транспорта. Можно допустить, что только в определенном интервале значений  $E_m$  конформационное состояние переносящей системы обеспечивает функцию переноса.

В рассматриваемом аспекте остается, однако, не совсем ясной роль протонирования—депротонирования переносчика при осуществлении вторичного транспорта. Вероятно, эти процессы обеспечивают не только смену заряда переносчика, что важно для электрофоретического переноса, но, как и  $E_m$ , оказывают влияние на его конформационное состояние. По-видимому, протонирование—депротонирование на разных сторонах мембраны наряду с  $E_m$  является фактором, регулирующим изменение сродства переносчика к транспортируемому веществу. При этом существенно отметить, что вторичный транспорт, как было указано выше, может идти только под влиянием  $E_m$  или  $\Delta\mu\text{H}^+$  [101]. Требуются дальнейшие исследования, чтобы установить, в какой мере эти данные, полученные на везикулах плазматических мембран, применимы к нативным мембранам, и в какой мере обе компоненты  $\Delta\mu\text{H}^+$  являются взаимозаменяемыми.

Ранее уже отмечалось, что понимание конкретной роли  $E_m$ , а так-

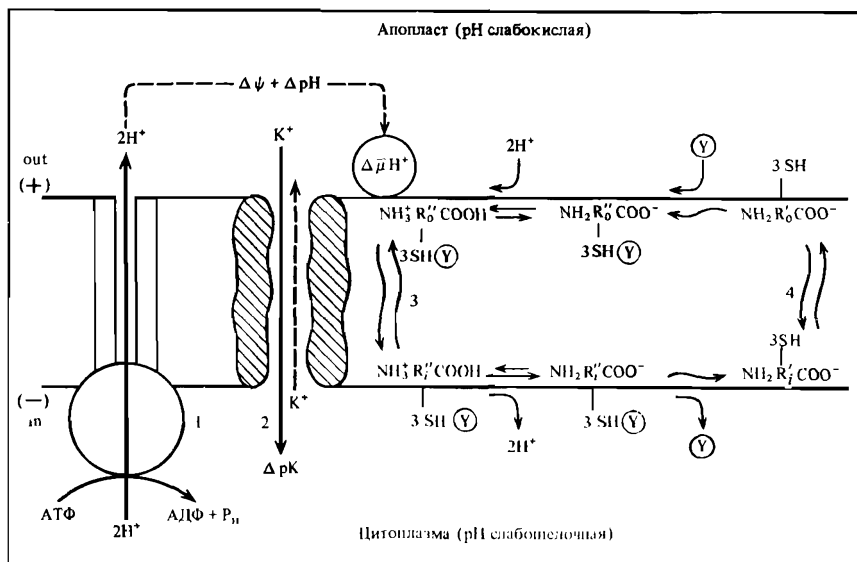


Рис. 21. Схема котранспорта сахаразы и  $H^+$  через плазмалемму клеток высших растений на переносчике с изменяющимся зарядом поверхностных аминных и карбоксильных групп [В.А. Калинин — неопубликованные данные]

1 — электрогенная  $H^+$  - помпа; 2 — электрофоретический перенос  $K^+$  через канал; 3 — транслокация сахаразы (Y) в комплексе с положительно заряженным протонированным переносчиком в результате его трансмембранного перемещения или конформационной перестройки за счет  $\Delta\mu H^+$ ; 4 — транслокация свободного отрицательно заряженного переносчика за счет  $E_m$ ;  $R'_0, R''_0$  — различные конформационные формы переносчика сахаразы на внешней стороне плазмалеммы;  $R'_i, R''_i$  — различные конформационные формы переносчика на внутренней стороне плазмалеммы

же  $\Delta pH$  во вторичном транспорте в сильной степени связано с раскрытием основных принципов работы вторичных транспортных систем. Широко распространенное представление о мигрирующих внутри мембраны заряженных переносчиках при ближайшем анализе встретит, вероятно, ряд существенных осложнений, связанных как со скоростью переноса, так и его термодинамическими ограничениями. Поэтому весьма перспективен анализ моделей, в которых переносчик — интегральный белок, полипептидная цепь которого несколько раз пересекает мембрану. Ряд сегментов этой цепи образует гидрофильный канал. Некоторые сегменты выступают над мембраной с ее наружной и внутренней стороны. Переносчик может находиться в разных конформационных состояниях, переходы между которыми сопровождаются акцептированием вещества с одной стороны мембраны, переносом его в гидрофильном канале и десорбцией с другой стороны. Подобный принцип работы описан, например, недавно для переносчика глюкозы в мембранах эритроцитов человека [686].

Не предопределяя детали принципа работы вторичных систем активного транспорта, приведем схему, учитывающую некоторые изло-

женные выше особенности их работы (рис. 21). Эта схема относится к транспорту веществ (в частности, сахарозы) через плазмалемму. Для тонопласта она будет иметь некоторые отличия в связи с иной ситуацией на мембране и антипортным по отношению к протону характером переноса ряда веществ.

Говоря о роли  $E_m$  на мембране в транспортных процессах, нельзя не отметить их возможную роль в передвижении веществ на далекие расстояния во флоэме высших растений и в связи с этим о явлениях электроосмоса. Мысль о том, что в передвижении ассимилятов и других веществ важную роль могут играть разности электрических потенциалов на мембранах проводящих тканей, неоднократно высказывалась в литературе. Она отчасти косвенно подтверждалась многочисленными опытами с пропусканием слабых электрических токов, а также с применением приема шунтирования. Последний был разработан и обоснован нами [183, 545] и состоит в приложении к поверхности ткани индифферентного материала, смоченного слабым сбалансированным раствором электролитов. Четкая прямая зависимость интенсивности передвижения веществ и разности потенциалов в шунтируемом участке от электропроводности приложенного шунта свидетельствовала в пользу участия биопотенциалов в дальнем транспорте. Высказывались различные соображения о конкретных механизмах участия биопотенциалов в передвижении веществ во флоэме. Наиболее широко обсуждался в свое время электроосмотический механизм, который, как известно, описывается уравнением

$$V = \frac{\epsilon}{4\pi\eta} \frac{\Delta\psi}{\Delta x} \zeta, \quad (11)$$

где  $V$  — скорость электроосмоса;  $\frac{\Delta\psi}{\Delta x}$  — градиент внешнего электрического поля;  $\epsilon$  — диэлектрическая проницаемость среды;  $\eta$  — вязкость среды;  $\zeta$  — электрокинетический потенциал. Предполагалось, что в соответствии с этим уравнением во флоэме имеются необходимые условия для его осуществления: 1) капиллярные структуры в ситовидных трубках, которые представлены микрофибриллами и микрофиламентами [519]; 2) существование на поверхности капиллярных структур электрокинетического потенциала, который согласно имеющимся данным для микрофибрилл и микрофиламентов ситовидных трубок должен иметь отрицательный знак [696]; 3) градиент электрического потенциала по длине капиллярных образований. Его, как полагают, могут создавать мембранные потенциалы на ситовидных пластинках, кстати замеренные экспериментально с помощью микроэлектродов [317]. Предполагалось, что в генерации этих мембранных потенциалов важную роль играет циркуляция ионов  $K^+$  [644].

Электроосмотическая концепция флоэмного транспорта подверглась детальному обсуждению и основательной критике [499, 671]. Были сделаны довольно успешные попытки усовершенствовать ее [387, 422]. Однако в дальнейшем эта концепция не получила серьезного раз-

вития, что можно связать в первую очередь с большими трудностями, возникшими при изучении механизмов флоэчного транспорта. Тем не менее есть надежда, что новые факты, установленные в последнее время, в частности обнаружение в плазматических мембранах ситовидных трубок высокоактивной электрогенной протонной помпы [693], позволит с новых позиций подойти к оценке возможности существования электроосмотической компоненты флоэчного транспорта.

По-видимому, более простая ситуация складывается относительно роли электроосмоса в транспорте воды и растворенных веществ не в специализированных ситовидных трубках, а через поры клеточных мембран. Несомненность существования этого механизма в клетках растений утверждалась Д.А.Сабининым [232] и впоследствии обосновывалась другими исследователями [677]. Однако конкретный вклад, который может вносить электроосмос в процессы мембранного транспорта, остается пока неясным.

В заключение этой главы наметим еще некоторые аспекты участия  $E_m$  в функционировании клеток высших растений. Сюда следует отнести влияние  $E_m$  на активность мембраносвязанных ферментов. В связи с вопросами активного транспорта выше обсуждалось такое влияние на транспортные АТФазы. Однако следует ожидать, что и другие ферментные системы могут регулироваться  $E_m$ . К сожалению, в этом направлении имеются лишь единичные наблюдения. Так, например, на мембранных везикулах, полученных из развивающихся волокон хлопка, установлено возрастание активности  $\beta$ -глюкансинтазы в 4-12 раз при повышении величины  $E_m$  путем увеличения градиента  $K^+$  в присутствии валиномицина [292]. В связи с этим обращает на себя внимание тот факт, что активность данного фермента в мембране клеток высших растений в сильной степени регулируется состоянием ближайшего липидного окружения [688]. В то же время четко показана зависимость микровязкости липидов вблизи белковых субъединиц в мембране от величины  $E_m$  [256].

Нельзя не упомянуть еще один важный аспект функциональной значимости  $E_m$ . Речь идет о механизме действия фитогормонов. Влияние фитогормонов на электрическую полярность мембран клеток растений хорошо известно (см. раздел 6). Оно связано прежде всего с их действием на системы первичного активного транспорта, в частности, на  $H^+$ -АТФазу [202, 507]. Поскольку точкой приложения фитогормонов являются соответствующие рецепторные белки, то, как уже отмечалось выше (раздел 6), изменение активности  $H^+$ -АТФазы под влиянием этих соединений носит не прямой, а опосредованный характер. Тем не менее именно сдвиг величины  $\Delta\bar{\mu}H^+$  на мембране составляет важное звено в механизме их действия. Причем если до недавнего времени основное внимание здесь уделялось химической компоненте  $\Delta\bar{\mu}H^+$ , т.е.  $\Delta pH$  ("теория кислого роста"), то в последнее время все большее внимание начинает привлекать электрическая

компонента ( $E_m$ ). Высказывается соображение, что в ряде случаев  $E_m$  может принадлежать ведущая роль в фитогормональном эффекте [375, 444]. Это неудивительно, если учесть изложенную выше многообразную и важную роль, которую играет электрическая полярность в протекании многих мембранных процессов, а также в передаче информации от поверхности мембраны внутрь клетки [483]. Вместе с тем существенно, что величина электрической полярности мембраны, в свою очередь, может в сильной степени определять характер действия фитогормонов. Так, по данным [147], влияние кинетина на  $E_m$  нителлы может быть противоположным в зависимости от его исходной величины. По-видимому, этот феномен связан с разным исходным состоянием электрогенных мембранных систем, что отражается на характере их регуляторных ответных реакций при действии фитогормона.

Наконец, следует отметить весьма интересный аспект роли  $E'_m$  в жизнедеятельности растительной клетки, связанный с организующей ролью создаваемых ими электрических полей. Наличие таких полей вокруг отдельных органов и тканей растения — хорошо известный факт [204]. Их регистрация проводилась разными способами, в том числе и бесконтактным [275, 621]. Несмотря на то, что напряженность их обычно очень невелика, высказывались соображения о том, что эти поля могут создавать своеобразную силовую матрицу, в соответствии с которой осуществляется рост и развитие отдельных органов и тканей растений. Эта заманчивая идея получила некоторое экспериментальное подтверждение в опытах по влиянию электрических полей одних растительных объектов (например, семян) на морфогенез других [205]. Используется этот подход и при изучении морфогенеза животных организмов [204]. Однако в целом данный вопрос требует в дальнейшем более глубокой проработки с привлечением соответствующих методов исследования.

# ПОТЕНЦИАЛЫ ДЕЙСТВИЯ У ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ

## 9. ТИПЫ ИМПУЛЬСНОЙ ЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ У ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ

Импульсная электрическая активность является одним из характерных свойств живой ткани. Условия, которые изменяют физиологическое состояние последней, способны вызвать не только изменения уровня стационарного мембранного потенциала, но и переходные релаксационные процессы. Как правило, форма колебаний  $E_m$ , возникающих при этом, резко отличается от гармонических колебаний. Отсюда термин "импульсная электрическая активность".

Будучи в определенной степени связанной с физиологическими процессами, импульсная электрическая активность растений не является тем не менее пассивным их отражением. Напротив, она играет самостоятельную роль, передавая сигналы об изменениях в среде и вызывая ответ на эти изменения.

Следует отметить, что важная роль в жизнедеятельности высших растений должна, по-видимому, принадлежать и самопроизвольным отклонениям биопотенциалов от среднего уровня. Теоретически обосновывается, что такого типа микрофлуктуации являются триггерами самоорганизации, определяющими поведение макросистем при выборе возможных стационарных состояний [149]. Можно думать, что в электрофизиологических исследованиях на высших растениях спонтанной импульсной электрической активности будет уделяться должное внимание. Определенная тенденция в этом направлении уже наметилась.

Пока не существует четкой и полной классификации импульсной электрической активности в тканях и клетках высших растений. Можно уверенно выделить по крайней мере три типа этой активности.

Потенциалы действия — импульсные электрические ответы на надпороговое раздражение. Сюда же включаются ритмические ПД. ПД высших растений можно разделить на распространяющиеся, т.е. передающиеся с клетки на клетку в пределах органа или ткани, и местные, передающиеся в пределах только раздражаемых клеток. Близок к ПД локальный потенциал. Он отличается от ПД тем, что является местной или быстро затухающей при распространении импульсной электрической реакцией, градуально зависимой от интенсивности внешнего воздействия.

Вариабельные потенциалы — специфические биоэлектрические реакции высших растений на повреждающие воздействия, распространение которых поддерживается, по крайней мере частично, диффузией некоей возбуждающей "раневого" субстанции. По

форме переменный потенциал отличается от ПД длительной нерегулярной нисходящей ветвью импульса.

Микроритмы — ритмическая электрическая активность в микровольтовом (десятки-сотни микровольт) диапазоне амплитуд.

Из иных форм импульсной электрической активности высших растений, относительно мало изученных, но которые, можно полагать, не входят в три указанных типа, следует отметить "быструю волну", обнаруженную у мимозы, и распространяющиеся "сигналы гиперполяризации", найденные у традесканции.

## Потенциал действия

Под потенциалом действия обычно понимают изменение мембранного потенциала специфической формы, возникающее при возбуждении клеток.

Физический смысл ПД заключается в следующем. При вызванном каким-либо воздействием изменении  $E_m$  в отрицательную сторону или

при его слабом смещении в положительную сторону  $E_m$  сначала монотонно переходит на новый уровень, а затем, после устранения воздействия, также монотонно возвращается к исходному значению (рис. 22, А). Это так называемые электротонические, или пассивные, изменения  $E_m$ . Когда сдвиг  $E_m$  в положительную сторону превысит некоторый пороговый потенциал  $V_{th}$ , то начинается резкая спонтанная деполяризация входящим в клетку ионным током. При этом  $E_m$  может становиться положительным ("плюс" внутри), т.е. происходит реперполяризация мембраны (в таком случае говорят об "овершуте").

Смещение  $E_m$  достигает определенной величины  $E_m^*$ . Лишь затем  $E_m$  за счет выходящего ионного тока возвращается к исходному уровню  $E_m^I$ . Появление ионных токов действия определяется активацией

проводимости, т.е. открыванием возбудимых ионных каналов (рис. 22, Б), через которые по существующим в клетке градиентам электрохимических потенциалов идут пассивные диффузионные потоки заряженных частиц — катионов или анионов. Эта последовательность событий с некоторым запаздыванием повторяется в соседнем участке мембраны, поскольку электротонический потенциал распределяется вдоль клетки (нервного волокна, например) как вдоль обладающего утечкой кабеля. За счет этого происходит смещение  $E_m$  выше порогового уровня и как следствие — активация возбудимых ионных каналов на удалении от места воздействия. В наиболее общей форме распространение импульса описывается с помощью так называемого кабельного уравнения, определяющего распределение электротонического потенциала по длине клетки:

$$\frac{\partial^2 V(x,t)}{\partial x^2} = \frac{V(x,t)}{\lambda^2} + \frac{\tau_m}{\lambda^2} \frac{\partial V(x,t)}{\partial t}, \quad (12)$$

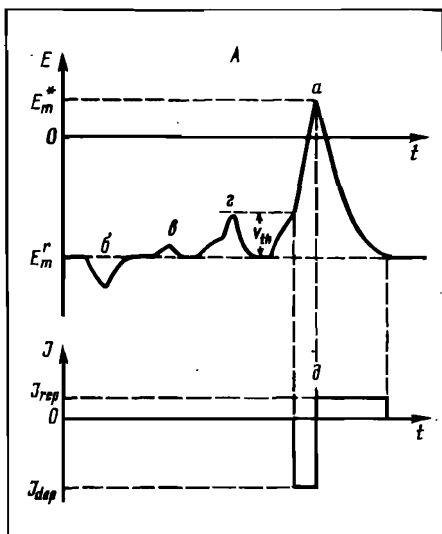
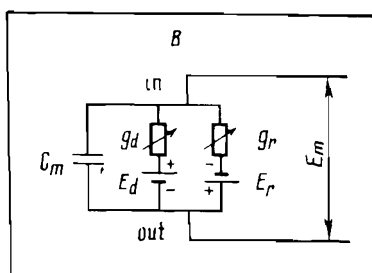
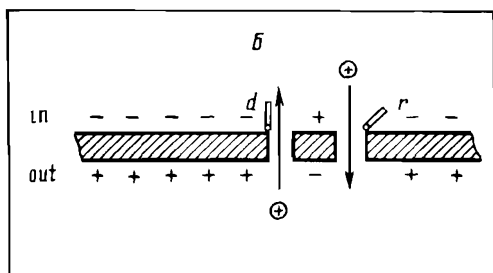


Рис. 22. Схема генерации импульса возбуждения на участке мембраны

А — изменение мембранного потенциала и ионного тока на участке возбудимой мембраны: а — потенциал действия, б — электротоническое смещение потенциала в сторону гиперполяризации, в — электротоническое смещение потенциала в сторону деполаризации, г — локальный ответ, д — ионный ток после того, как изменение потенциала достигло величины  $V_{th}$ , аппроксимирован двумя прямоугольными "столиками" [155],  $J_{dep}$  — деполаризующий ток,  $J_{rep}$  — реполаризующий ток; Б — схема переноса заряда через мембрану во времена ПД: д — "ворота" канала деполаризации, г — "ворота" канала реполаризации; В — эквивалентная схема участка мембраны:  $g_d, g_r, E_d, E_r$  — проводимости и ЭДС соответствующих ионных каналов



где  $V(x, t)$  — мембранный потенциал, отсчитанный от потенциала покоя (ось  $x$  направлена вдоль клетки);  $t$  — время;  $\lambda$  — кабельная постоянная, или характеристическая длина;  $\tau_m$  — постоянная времени мембраны. При этом  $\lambda^2 = R_m / (R_o + R_i)$ , где  $R_m$  — сопротивление мембраны;  $(R_o + R_i)$  — сумма сопротивлений внешнего раствора и внутренней среды клетки, приходящихся на единицу длины клетки;  $\tau_m = C_m R_m$ , где  $C_m$  — емкость мембраны. В соответствии с кабельной моделью электрический импульс распространяется не только в нервных или мышечных клетках, но и в клетках харовых водорослей [684].

Представления о том, что ПД является универсальным сигналом у всех живых организмов, в том числе и у высших растений, сформировались достаточно давно. Они соответствуют идеям, высказанным Дарвиным [78], отстаивались и обосновывались в работах Боса [29, 30], весьма конкретно формулировались и подтверждались экспериментально Хоувином [436], Лоу-Чень-Хо [143], Умратом [676]. Со

сравнительно-эволюционных позиций очень четко выразил мысль об универсальности ПД Х.С.Коштойнц [126].

В настоящее время многие исследователи полагают, что все растения в определенных условиях способны генерировать ПД. Есть и более осторожные оценки. По мнению Пиккард [570], хотя ПД распространены в растительном мире, они могут отсутствовать у некоторых видов. Данные, свидетельствующие о широте распространения ПД у высших растений, приведены в ряде обзоров [175, 240]. В них отмечается, что ПД зарегистрированы у тыквы, фасоли, подорожника, липы, кукурузы, гороха, подсолнечника, свеклы, а также у других растений — представителей семейств бобовых, выюнковых, молочайных, пасленовых, гречишных и др. Систематического анализа способности к генерации ПД в различных семействах никем, к сожалению, до сих пор не проведено.

Отмечая универсальность ПД, необходимо тем не менее подчеркнуть, что ПД высших растений проявляются все же весьма своеобразно. Они имеют очень растянутые временные параметры, зачастую осложняются другими электрическими явлениями. У большинства растений ПД не сопровождаются видимыми физиологическими эффектами. В одних случаях ПД распространяются на весьма значительное расстояние по тканям растения, а в других распространение фактически ограничено пределами раздражаемых клеток. Поэтому идентифицировать их как истинные ПД — далеко не тривиальная задача.

Попытаемся обосновать для начала принципиальную возможность (и правомочность) применения понятия "потенциал действия" к высшим растениям. Сделаем это, по возможности, на примере одного растения, которое в настоящее время принято рассматривать как стандартный лабораторный организм в области исследования возбудимости высших растений [601]. Это *Mimosa pudica* — мимоза стыдливая, широко введенная в практику фитоэлектрических исследований выдающимся индийским электрофизиологом Босом (1858-1937) [29,30].

Согласно обобщенному определению, наиболее характерные свойства, в соответствии с которыми быстрые регенеративные колебания  $E_m$  можно рассматривать как настоящий ПД, следующие: 1) способность к электрическому распространению; 2) возможность электрической стимуляции; 3) подчинение правилу "все или ничего"; 4) рефрактерность; 5) суммация отдельных подпороговых стимулов для запуска процесса; 6) возможность осцилляций [409].

Исчерпывающих доказательств электрического механизма распространения ПД у мимозы пока нет, но показано, например, в [631], что скорость проведения импульсов прямо пропорциональна электропроводности внеклеточной среды ( $I/R_0$ ). Это полностью согласуется с уравнением 12.

В экспериментах на черешке мимозы (рис. 23) ПД возникает (при раздражении электрическим током) по правилу "все или ничего". Многие другие стимулы также вызывают распространяющуюся

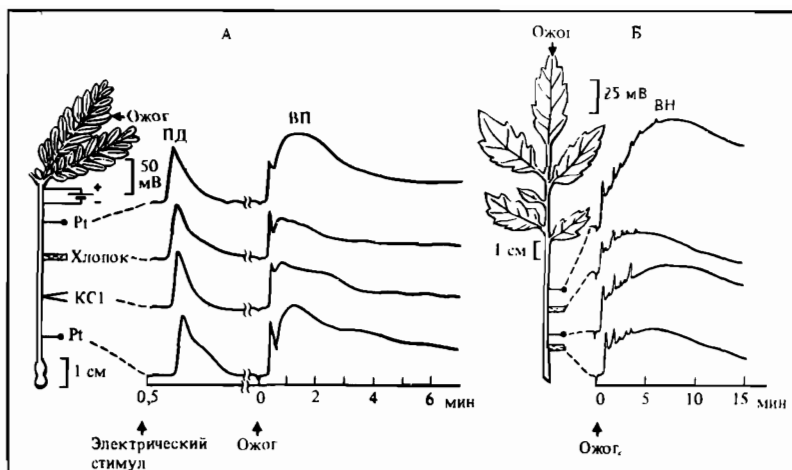


Рис. 23. Биоэлектрические реакции в черешках мимозы (А) и томата (Б), регистрируемые различными типами электродов [603]

электрическую реакцию в соответствии с этим правилом [601], но при соблюдении одного условия. Раздражающие стимулы не должны быть повреждающими. Особенности более сложной комплексной БЭР на повреждающие воздействия будут рассмотрены ниже.

Штекель и Пфирш [648] детально проанализировали рефрактерное состояние мимозы после ПД и установили, что и в этом отношении просматривается аналогия с нервным импульсом. Сразу после прохождения ПД невозможно вызвать повторный импульс (абсолютный рефрактерный период). За ним, как и в нерве, следует период относительной рефрактерности, когда ПД имеет меньшую амплитуду и скорость распространения.

Явление суммации подпороговых раздражений также имеет место у мимозы. Бос [29] подробно описал этот эффект еще в 1913 г.

Обладают клетки высших растений и потенциальной способностью к осцилляторному возникновению ПД. Эта способность, как следует из физических представлений, может проявляться в условиях полной компенсации потерь для колебательного процесса. Применительно к ПД растений указанное явление также впервые открыл Бос, правда, не на мимозе, а на другом локомоторном растении — биофитуме. При 35°, когда, по словам Боса [29], "имеет место поглощение избытка энергии", в листовой пластинке биофитума регистрируются серии электрических импульсов в ответ на такой раздражитель, который до этого при более низкой температуре вызывал обычный одиночный ответ.

Итак, можно считать, что электрические импульсы, возникающие у высших растений, в частности у мимозы, могут обладать всеми или почти всеми, характеристиками типичного ПД. При этом принципиальное отличие мимозы и других "чувствительных" растений от

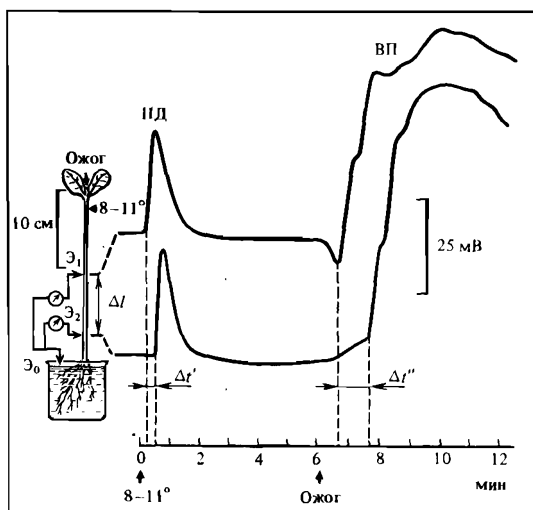


Рис. 24. Биоэлектрические реакции в гипокотиле проростка тыквы в ответ на умеренное охлаждение водой и последующий ожог, регистрируемые двумя хлор-серебряными электродами ( $\mathcal{E}_1$  и  $\mathcal{E}_2$ ) [192]

$\mathcal{E}_0$  — электрод сравнения

обычных растений не обладающих быстрыми локомоторными реакциями, заключается, по-видимому, лишь в их способности к совершению двигательного акта, а не в способности к генерации и проведению возбуждения в форме ПД. Проиллюстрируем последнее положение некоторыми экспериментальными данными.

На рис. 24 приведена запись БЭР, возникающей и распространяющейся в гипокотиле проростка тыквы в ответ на умеренное локальное охлаждение водой ( $8-11^\circ$ ) и последующий ожог пламенем, осуществленный в рефрактерный период после раздражения охлаждением [192]. Интересно сопоставить ее с записью БЭР черешка мимозы в близком по замыслу эксперименте Роблена [603], изображенном на рис. 23. За исключением характера выбранного умеренного раздражителя и некоторых деталей, касающихся параметров ПД и реакций, возникающих на повреждающее воздействие (вариабельного потенциала), сходство условий и, главное, результатов двух экспериментов налицо.

Можно заключить, что возникающие в ответ на физиологически умеренные неповреждающие внешние воздействия импульсные электрические реакции у высших растений, в том числе и у обычных растений, действительно можно охарактеризовать как ПД. Однако эти ПД, как уже отмечалось, имеют свои отличительные особенности, которые необходимо специально исследовать. ПД животных — одно из наиболее изученных биологических явлений. По ряду причин совершенно иное положение для ПД растений. Исключая, пожалуй, только гигантские клетки харовых водорослей, механизм генерации и даже феноменологические особенности ПД различных высших растений исследованы слабо.

## Вариабельный потенциал

В физиологии возбудимых систем у животных объектов различают два способа передачи возбуждения: электрический и химический. Первый осуществляется в форме ПД, второй — в форме постсинаптического потенциала за счет диффузии специфических веществ — медиаторов. ПД, как было указано, присущи и высшим растениям. Многочисленные электрофизиологические данные, полученные первоначально в основном на мимозе, позволяют полагать, что химический способ передачи возбуждения также имеет место у высших растений. Он проявляется в форме так называемого вариабельного потенциала.

ВП отличается от ПД изменчивой формой и амплитудой, способностью возникать в период абсолютной рефрактерности после ПД, способностью проходить через листовую подушечку (у мимозы) и меньшей скоростью распространения. Он возникает в ответ на повреждающие стимулы: разрезы, разрывы, разминание, ожоги химические и термические и т.п. Длительность ВП составляет десятки минут. Его амплитуда и длительность в определенных пределах градуально зависят от интенсивности (площади) повреждения. У локомоторных растений ВП, как правило, сочетается с ПД [601, 629, 632].

В специально посвященной ВП работе [603] показано, что в черешке мимозы, находящемся в рефрактерном состоянии после проведения ПД в ответ на неповреждающее электрическое раздражение (см. рис. 23), или в листовом черешке томата (без предварительной неповреждающей физиологически умеренной стимуляции) (рис. 23) возникающий на ожог ВП имеет две компоненты: спайковой формы компоненту А и нерегулярной формы компоненту В. Несмотря на то, что отмечается ряд сходных элементов между фазой А и ПД, автор считает, что компонента А все же не может быть охарактеризована как ПД, ибо ее амплитуда возрастает с увеличением интенсивности стимуляции и поэтому может быть интерпретирована только как подпороговый потенциал, связанный с первоначальным действием возбуждающей субстанции, освобождаемой при повреждении.

В наших экспериментах на проростках тыквы (см. рис. 24) также четко виден двухкомпонентный характер БЭР, распространяющейся от места ожога, нанесенного, как и в опыте Роблена (см. рис. 23), в рефрактерный период после ПД.

Наиболее характерное качество ВП — способность проходить через убитые ткани и даже через водный раствор, соединяющий полностью перерезанный стебель. Это явление обнаружил Рикка [600], который предположил, что распространяющееся возбуждение у высших растений имеет химическую природу, связанную с диффузией раневой субстанции (фактора Рикка).

В своей основе теория "раневого вещества" не лишена противоречий. Считается, что раневое вещество образуется в месте ранения и движется с транспирационным током. Однако базипетальная проводимость ВП (как на рис. 23 и 24) также имеет место. Можно допустить, что раневое вещество передвигается в русле дальнего транспорта в

обе стороны, но трудно связать со стационарными транспортными процессами градуальную зависимость скорости распространения ВП от величины повреждения.

Вопрос о путях проведения ВП тесно связан с вопросом о различии ВП и ПД. В работе, выполненной на стебле традесканции [265], показано, что скорость распространения ВП может быть рассчитана, исходя из следующего частного решения кабельного уравнения:

$$v = \sqrt{\frac{dV/dt}{\Delta VC_m(R_0 + R_i)}}, \quad (13)$$

где  $\Delta V$  — смещение потенциала в момент времени, когда  $dV/dt$  становится максимальной. При этом  $\Delta V$  соответствует  $V_{th}$ , т.е. порогу возникновения ПД. Авторами сделано заключение об электрическом, как и у ПД, механизме распространения ВП.

С приведенным выше доказательством трудно не согласиться, но оно касается, во-первых, лишь переднего фронта ВП и, во-вторых, не объясняет причин существенных различий между ПД и ВП. Пока более обоснованной является позиция Пиккард с соавторами [350, 570, 571, 679]. Согласно ей повреждение высвобождает раневое вещество, которое движется по сосудам проводящих тканей и, диффундируя по апопласту к окружающим живым клеткам, деполяризует их в соответствии с масштабами повреждения, т.е. пропорционально концентрации раневого вещества в русле дальнего транспорта. Таким образом генерируется ВП. Когда раневое вещество попадает в электровозбудимые ткани, то оно вызывает (если такие ткани есть) ПД, распространяющейся впереди ВП, но иногда и сливающийся с последним так, что различим лишь передний фронт ПД.

Если основываться на такой модели ВП, то можно заключить, что электрическая реакция на повреждение, очевидно, никогда не является химически индуцированным ВП в чистом виде, а всегда представляет собой комбинацию электрического и химического возбуждения. В тех растениях, органах или тканях, которые не могут в силу слабой межклеточной связи передавать ПД с клетки на клетку (о проведении ПД см раздел 13), импульсы ПД тем не менее могут возникать в отдельных клетках за счет деполяризующего раздражающего действия первых порций диффундирующего раневого вещества. Поэтому местные ПД или локальные ответы в тех случаях, когда масштабы повреждения невелики, должны определять формирование компоненты А переменного потенциала (по терминологии Роблена [603]). Эта компонента генерируется раньше компоненты В, т.е. собственно ВП, вызываемого непосредственно химическим воздействием, но не может "оторваться" и уйти вперед, поскольку не способна к самостоятельному распространению на далекие расстояния. Аналогичная ситуация наблюдается и у способных к межклеточной передаче ПД растительных объектов, но находящихся в рефрактерном состоянии (как в приведенных на рис. 23 и 24 примерах с мимозой и тыквой).

Что касается химической природы вещества (веществ), вызывающего ВП, то в обзоре Пиккард [570] говорится, что это соединение очень нестойкое и оно еще не идентифицировано. Тем не менее она отмечает, что некоторые авторы относят это соединение к мезоинозитолу. В недавнем обзоре Дэвиса [364] вновь подтверждается неутешительный вывод о неизвестной пока химической природе ВП, но приводятся сведения и о том, что "фактор Рикка", возможно, связан с олигосахаридами, такими, как фактор, индуцирующий ингибиторы протеаз (PIIF), или с другими фрагментами клеточных стенок, или с фактором движения листьев — тургорином, идентифицированным недавно как глюкозидсульфат бензойной кислоты.

Таким образом, на роль медиатора в химическом механизме распространения возбуждения у высших растений претендует ряд соединений. Кроме того, как уже отмечалось, существует и альтернативная гипотеза о чисто электрическом механизме распространения ВП.

В связи с этим следует отметить, что Нахманзон [529, 530] создал оригинальную гипотезу "цикла ацетилхолина", объединяющую электрический и химический механизмы распространения возбуждения в нервной системе. Интересно, что ацетилхолин и холинэстераза присутствуют и в растительных тканях. Считается, что ацетилхолин у растений, как и у животных, выступает в роли регулятора биоэлектрических явлений, хотя точное его действие на эти процессы пока не известно [230]. Возможно, гипотеза единого ацетилхолинового или иного медиаторного циклического механизма возбуждения сможет найти свое подтверждение при изучении импульсной электрической активности у высших растений. По крайней мере предположение о том, что деполяризация сама способна приводить к высвобождению возбуждающей раневой субстанции при распространении ВП, выглядит, на наш взгляд, весьма правдоподобно.

Функциональное значение ВП мало исследовано, еще меньше, чем ПД. Некоторые авторы считают, что ВП — это основной тип дальней координирующей связи между различными частями у обычных, не обладающих моторной активностью растений [603, 604, 679]. Дэвис [364] обращает особое внимание на то, что ВП может сам вызывать ПД. По его мнению, именно это обстоятельство обеспечивает "гормонально-электрическую интеграцию" растения. Изложенные представления о том, что ПД является одним из универсальных механизмов реагирования растений на внешние и внутренние изменения, по крайней мере на клеточном уровне, соответствуют этому положению. Таким образом, можно считать, что ВП действует на метаболизм клеток в первую очередь через ПД.

## Микроритмы

В настоящем разделе рассмотрим только микроритмику как особый тип импульсной электрической активности у высших растений, отличный от ритмических ПД, проявляющихся в милливольтном (от единиц до десятков милливольт) диапазоне амплитуд и имеющих длительные (порядка секунд) временные параметры (см. раздел 12).

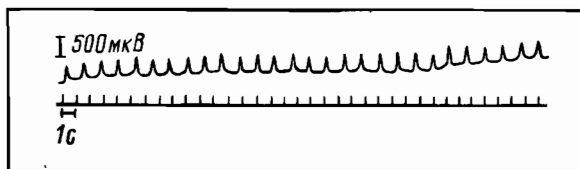


Рис. 25. Спонтанные повторяющиеся спайки, регистрируемые в семядольном листе ипомеи [571]

По-видимому, впервые микроритмика колебаний биоэлектрических потенциалов у высших растений, регистрируемая электроэнцефалографом, была обнаружена Пашевски [555]. Также при помощи электроэнцефалографа регистрировали "электрофитограммы" (ЭФГ) у мимозы, лютика, клевера и других высших растений [237, 238]. Как и при регистрации электроэнцефалограмм, при электрофитографии получаются записи в виде сложных кривых, состоящих из негармонических колебаний различных частот (периодов) с меняющимися фазовыми отношениями и амплитудами. Диапазон амплитуд микроимпульсов ЭФГ — десятки микровольт, длительность импульсов — от десятков до сотен миллисекунд.

Результаты опытов с чередующимся световым воздействием (6, 22 Гц) на растения мимозы [236] показали, что на ЭФГ при этом возникают "вызванные потенциалы" амплитудой 150—200 мкВ, синхронизированные с чередованием световых частот. Фоновая ритмика исчезает. После прекращения световой стимуляции растения продолжают воспроизводить новый ритм. Аналогичные результаты получены и на обычных растениях. Автор интерпретирует их как проявление "кратковременной памяти" растений, основанной на электрофизиологических явлениях.

В описанных экспериментах регистрировали светозависимую микровольтовую активность, отводимую от довольно значительной поверхности листьев растений, т.е. суммарную активность большого количества клеток. Пиккард [570, 571] описывает спонтанные микровольтовые электрические флуктуации различных растений простой формы (рис. 25), которые, по ее мнению, представляют собой электрическую активность отдельных клеток. Эти импульсы объединяются в серии, длящиеся от 1 с до 2 ч. Хотя амплитуда пиков мала, их распространения не наблюдается и временные параметры намного короче, чем у вызванных раздражением спайков. Пиккард склоняется к мысли, что это все же ПД.

Бликие по упорядоченному характеру, частотным характеристикам и амплитуде спонтанные пульсации напряжения наблюдал Карлсон [459] на каучуковом дереве с помощью вживленных в ткань листа тонких золотых электродов. Амплитуда импульсов — от 10 до 200 мкВ. Самая высокая частота пульсаций — около 200 имп/мин. Их генерация не зависит от уровня освещенности и близка к циркадным ритмам. Карлсон отмечает, что данная работа — "первый шаг" на пути

к физиологической интерпретации явления, но эти исследования, кажется, не были продолжены.

Пиккард также приостановила свои работы по спонтанной микроритмике. Однако к середине 1980-х годов интерес к микровольтовым колебаниям у высших растений возобновился, хотя и в несколько ином качестве. Было установлено [573], что временное охлаждение (60 с, 4°) стеблей проростков гороха вызывает в них резкое увеличение частоты появления кратковременных импульсов. Амплитуда импульсов — от 20 до 600 мкВ, длительность восходящей ветви — около 200 мс. Ранее было показано, что появление таких электрических флуктуаций коррелирует со стимуляцией образования этилена и что эти флуктуации возникают также при резком увеличении концентрации ауксина [572]. Нагревание (до 50°) не только не способствует образованию таких спайков, но и вызывает их полное прекращение. Возникновение, вернее, учащение микроритмики при охлаждении связано предположительно с увеличением кальциевой проницаемости плазмалеммы и возникновением потока  $\text{Ca}^{2+}$  из апопласта внутрь клеток.

Что касается функционального значения микроритмических флуктуаций напряжения, то высказывается мнение, что они (так же, как ПД и ВП) приводят к быстрому увеличению концентрации цитозольного  $\text{Ca}^{2+}$ , который, в свою очередь, является межклеточным сигналом, запускающим стрессовую реакцию [364], в частности стимулирует выработку этилена.

## Другие виды импульсной электрической активности

Кроме ПД и ВП, у мимозы и у некоторых других локомоторных растений обнаруживается еще и третий, самый быстрый вид распространяющихся электрических реакций. В обзоре Роблена [601] отмечается, что реакция проявляется в специфических условиях, "если растение молодое и растет во влажной среде". Несмотря на то, что эта реакция возникает только на перерезание стебля, иногда на ожог и не возбуждается электрической стимуляцией, один из ее первооткрывателей, Умрат, называет ее ПД, уточняя, что это "потенциал действия высокоскоростной проводимости" [678]. Действительно, скорость распространения этой БЭР в черешке мимозы на порядок выше, чем скорость распространения ПД: ~ 17 см/с. В то же время амплитуда и длительность импульса примерно на порядок меньше, чем у ПД при таком же способе отведения (~ 5 мВ и ~ 1 с). Исходя из невозможности электрической стимуляции, предполагается, что проведение импульса должно обеспечиваться продуцированием и распространением возбуждающей химической субстанции, т.е. фактора Рика, обеспечивающего также "медленную проводимость". Экспериментальное подтверждение этого взгляда, считают Умрат и Кастбергер [678], получено в работе [675]. В ней показано, что высокоскоростное возбуждение передается с перерезанных листочков подчерешка мимозы тем дальше, чем больше листочков было перерезано. Однако трудно по-

нять, как с такой высокой скоростью может распространяться химический фактор.

Еще одной уникальной импульсной электрической реакцией, обнаруженной у высших растений, является распространяющийся "сигнал гиперполяризации" [87]. Он возникает в стебле традесканции в ответ на электрическое раздражение, а также, как отмечают авторы, может возникать на перерезание центральной жилки листа. Среднее значение амплитуды импульса — около 30 мВ (при экстраклеточном отведении). Крутизна переднего фронта — 1,5 мВ/с, заднего — 0,5 мВ/с. Скорость распространения — около 8 мм/с. Отличительная особенность этого сигнала, кроме инвертированной полярности, — это то, что после его прохождения растение переходит в "сенситивизированное состояние", когда даже легкое прикосновение к растению приводит к возникновению типичного ВП, такого же по форме, как и ответ на ожог. Предполагается, что распространяющиеся импульсы гиперполяризации (авторы их называют иногда также ПД) имеют независимый от ВП канал проведения — "внутреннюю проводящую систему". Механизм возникновения и функциональное значение сигналов гиперполяризации пока никем не исследовались.

## 10. КРАТКИЙ ИСТОРИЧЕСКИЙ ОЧЕРК ИЗУЧЕНИЯ ПОТЕНЦИАЛОВ ДЕЙСТВИЯ У ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ

Первые исследования электрических явлений, сопровождающих возникновение и распространение возбуждения у высших растений, были выполнены во второй половине XIX в. под влиянием бурно развивающейся электрофизиологии животных. Основателями нового направления науки о растениях можно называть трех исследователей: действительного члена Британского Королевского общества Бердон-Сандерсона, немецкого естествоиспытателя Мунка и русского ботаника Н. Леваковского. Их исследования проводились на локомоторных растениях: мимозе [137] и венецианской мухоловке [339, 527]. Все они в той или иной степени экспериментально обосновывали идею о том, что передача возбуждения у "чувствительных" растений осуществляется с помощью электрического сигнала, как и в возбудимых тканях животных (в нервно-мышечном препарате). Работы эти были с энтузиазмом встречены научной общественностью того времени. Дарвин в своем труде "Насекомоядные растения" писал: "... изумительное открытие, сделанное д-ром Бердон-Сандерсоном, теперь всем известно, а именно что в пластинке и черешке нормально существует электрический ток и что при раздражении листьев этот ток нарушается совершенно также, как при сокращении мускула животного" [78, с. 507]. Необходимо отметить, что исследования Бердон-Сандерсона [339, 340] не ограничивались установлением простой аналогии электрических явлений в мышце и "ловчей" пластинке венецианской мухоловки. Он довольно точно определил скорость движения импульса, показав, что двигательная реакция начинается значительно позднее того, как импульс достигает листа.

Следующий значительный шаг в электрофизиологических исследованиях раздражимости высших растений был сделан Босом. Этот выдающийся ученый из Индии, получивший образование на кафедре физики Кембриджского университета, был блестящим экспериментатором. Его методические разработки и специальные высокочувствительные приборы для электрофизиологии растений не уступали лучшим методам "животной" электрофизиологии того времени, а полученные результаты не утратили своего естественнонаучного, практического и мировоззренческого значения до сих пор.

Как физик Бос не только использовал физические методы в физиологических исследованиях, но и к интерпретации изучаемых явлений подходил с физических позиций, ставя во главу угла поиск единых ответов, общих как для животных, так и для растений, как для живых тканей, так и для неорганических веществ. В то же время он последовательно выступал против механистических позиций. Одно из основных достижений его исследований заключается в том, что он опроверг гидромеханические теории Гофмейштера, Дютроше, Сакса, Пфелфера о передаче раздражения у мимозы и у других локомоторных растений за счет изменения давления воды в повреждаемой ксилеме и теорию Габерланда о сходном пассивном способе передачи раздражения в системе ситовидных трубок. Он нашел, что существует специальный канал проведения возбуждения, локализованный главным образом в проводящих пучках (мелкие клетки наружной и внутренней флоэмы); что импульс, вызванный физиологически умеренными раздражителями, не передается через охлажденный или обработанный ядом участок; что возникновение этого импульса подчиняется правилу "все или ничего"; что слабое единичное раздражение, само по себе неэффективное, становится эффективным при частом повторении и т.д. Бос впервые экспериментально обосновал положение о том, что в проводящих тканях высшего растений могут возникать и распространяться ПД подобно тому, как это осуществляется в нервных волокнах [29, 30].

Однако примерно в это же время Рикка [600] продемонстрировал существование иного способа передачи возбуждения в растительных тканях. В опытах на мимозе им было установлено, что при ожоге нижней половины стебля фактор, вызывающий опускание листьев, проходит вверх через заполненную водой трубочку. Рикка предположил, что возбуждение у растений передается по ксилеме неким химическим веществом (так называемым "фактором Рикка"). Это предположение подтвердили эксперименты, выполненные Сноу [643]. Электрофизиологических исследований эти авторы не проводили. Бос [30] отнесся к гипотезе Рикка резко отрицательно, хотя и заметил, что электрический ответ на сильное воздействие, действительно, распространяется иначе, чем при "нормальных" способах раздражения (с таким понятием нормы вряд ли можно согласиться, ибо разрушение и отторжение органов и тканей — весьма частый и естественный способ раздражения растений в природных условиях).

Справедливости ради нужно отметить, что не только Бос, но и дру-

гие фитофизиологи начала XX в. добились значительных успехов в изучении электрических явлений у высших растений. Так, Кункель [478] первый обнаружил, что амплитуда ПД в листовом черешке мимозы составляет около 100 мВ, т.е. близка к таковой у нервного импульса. Этот исследователь наблюдал местные электрические реакции при повреждении и сгибании у обычных растений. Медленно распространяющиеся электрические флуктуации у обычных высших растений, не обладающих моторной активностью, описывал также Монтемартини [521]. Он вызывал их путем раздавливания, разрезания или ожога листа и регистрировал с помощью электродов, контактирующих с жилкой листа на расстоянии от места повреждения. Можно думать, что он наблюдал главным образом флуктуации, связанные с химическим возбуждением, т.е. с "фактором Рикка", а не с электрическим импульсом возбуждения по типу ПД.

Существование двух типов распространяющихся биоэлектрических реакций, связанных с двумя способами проведения возбуждения у высших растений — электрическим и химическим, постулировал Хоувинк [435]. Он ввел понятие ВП для медленно распространяющихся электрических флуктуаций, возникающих вслед за ПД при повреждающих воздействиях у мимозы. Хоувинк, как и Бос, считал, что все растения обладают возбудимостью и что ПД и ВП возникают и проводятся в побегах обычных нелокомоторных растений. Он установил [436, 437], что распространяющиеся ПД генерируются в стеблях винограда и особенно хорошо в сегментах лозы. ПД передавались в пределах междоузлия и в отличие от мимозы могли независимо распространяться вдоль отдельных пучков ("субмаксимальные" ПД).

Основополагающие выводы Хоувинка о наличии ПД и ВП у высших растений опирались главным образом на его тщательные электрофизиологические эксперименты с мимозой. Но своего совершенства исследования ПД и ВП этого модельного для физиологии возбуждения высших растений объекта достигли в работах Сибаока [629, 630], которому удалось окончательно решить вопрос о путях проведения ПД у этого растения. Используя внутриклеточное отведение, он установил, что пути проведения ПД действительно локализованы в проводящих пучках, а именно во флоэмной и ксилемной паренхиме, клетки которой в отличие от других тканей имеют высокий  $E_m$  — более -150 мВ [630].

Значительный вклад в электрофизиологию возбуждения высших растений внес Умрат, начавший активные исследования в этой области еще в 1930-е годы [674-676]. Он не только изучал электрические ответы, в том числе "ПД высокоскоростного проведения" (см. раздел 9) у локомоторных растений, но также обнаружил распространяющиеся биоэлектрические реакции у обычных высших растений. Полагают, что зарегистрированные им биоэлектрические реакции, вызываемые главным образом повреждающими воздействиями, представляли собой как ПД, так и ВП, хотя оценить возможный вклад в них потенциалов действия и вариабельных потенциалов затруднительно [570].

Лоу-Чень-Хо [143] обнаружил распространяющиеся ПД у некоторых лианоподобных представителей семейств нелокомоторных высших растений. Только ВП зарегистрированы им в листьях гинкго и настурции. Такие электрические колебания возникали на повреждение (ожог), но, как считал этот исследователь, скорость их распространения, хотя и меньше, чем у ПД, но все же столь велика, что не может быть объяснена перемещениями какого-либо "раневого" фактора. Он пришел к заключению, что ВП отличается от ПД тем, что является суммой электрического реагирования различных тканей, имеющихся, по мнению Лоу-Чень-Хо, лишь у "чувствительных" растений.

Наиболее полные доказательства того, что ПД присущи не только локомоторным растениям, но и не обладающим моторной активностью высшим растениям, были получены в 60 — 70-е годы текущего столетия. Начало этим исследованиям было положено работами советских ученых [59, 72, 73, 75, 245, 638]. По словам известного авторитета в области электрофизиологии высших растений Пиккард [570], работы именно этих авторов открыли новый этап в исследовании ПД высших растений. Можно, очевидно, считать это началом современного этапа изучения данного вопроса. В 1960 — 1970-е годы было не только обосновано существование ПД у обычных растений, но и определены основные задачи дальнейших исследований: выяснение их функциональной роли, механизмов генерации и путей проведения в растительных тканях. Несмотря на значительные достижения в данном направлении, все эти задачи в настоящее время требуют дальнейшего углубленного исследования.

## 11. МЕТОДИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К АНАЛИЗУ ПОТЕНЦИАЛОВ ДЕЙСТВИЯ У ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ

Применяют как внутриклеточную, так и внеклеточную регистрацию ПД. Внутриклеточная регистрация до сих пор встречает значительные трудности. Во-первых, возбудимые клетки высших растений очень малы и микроэлектрод может повредить их. Во-вторых, эти клетки обычно погружены в толщу стебля и скрыты под другими клетками. Отпрепарировать возбудимые клетки с сохранением их способности к генерации и тем более к проведению ПД (т.е. его передаче с клетки на клетку) не всегда удается.

Более распространена внеклеточная регистрация ПД. Она не связана с повреждающим воздействием и дает возможность производить длительный эксперимент. Кроме того, этот способ регистрации позволяет охарактеризовать свойства не одной конкретной клетки, а определенной их совокупности, т.е. выявить интегральные динамические показатели.

Наиболее полная характеристика ПД данного растения может быть получена при сочетании как внеклеточной, так и внутриклеточной регистрации. Для количественной характеристики ПД кроме системы регистрации ПД необходима также система раздражающего воздействия на растения, вызывающая ПД. Рассмотрим эти два методических аспекта анализа ПД высших растений более подробно.

## Регистрация потенциалов действия

Система регистрации ПД состоит из электродов, усилителя и собственно регистратора (как и при регистрации  $E_m^*$ ).

**Электроды.** Внутриклеточное отведение ПД (рис.26) осуществляется обычными стеклянными микроэлектродами, вводимыми в клетку для регистрации  $E_m^*$  (см. раздел 1).

Восстановление способности к генерации ПД после кратковременного повреждающего или даже физиологически умеренного надпорогового раздражения требует значительного времени, а постоянное воздействие даже слабого раздражителя приводит к полной потере возбудимости. Эти обстоятельства особенно необходимо учитывать при микроэлектродном отведении ПД, связанном зачастую с предварительной препаровкой растения для наблюдения за введением электрода. Иногда контроль за введением микроэлектрода можно осуществлять и электрофизиологически, т.е. по величине регистрируемого  $E_m^*$ . У возбудимых клеток он, как правило, выше, чем у невозбудимых [82, 239, 630].

Размеры возбудимых клеток высших растений составляют несколько микрометров в диаметре. Следовательно, диаметр кончика микроэлектрода для измерения ПД должен быть как можно меньше (менее 1 мкм). Стеклянные микроэлектроды с диаметром кончика более 1 мкм могут использоваться только для внеклеточного отведения ПД.

Для внеклеточного отведения ПД применяют чаще всего неполяризующиеся макроэлектроды. Иногда для регистрации ПД используются поляризующиеся металлические электроды (золотые, платиновые, платиново-иридиевые, вольфрамовые и т.п.). Они могут применяться и как микроэлектроды. Для этого их электролитически затачивают и покрывают лаком. Диаметр их кончика составляет обычно несколько микрометров. Такие микроэлектроды легко погружаются внутрь растительной ткани на любую глубину. Их контакт внутри ткани, как правило, экстраклеточный.

По характеру расположения электродов различают два способа отведения ПД: монофазный, или униполярный, и двухфазный, или биполярный. При двухфазном отведении оба измерительных электрода располагаются на поверхности или внутри органов (клеток), проводящих ПД. При монофазном отведении один электрод является измерительным (иначе, активным, дифферентным), а другой — электродом сравнения (пассивным, референтным, индифферентным). Электрод сравнения при внеклеточной регистрации ПД помещают на значительном удалении от измерительного, там, куда ПД не доходит. Такой областью могут служить корни или листовая пластинка (как на рис.27). При внутриклеточной регистрации пространственного разделения электродов не осуществляют. Электрод сравнения находится в контакте с поверхностью той же клетки, в которую введен измерительный электрод (см. рис.26). Желательно, чтобы площадь поверхности, контактирующей с объектом, у электрода сравнения всегда была

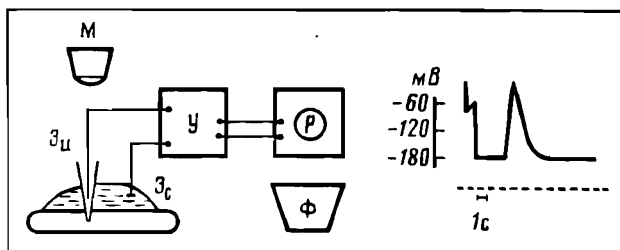


Рис. 26. Схема регистрации и пример записи потенциала действия в возбудимой клетке черешка мимозы [630]

У — усилитель; Р — регистратор (осциллограф); Ф — фотоприставка; М — микроскоп; Эн — измерительный микроэлектрод, погруженный в клетку; Эс — электрод сравнения, контактирующий с каплей воды на поверхности клетки

намного больше (по крайней мере в несколько раз), чем у измерительного электрода.

**Усилитель.** Определяя свойства усилителя, необходимо исходить из особенностей ПД изучаемого объекта. Временные параметры ПД растений позволяют применять только усилители постоянного тока. Нижняя граница пропускания частот этими усилителями доходит до нуля, поэтому они могут усиливать сколь угодно медленные изменения разности потенциалов между электродами. Второе необходимое требование к усилителю — высокое входное сопротивление, которое должно составлять  $10^{10}$  Ом и более. Это необходимо не только при регистрации ПД, но и при отведении любых других биопотенциалов в растительных клетках и тканях.

**Регистратор.** Измерительный прибор на выходе системы регистрации преобразует электрический сигнал в видимый и, как правило, документально фиксируемый процесс. ПД растений могут быть записаны и на магнитную ленту (с помощью специальных приставок частотной или амплитудной модуляции), однако такая информация нуждается в дальнейшем преобразовании в форму, доступную восприятию. Практическое применение при регистрации ПД растений получили следующие типы регистрирующих приборов.

1. Автоматические самопишущие потенциометры. Наиболее быстро меняющейся фазой ПД является фаза деполяризации. Ее длительность у большинства высших растений порядка 1 с. Таким образом, одноканальные самопишущие потенциометры с временем пробега шкалы 1 с удовлетворительно решают проблему регистрации. Чтобы достичь более высокой разрешающей способности, применяют быстродействующие самопишущие потенциометры.

В некоторых случаях возникает необходимость согласования используемых усилителя и самопишущего потенциометра. Примерные схемы устройств согласования представлены в работе [193].

2. Электронные осциллографы. Эти приборы способны регистрировать и быстрые, и медленные процессы. Но они удобны в основном для визуального контроля. Запись процесса при необходимости

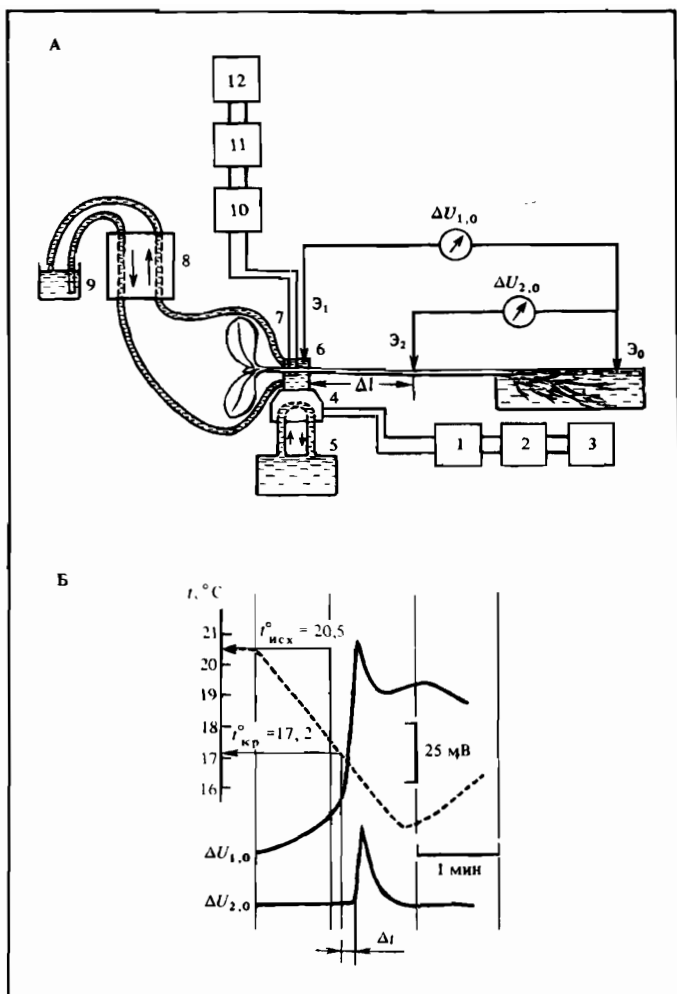


Рис. 27. Система локального дозированного раздражения охлаждением с краткой схемой регистрации биоэлектрического ответа (А) и запись потенциала действия, вызванного температурным раздражением в гипокотиле проростка тыквы (Б)

1 — переключатель; 2 — селеновый выпрямитель; 3 — автотрансформатор; 4 — термоохлаждающий столик типа ТОС-2; 5 — ультратермостат; 6 — кювета для раздражения; 7 — миниатюрный термистор; 8 — перистальтический насос; 9 — сосуд с инертным физиологическим раствором (отстоянная водопроводная вода); 10 — мост Витстона; 11 — вольтметр; 12 — самописец.  $\Delta U_{1,0}$  и  $\Delta U_{2,0}$  — изменения разности потенциалов  $U_{1,0}$  и  $U_{2,0}$  между электродом сравнения  $3_0$  и измерительными электродами  $3_1$  и  $3_2$  соответственно;  $\Delta l = 5$  см — расстояние от границ контакта  $3_1$  до  $3_2$ ;  $\Delta t$  — время прохождения фронтом деполяризации ПД расстояния  $\Delta l$ ;  $t^{\circ}_{исх}$  — исходная температура в кювете возле стебля;  $t^{\circ}_{кр}$  — температура в кювете возле стебля в момент возникновения фазы деполяризации ПД в зоне охлаждения (изменение  $t^{\circ}$  показано пунктиром)

осуществляется фотографированием. Следует применять осциллографы с памятью или с длительным послесвечением экрана электроннолучевой трубки.

Целесообразно одновременное подключение к усилителю самописца и осциллографа. Это позволяет включать запись на диаграммную ленту лишь в необходимые временные интервалы.

## Способы раздражения

Серьезное отставание в изучении ПД у растений по сравнению с соответствующей областью электрофизиологии животных в значительной мере обусловлено недостаточной разработкой аппаратуры и приемов раздражения. Конечно, раздражение можно осуществлять без специальных приборов и недозированно, что и делалось в большинстве работ по ПД высших растений. Однако при таком подходе нельзя установить количественные закономерности между параметрами раздражителя и ответной БЭР, так как все недозированные раздражители являются надпороговыми, т.е. заведомо превышают минимальную силу раздражения, приводящую к ПД. Поскольку действие дозированного раздражения должно быть обратимо, то наибольший интерес представляет использование с этой целью физических факторов, особенно таких, как электрический ток и температурное воздействие.

**Электрическое раздражение.** В экспериментах на локомоторных растениях наиболее часто используют в качестве дозированного раздражителя электрический ток. У обычных растений электрический ток не всегда является эффективным и обратимым раздражителем, по-видимому, вследствие шунтирующего действия не проводящих ПД тканей и межклетников. Однако есть и положительные примеры использования электростимуляции. Импульсы тока через заостренные серебряные электроды диаметром 0,4 мм (расстояние между электродами 30 мм), погруженные в стебель люпина, приводили к распространению в нем ПД [560]. Последние возникали уже при плотности тока  $0,4 \text{ А} \cdot \text{м}^{-2}$ , (что соответствует установленному на электростимуляторе напряжению между электродами 1,2 В и возникающему току 1,2 мкА). К необратимому повреждению ткани приводит ток  $20 \text{ А} \cdot \text{м}^{-2}$ , т.е. в 50 раз более сильный, чем пороговая величина стимуляции. Необходимо отметить, что в описанном примере стимулирующие электроды прокалывают стебель растения, т.е. в определенном смысле воздействие все же является повреждающим.

**Температурное дозированное раздражение.** Перспективным представляется использование в качестве дозированных раздражителей физиологически умеренных обратимых температурных воздействий, которые оказывают влияние на растения в естественных условиях. Такие раздражители по аналогии с дозированным электрическим воздействием следует назвать температурным импульсом. Как и электрический импульс, температурные воздействия могут варьировать по "силе" (в данном случае по величине температурного перепада

$\Delta t^\circ$ ), длительности  $\Delta t$  и скорости нарастания или градиенту  $dt^\circ/dt$ . Преимуществом температурного дозированного воздействия по сравнению с электрическим является то, что в этом случае удается полностью избежать артефактов при записи электрического ответа, даже в зоне раздражения.

Аналогия между электрическим импульсом и термоимпульсом прослеживается и в характере их воздействия на электрическую полярность клеток. Охлаждение, так же как катодный ток, быстро деполаризует клетку, снижая  $E_m^r$  до порогового уровня и приводя к генерации ПД. Нагревание в физиологическом диапазоне, как и анодный ток, увеличивает  $E_m^r$ . Возникновение ПД происходит, вероятно, при нагревании уже сверх физиологического диапазона, т.е. связано, по-видимому, в той или иной степени с процессами теплового повреждения. Иногда ПД после нагревания возникает и в физиологическом диапазоне температур, но не при повышении, а при понижении температуры к исходному уровню [69]. Это происходит подобно тому, как под анодом возбуждение проявляется в момент размыкания электрического тока. Таким образом, охлаждение — это более эффективный прием вызывания ПД у высших растений, чем нагревание.

Специальная аппаратура для дозированного раздражения охлаждением высших растений пока отсутствует. Однако существуют типовые микрохолодильные устройства, которые можно приспособить для таких целей. Например, можно использовать микротомный замораживающий столик (см. рис. 27). На его поверхности монтируется кювета с тонким дном, которая заполняется раствором, физиологически инертным для растения. В кювете делаются прорезы и в них с помощью ланолина закрепляется участок стебля или листового черешка растения. При включении источника тока, питающего термостолик, его поверхность, раствор в кювете и, следовательно, участок ткани охлаждаются. Скорость охлаждения обычно составляет  $0,5—3,5^\circ\text{C}/\text{мин}$ . Обеспечение протока раствора в кювете перистальтическим насосом или переключение полярности питания термостолика позволяет быстро восстановить исходную температуру, т.е. нагреть ткань. Кроме биоэлектрического потенциала в представленной схеме (см. рис. 27, А) записывается изменение температуры в зоне охлаждения. В приведенном на рис. 27, Б примере записи фронт ПД возникает при температуре  $17,2^\circ$ . Исходная температура —  $20,5^\circ$ , т.е. перепад температур составил  $2,8^\circ$ . Это свидетельствует не только о том, что холодное раздражение действительно вызывает ПД в области физиологически умеренных температур, но и то, что чувствительность обычных высших растений к охлаждению может быть весьма высокой (см. раздел 12).

## 12. ХАРАКТЕРИСТИКА ПОТЕНЦИАЛОВ ДЕЙСТВИЯ У ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ

Выявление особенностей ПД, связанных со спецификой структурной и функциональной организации высших растений, не менее важно, чем установление общих принципов их генерации, характерных для различных возбудимых систем. Оно способствует лучшему пониманию эволюции распространяющегося возбуждения и необходимо для выяснения функциональной значимости этого явления.

### Раздражители, вызывающие потенциалы действия у высших растений

Наиболее полные сводки, систематизирующие раздражители по их физико-химическим свойствам, приводятся на основе исследования локомоторных растений [391, 601]. Обычно выделяются четыре типа раздражителей: механические, физические, химические и повреждения. Такая классификация раздражителей приложима к ПД всех высших растений. Рассмотрим эти типы раздражителей более подробно, уделяя особое внимание нелокомоторным обычным высшим растениям.

**Механическое раздражение.** Различают сотрясения, т.е. неповреждающие деформации растения или его части, и прикосновения, т.е. местное давление [304, 601]. Локомоторные реакции на такие адекватные механические воздействия (соответственно сейсмонастии и тигмонастии) довольно хорошо изучены. Возникновение при этом ПД, предваряющих моторный ответ, доказано со всей определенностью для мимозы [540, 634]. Для насекомоядных растений (венеериной мухоловки, росянки и др.) также доказано участие ПД в запуске моторной реакции после умеренной механической стимуляции [304].

Известно, что местные ПД предваряют тигмонастические движения усиков лазающих растений. Наиболее чувствительна верхняя часть усика. Интересно, что усики лучше воспринимают в качестве раздражителя не какое-то равномерное давление, а его локальные изменения: трение шерстяной нитки, давление частиц глины в струе воды, но не самой струи и т.д. [35]. Это связано с тем, что вдоль усиков диффузно расположены особо чувствительные к давлению эпидермальные клетки с осязательными порами.

Прорастающие через толщу почвы эпикотили гороха генерируют целую серию импульсов в ответ на возникающее раздражение [569]. Автор также считает, что это местные ПД, вызванные несинхронным возбуждением чувствительных к давлению отдельных клеток стебля.

Достаточно давно установлено [29], что слабое местное давление, изгиб, слабый удар и другая умеренная деформация стеблей многих растений приводят к появлению местной, импульсной формы электрической негативации (внеклеточное отведение). Энергия стимулов, вызывающих у растений такую реакцию, вполне сопоставима с энергией механических воздействий окружающей среды (дождь, ветер).

Так, для удара, например, показано, что порог возникновения электрического импульса равен  $10^4$  мг·мм на  $1\text{ мм}^2$  поверхности растения (т.е.  $\sim 10^{-4}$  Дж), в то время как энергия падающей капли дождя диаметром 5 мм составляет около 0,1 Дж [111]. Отсюда ясно, что чувствительность к механическим раздражениям у обычных высших растений не уступает чувствительности животных. Можно предположить, что регистрируемые макроэлектродами суммарные электрические ответы стеблей растений при пороговой силе неповреждающих деформаций являются местными ПД. Об этом свидетельствует характерная импульсная форма реакций, а также то, что они подчиняются практически всем основным закономерностям подпорогового и надпорогового раздражения, известным для возбудимых систем [29, 30, 111, 114], кроме, пожалуй, способности к распространению. В определенных условиях ПД, возникающие на такого рода воздействия, тем не менее могут и распространяться. Так, при прикосновении кисточкой к нектарникам липы генерируются как местные ПД в секреторных клетках, так и распространяющиеся ПД в обслуживающих нектарники проводящих пучках [164].

Несмотря на довольно длительную историю изучения механического раздражения растений, оно требует дальнейшего углубленного исследования.

**Физическое раздражение.** Среди физических раздражителей целесообразно выделить: 1) электростимуляцию; 2) температурную стимуляцию; 3) фотостимуляцию. Можно еще особо отметить радиостимуляцию, т.е. воздействие любых электромагнитных излучений, условно исключая при этом воздействие видимым светом как наиболее адекватный случай действия излучения вообще.

**Электростимуляция.** Для локомоторных растений применяется со времен Бердон-Сандерсона [339]. Такое раздражение не является естественным, но оно адекватно природе ПД, так как непосредственно связано с переносом заряда, обеспечивающего снижение  $E_m$  на пороговую величину. Наиболее общей мерой возбудимости принято считать хронаксию, определение которой основывается именно на электрическом раздражении [481]. Лапик [481] не только ввел эту величину в физиологию животных и обосновал ее связь с функциональной подвижностью, лабильностью (по Введенскому), но и измерил ее у самых различных биологических объектов, в том числе и у мимозы (табл. 2).

Понятие хронаксии тесно связано с понятием реобазы, которое характеризует пороговую (минимальную) силу электрического раздражения постоянным током бесконечной длительности. Хронаксия представляет собой то минимальное время, в течение которого должен действовать ток, равный двум реобазам, чтобы вызвать пороговое возбуждение. Из представленных в табл. 2 данных видно, что хронаксия листа мимозы (30 мс) близка к таковой для возбудимых органов беспозвоночных и некоторых органов позвоночных животных (лягушки).

Что касается нелокомоторных растений, то, очевидно, из-за того, что применение электрического способа раздражения сопряжено с

Таблица 2

СРАВНИТЕЛЬНЫЕ ДАННЫЕ О ВЕЛИЧИНЕ ХРОНАКСИИ У РАЗЛИЧНЫХ ОБЪЕКТОВ  
(на основании данных Лапика и др. [126])

| Объект исследований | Название органа                                         | Хронаксия, мс         |
|---------------------|---------------------------------------------------------|-----------------------|
| Мимоза              | Листья                                                  | 30                    |
| Медуза              | Мантия                                                  | 20                    |
| Дождевой червь      | Нервная цепочка                                         | 20                    |
| Пиявка              | То же                                                   | 30                    |
| Виноградная улитка  | Двигательные нервы                                      | 20                    |
| Краб                | Мышцы клешни                                            | 30                    |
| Лягушка             | Двигательные нервы<br>икроножной мышцы<br>мышцы желудка | 0,3 — 0,6<br>30 — 100 |

определенными методическими трудностями, таких исследований крайне мало.

Распространяющийся электрический импульс был зарегистрирован при электрической стимуляции усиков огурца в 1959—1960 гг. в лаборатории И.И. Гунара [75]. Его передний фронт распространялся по усикам вне зоны раздражения с примерно одинаковой амплитудой и скоростью. Однако, судя по тексту, авторы не решились назвать этот импульс потенциалом действия. Действительно, несколькостораживает тот факт, что нисходящая ветвь импульса имела очень большую длительность. Вероятно, следует допустить, что применялось достаточно сильное электрическое раздражение (указывается ток ~ 50 мкА при напряжении порядка одного — нескольких десятков вольт). Повреждение таким током и приводит, очевидно, к длительной стойкой деполяризации после пика. Хронаксия, определенная в этой работе, составляет 150—300 мс. Интересно, что в опытах Д.Г. Квасова [111] на стеблях и листовых черешках многих высших растений, не обладающих моторными функциями, при изучении местной импульсной реакции величина хронаксии была определена в 200 — 250 мс. Способность импульса к распространению этот автор не анализировал, исходя из ложной предпосылки, что у обычных высших растений импульсное возбуждение не может быть распространяющимся.

Наиболее значительных успехов в электрической стимуляции добились польские электрофизиологи [557, 560, 700, 702] в исследованиях на люпине. Согласно их данным, хронаксия этого объекта равна 200 мс. Таким образом, разные авторы разными способами нашли, что хронаксия обычных высших растений варьирует от 150 до 300 мс. Это в 5—10 раз больше величины хронаксии локомоторного растения мимозы, но весьма близко к хронаксии, например мышц желудка лягушки (см. табл. 2).

**Температурная стимуляция.** Температурный фактор может быть весьма эффективным раздражителем высших растений, удобным для применения в электрофизиологическом эксперименте (не дает арте-

фактов при записи электрического ответа и может дозироваться). Термораздражение широко использовал Бос, который нашел его приближающимся к "идеальным способам раздражения", понимая под этим такую форму раздражения, которую можно применять в заданных количествах и повторять без какого-либо повреждения много раз подряд [29]. Электрические реакции типа ПД были получены Босом в ответ на слабый "тепловой удар" не только на локомоторных растениях (мимоза и др.), но и на средней жилке листа нелокомоторного растения [30].

Способ дозированного "теплового удара", разработанный Босом [29], не получил, к сожалению, развития. Вероятно, это произошло потому, что вскоре Хоувинк [436] показал способность теплового воздействия вызывать не только ПД, но и связанный с повреждением клеточных структур ВП. Тем не менее эта возможность еще долго не учитывалась электрофизиологами растений. Более того, И.И. Гунар и А.М. Синюхин [74], основываясь главным образом на том, что форма распространяющихся электрических ответов у обычных высших растений, например тыквы, весьма сильно отличается от импульсной при раздражении нагреванием, постулировали тезис о том, что "токи действия" имеют различную форму при действии различных раздражителей.

В настоящее время, по-видимому, следует признать справедливым иное объяснение особенностей БЭР на тепловое раздражение [570]. Оно основано, во-первых, на признании неспецифичности ПД высших растений по отношению к любым раздражающим воздействиям и, во-вторых, на том, что тепловое воздействие может вызвать комплексную электрическую реакцию, включающую кроме ПД еще и ВП. Сочетание ПД и различной величины ВП определяет особенности распространяющихся БЭР на тепловые воздействия.

Возможность генерации ПД без ВП в ответ на тепловое воздействие не представляется достаточно ясной. Проведенные в этом направлении опыты [69, 559] из-за особенностей их постановки не дают однозначного ответа на данный вопрос. Если учесть, что при умеренном нагревании происходит гиперполяризация, а при охлаждении — деполяризация клеток за счет изменения активности электрогенных ионных насосов плазматических мембран (см. раздел 6), то становится очевидным, что нагревание не может быть эффективным фактором, обеспечивающим пороговую деполяризацию для возникновения ПД в физиологическом диапазоне температур.

Важный шаг в развитии температурного способа раздражения был сделан Пиккард [570, 571]. Она не только экспериментально обосновала эффективность и целесообразность использования охлаждения для вызывания ПД у обычных растений, но и показала "физиологичность" этого вида раздражения, так как в ее опытах ПД в гипокотиле проростка тыквы индуцировался сменой омывающего его раствора (19°) другим таким же раствором (14°), т.е. охлажденным всего на 5°.

Следующим этапом эволюции экспериментальных приемов температурного раздражения, вызывающего ПД у высших растений, явилась

разработка приема постепенного локального физиологически умеренного охлаждения стебля [180, 188]. Принципиальной отличительной особенностью такого раздражения является его градуальность. Растение как бы само "выбирает" температурный порог возникновения ПД при заданной скорости охлаждения. Используя этот подход, мы показали, что распространяющийся ПД у обычных высших растений (на примере проростка тыквы) может иногда возникать при снижении температуры всего на 1—2° при скорости охлаждения около 2°С/мин [188]. Поскольку температурные перепады с такими параметрами имеют место в естественных условиях обитания растения, то это позволяет обоснованно судить об адекватности умеренного холодового раздражения.

**Фотостимуляция.** Изменение интенсивности видимого света, безусловно, адекватный раздражитель для фотосинтезирующих зеленых растений. Однако ПД при световом раздражении возникают далеко не всегда. Поэтому для мимозы, например, предлагается отличать фотостимуляцию, приводящую к генерации ПД, от "фотонастического" раздражения градуального характера [391, 602]. Менее определенная ситуация существует в отношении обычных высших растений. Высказывалось мнение о наличии у них альтернативных механизмов и систем возбуждения: 1) вызванного несветовыми раздражителями и 2) вызванного светом [156, 270, 580]. Согласно этой позиции, вызванные световым воздействием БЭР у обычных высших растений принципиально отличаются от ПД. По предполагаемому механизму они более близки к химическому способу возбуждения (см. раздел 9), хотя и не связаны в этом случае с раневым фактором Рикка.

Тем не менее термин "фотоиндуцированные потенциалы действия" некоторые авторы все же применяют по отношению к обычным высшим растениям, например к фасоли [561, 563, 649]. Фотоэлектрические ответы у этих растений распространяются в базипетальном направлении от листа к корню и вызываются белым светом или светом определенной длины волны (433—711 нм; 5—1350 Вт · м<sup>-2</sup>). Их спектр действия сходен со спектром действия фотосинтеза, следовательно, основной пигментной системой, ответственной за их возникновение, является хлорофилл, хотя не отрицается и участие других пигментов. Они угнетаются диуроном и не подчиняются правилу "все или ничего", т.е. "фотоиндуцированные ПД" не являются настоящими ПД в общепринятом понимании этого термина.

Эта точка зрения подтверждается также, например, и тем, что только фотоиндуцированные спайки в клетках мха антоцерос, в отличие от вызываемых электрическим стимулом импульсов ПД у водоросли нителлы, связаны с временным снижением флуоресценции хлорофилла *a* [168]. Высказывается предположение об особом механизме генерации "фотоиндуцированных ПД", осуществляемом за счет световой активации АТФазы хлоропластов [34].

В то же время в исследованиях на клетках таллома мха коноцефалума [669] установлено, что вызываемые светом ПД, как и ПД, вызванные электрическим стимулом, имеют одну и ту же форму, подчи-

няются закону "все или ничего", обладают способностью к распространению, рефрактерностью, способностью к суммации подпороговых стимулов, т.е. обладают всеми характеристиками типичных ПД. Вызванные светом ПД индуцируются светозависимым генераторным потенциалом, осуществляющим пороговую деполяризацию. Именно генераторный потенциал, а не ПД, блокируется диуроном.

Сопоставление этих данных с данными экспериментов на фасоли [649] позволяет считать, что вызываемые световыми воздействиями колебания биопотенциалов у высших растений имеют сложную комплексную природу и на клеточном уровне могут быть представлены как типичными ПД надпорогового характера, так и градуальными фотоэлектрическими реакциями. При этом ПД локализованы на плазматических мембранах клеток, а запускаемые светом подпороговые электрические ответы, по крайней мере на начальных этапах своего развития, протекают в хлоропластах. ПД возникают только в тех случаях, когда фотовозбуждение пигментов способно обеспечить пороговую деполяризацию возбудимых плазматических мембран. В зависимости от состояния межклеточных связей эти ПД могут быть распространяющимися или местными. Подтверждением этого предположения могут служить данные о возникновении подобных ПД местных спайков, возникающих по достижении критического уровня деполяризации в ходе медленных светоиндуцированных изменений  $E_m$  в мезофилле листьев томата [349].

**Радиостимуляция.** Действие ионизирующих излучений также может вызывать ПД у высших растений. Эти раздражители исследованы очень слабо. Показательны опыты на мимозе с индукцией ПД рентгеновским излучением. Локальное облучение листа в течение 15 с мощностью 17 000 рентген/мин вызывает сначала негативацию (внеклеточное отведение) облучаемого черешка листа, а затем генерацию ПД. Медленная негативация и ПД в определенной степени не зависят друг от друга. Обе реакции распространяются, но с разной скоростью: ПД — 1 см/с, негативация — 0,01 см/с [438]. Можно заметить, что это весьма напоминает последовательность возникновения фотоиндуцированных ПД у коноцефалума, описанную выше. Очевидно, ионизирующее излучение, как и световое воздействие, запускает ПД при помощи "генераторного" потенциала, обеспечивающего пороговую деполяризацию. Неясно, является ли эта пороговая деполяризация плазматических мембран прямым следствием действия излучения или она передается на нее, как и при фотостимуляции, от внутриклеточных пигментных систем. Последнее предположение косвенно подтверждают наблюдения тех же авторов [377], показавших, что изменение  $E_m$  клетки нителлы при рентгеновском облучении зависит от того, были ли клетки в темноте или адаптировались к периодическому освещению.

Из других видов излучений интересно отметить ультрафиолетовое. Возможность генерации ПД при ультрафиолетовой стимуляции высших растений еще не изучена, но данные о сильном и резком угнетении этим излучением электрогенной компоненты  $E_m'$

фотосинтезирующих клеток листьев выших растений [261] позволяют предположить, что этот раздражитель может быть весьма эффективным для осуществления пороговой деполяризации в возбудимых клетках выших растений.

**Химическое раздражение.** Можно выделить несколько групп химических раздражителей, вызывающих ПД у выших растений: ионную стимуляцию, гидростимуляцию, раздражение физиологически активными веществами.

**Ионная стимуляция.** Широко распространенным и в определенной мере эталонным раздражителем, вызывающим ПД у обычных выших растений, является раствор KCl. Даже при длительном воздействии он не приводит к генерации ВП, а вызывает серии ритмически повторяющихся ПД, распространяющихся из места приложения раздражителя (см. раздел 12). Сравнение с ответом, полученным именно при этом способе раздражения, предпочитают использовать для выяснения вопроса о том, ПД или ВП генерируется при каком-то другом способе раздражения у обычных выших растений (из-за недостаточной разработки электрического способа стимуляции).

Чаще всего используется концентрированный (~1 М) KCl [150, 151], но ПД возникают и при действии 0,1 М и даже 0,01 М KCl [70, 73]. Это свидетельствует о том, что пороговая деполяризация, приводящая к генерации ПД, может осуществляться при физиологически умеренных изменениях концентрации  $K^+$  вне клеток, вероятно, за счет уменьшения диффузионной компоненты  $E_m'$ .

Реже используют в качестве раздражителей, индуцирующих у выших растений ПД, другие соли. Они вызывают ПД при более высоких концентрациях. Так, 0,5 — 1,0 М NaCl при воздействии на корень фасоли приводит к возникновению ПД в стебле, а 0,1 — 0,3 М NaCl к возникновению ПД уже не приводит [68]. Регистрируемый спайк характеризуется компактными размерами и бездекрементным распространением с постоянной скоростью (~ 2,5 мм · с<sup>-1</sup>), но из-за высокой концентрации NaCl авторы предпочитают называть его не ПД, а "током повреждения". Действительно, раздражающее влияние концентрированных растворов солей связано с повреждающим плазмолитическим действием в зоне их приложения, но механизм распространения импульса вне зоны воздействия плазмолитика скорее всего протекает по типу нормального ПД. По крайней мере при действии KCl параметры импульсов в серии, т.е. по мере развития повреждения, не претерпевают существенных изменений. Это, вероятно, говорит о том, что при ионной стимуляции мы всегда имеем дело с ПД, а не с ВП.

**Гидростимуляция.** Известно, что увлажнение слегка подсохших корней является чрезвычайно эффективным способом вызывания ПД в стебле [74, 246]. Характер возникновения ПД при этом, по-видимому, сходен с таковым при действии плазмолитиков.

**Раздражение физиологически активными веществами.** Имеется очень разнообразная группа раздражителей как естественного, так и искусственного происхождения, способных приводить к генерации

ПД. Естественным раздражителем такого рода следует считать, очевидно, неидентифицированное еще "раневое" вещество (вещества) или "фактор Рикка" (см. раздел 9). Среди искусственных химических стимулов можно назвать 2,4-Д ( $10^{-1}$  —  $10^{-2}$  М раствор). Она использована как вызывающий ПД фактор в ряде ранних работ отечественных электрофизиологов на обычных растениях (в основном на тыкве) [61, 76, 245]. 2,4-Д является синтетическим аналогом ауксина. Сам ауксин (1% раствор) также способен вызывать ПД (например, у батата) [26] при экзогенном воздействии.

Недостатком способов вызывания ПД химическими веществами является их почти необратимый характер. Прекратить воздействие физиологически активного вещества после его аппликации на поверхность растительной ткани практически невозможно или по крайней мере очень трудно. Наряду с этим еще в работе [76] было показано, что подпороговые концентрации 2,4-Д при длительном воздействии снижают возбудимость вплоть до ее полного блокирования. Поэтому в последнее время химическое раздражение физиологически активными веществами для вызывания ПД у растений почти не используют. Правда, распространяющиеся "потенциалы действия" в стебле фасоли, возникающие в ответ на действие атразина и трефлана, были описаны сравнительно недавно [562]. Однако они имели относительно малую скорость распространения ( $0,12$  —  $0,35$  мм · с<sup>-1</sup>), большую длительность (10 — 15 мин) и возникали при очень высоких концентрациях (трефлан — 26%, атразин — насыщенный раствор) этих ядовитых веществ. Относить такие реакции к ПД еще более проблематично, чем фотоиндуцированные электрические реакции, описанные выше для этого же объекта.

**Повреждения.** Повреждающие воздействия как раздражитель были рассмотрены в разделе 9. Отметим, что не всегда повреждения растительных тканей и клеток приводят к появлению ВП, или комплексной БЭР растений типа ПД и следующего за ним ВП, или ВП и вызванного им ПД. Иногда, как уже отмечалось выше, повреждающее воздействие приводит только к ПД, например, при воздействии плазмолитика на корни. Уколы, порезы или даже перерезание стебля острой бритвой также вызывают появление ПД [570]. В.В. Горчаков [60] в исследованиях на тыкве отмечает, что механическое повреждение растущих тканей стебля может приводить (~25% случаев) к генерации серий ритмических ПД специфического характера: сначала с возрастающей, а потом с затухающей амплитудой пиков.

Можно думать, что сочетание распространяющихся и местных ПД, подпороговых локальных ответов и собственно ВП будет различным в различных растительных тканях и зависит от характера и места повреждения. Это свидетельствует о довольно широких информационных возможностях электрической сигнализации у растений и о перспективе использования различных видов повреждения как раздражителей в электрофизиологических исследованиях, проводимых *in situ*, т.е. на уровне целого растения.

## Пороговые условия генерации потенциалов действия

**Латентный период.** Латентный период может быть определен как интервал времени между началом действия стимула на возбудимый объект и возникновением ПД. Величина латентного периода у высших растений, по оценкам [104, 245, 560, 631, 698], варьирует от долей секунды до сотен секунд. Столь существенный разброс может быть связан в первую очередь с индивидуальными особенностями испытуемых объектов. В частности, наименьшая величина латентного периода показана у локомоторных высших растений [631].

Продолжительность латентного периода обнаруживает также зависимость от способа нанесения раздражения и характера раздражителя. По данным А.М. Синюхина и В.В. Горчакова [245], при раздражении корневой системы тыквы различными химическими агентами минимальный период для появления ПД в стебле, равный  $23,0 \pm 4,2$  с, имел место при использовании 1,0 М КСl, а максимальный, равный  $117,0 \pm 40,0$  с, — при действии 2,4-Д. Было также обнаружено, что латентный период при раздражении базального конца стебля всегда меньше по величине, чем при раздражении апикального. Инъекция КСl непосредственно в проводящий пучок растения сокращала продолжительность латентного периода в 10 раз.

Изложенное выше с очевидностью показывает, что измеренная продолжительность латентного периода в сильной степени определяется условиями эксперимента и в этом смысле далеко не всегда является достаточно объективной. С учетом этого наиболее корректные, на наш взгляд, измерения продолжительности латентного периода были выполнены на проростках люпина при использовании электрической стимуляции [560, 698]. Было показано, что в случае стимула пороговой интенсивности латентный период имеет максимальную величину и составляет 25 с. При увеличении интенсивности электрического стимула латентный период заметно уменьшается, достигая в случае очень сильных воздействий 1 — 3 с.

**Величина порога возбуждения.** Возникновение ПД под влиянием раздражающего стимула происходит, когда вызванная им деполяризация возбудимой мембраны достигает уровня порога возбуждения. Представление о величине порога возбуждения дает пороговый потенциал  $V_{th}$ , который может быть рассчитан по уравнению

$$V_{th} = E_m^c - E_m^0, \quad (14)$$

где  $E_m^c$  — критический уровень деполяризации, по достижении которого возникает ПД,  $E_m^0$  — исходный уровень  $E_m$  клетки [262]. Так, например, по нашим данным [190],  $E_m^0$  возбудимых клеток стебля тыквы имел при 20° величину —  $160 \pm 2$  мВ, а  $E_m^c$ , по достижении которого в ответ на постепенное охлаждение со скоростью 1,3°С/мин возникал

одинокый ПД, равнялся  $-101 \pm 3$  мВ. Отсюда, согласно уравнению 14, величина  $V_{th}$  составляет в данном случае примерно 60 мВ. В целом  $V_{th}$  у возбудимых клеток стебля тыквы варьирует в пределах от 10 до 60 мВ, обнаруживая сильную зависимость от температуры [190, 210, 213, 216, 226]. Сходные величины  $V_{th}$  имеют возбудимые клетки ряда других высших растений [443, 697]. Примечательно в этой связи, что  $V_{th}$  у животных объектов также составляет обычно несколько десятков милливольт [262, 541].

О величине порога возбуждения у высших растений можно также судить по пороговой силе раздражителя, выраженной в соответствующих единицах. Такой подход к оценке величины порога свойствен прежде всего для тех работ по распространяющемуся возбуждению у высших растений, в которых регистрация процесса генерации ПД осуществляется внеклеточно, что, естественно, затрудняет или делает невозможной определение величины  $V_{th}$ . В частности, под температурным порогом возбуждения понимается перепад температур  $\Delta t^\circ$ , способный вызвать у возбудимых клеток высшего растения генерацию распространяющегося ПД [188, 209, 226]. Его величина, по некоторым данным [188], может быть очень низкой и составлять всего  $1-2^\circ$ .

Возникает вопрос, всегда ли правомерно судить о порогах возбуждения по пороговой силе того или иного раздражителя и как охарактеризованные подобным образом пороги соотносятся с  $V_{th}$ ? Анализ этого вопроса на примере температурного порога возбуждения при использовании в качестве раздражителя постепенного охлаждения проведен в работе [216]. Показано, что использование температурного порога возбуждения для оценки пороговых условий генерации ПД у высших растений правомерно, если исследования проводятся на объектах с приблизительно одинаковой чувствительностью к действию данного раздражителя, обусловленной, например, стандартными условиями выращивания [188, 209, 226]. Только тогда можно ожидать, что изменения пороговой силы раздражителя, являясь пропорциональными изменениям  $V_{th}$ , будут достоверно отражать поведение порога возбуждения. В противном случае попытка судить о величине порога возбуждения и  $V_{th}$  по величине  $\Delta t^\circ$  может привести к заметным искажениям существа дела. В частности, как показано на рис. 28,  $V_{th1} > V_{th2}$ , хотя  $\Delta t_1^\circ < \Delta t_2^\circ$ .

Из изложенного выше следует, что  $V_{th}$  является более адекватной характеристикой величины порога возбуждения у высших растений, чем пороговая сила раздражителя.

**Аккомодация.** Явление аккомодации — зависимость величины порога возбуждения от скорости нарастания раздражающего воздействия — известно в физиологии животных и человека давно и изучено достаточно подробно [135, 262]. Аккомодация играет существенную роль в приспособлении живого организма к новым условиям существования и дает обширную информацию для диагностики функ-

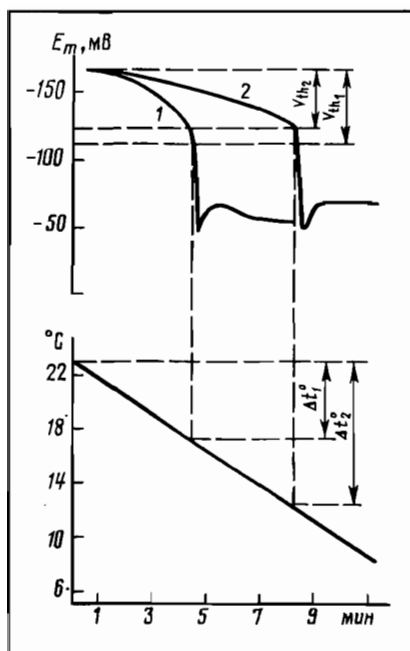


Рис. 28. Кинетика изменения  $E_m$  возбудимых клеток стебля проростков тыквы незакаленной (1) и закаленной (2) групп под влиянием постепенного охлаждения [216]

$V_{th1}, V_{th2}$  — пороговые потенциалы;  $\Delta t_1^\circ, \Delta t_2^\circ$  — температурные пороги возбуждения

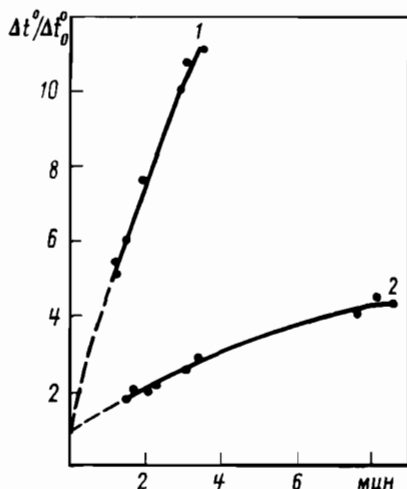


Рис. 29. Аккомодационные кривые возбудимых структур проростков тыквы [209]

По оси абсцисс — время нарастания силы температурного воздействия до пороговой величины, по оси ординат — отношение порогового температурного перепада  $\Delta t^\circ$  к мгновенному пороговому температурному перепаду  $\Delta t_0^\circ$ ; 1, 2 — кривые различного характера

ционального состояния его возбудимых систем как в области лабораторного эксперимента, так и на практике [135].

Об аккомодационных свойствах возбудимых структур у высших растений до недавнего времени ничего не было известно. Первые и пока единственные работы по этому вопросу опубликованы в конце 1970-х — начале 1980-х годов [209, 560, 701]. Генерацию ПД при этом вызывали с помощью электрической стимуляции [560, 701] и постепенного охлаждения [209].

Скорости нарастания раздражающих воздействий в опытах варьировали в достаточно широких пределах. Например, в случае охлаждения диапазон скоростей составил от 3,4 до 0,6° С/мин [209]. С уменьшением скорости охлаждения имело место отчетливое повышение порога возбуждения, о величине которого судили по температурному перепаду  $\Delta t^\circ$ , приводившему к генерации ПД.

Типичные аккомодационные кривые для проростков тыквы в опытах с постепенным охлаждением [209], показаны на рис. 29. Их важной особенностью является линейность в достаточно широких пределах изменения скорости и силы внешнего воздействия, что указывает на устойчивость процесса аккомодации у этого объекта. Кривая 1 ограничена наличием феномена минимального градиента: начиная с некоторой небольшой скорости охлаждения, ПД у проростка не возникали. Напротив, при получении кривой 2 феномен минимального градиента в исследованном интервале скоростей раздражающего воздействия ( $0,6—3,4^{\circ}\text{C/мин}$ ) обнаружен не был, но линейность хода кривой, как видно из рисунка, нарушается при раздражении стимулами малой крутизны. Аналогичное прогрессивное уменьшение скорости аккомодационного роста порога возбуждения показано у люпина [701]. Таким образом, характер аккомодационных изменений у высших растений может быть различен, причем даже в пределах одного таксономического вида. По характеру аккомодации возбудимые структуры растений, видимо, могут быть отнесены к абсолютно аккомодирующему (рис. 29, 1) или частично аккомодирующего (рис. 29, 2) типам 209.

Константа аккомодации  $\lambda$  для тыквы, рассчитанная по кривым 1 и 2 (рис. 29) как время нарастания силы раздражителя до порогового уровня, вдвое превышающего пороговую силу мгновенно нарастающего стимула [135], оказалась равной соответственно 0,3 и 1,9 мин. В целом величина данного параметра у проростков тыквы укладывалась в интервале 0,2—2,1 мин [209]. Константа аккомодации, определенная для люпина [701], составила 1,0—1,2 мин. Таким образом, наблюдается хорошее совпадение величины  $\lambda$  у двух различных представителей высших растений и ее превышение на 3—4 порядка над величинами  $\lambda$  возбудимых систем животных [135, 262], что, очевидно, отражает специфику динамических сдвигов порога возбуждения у высших растений.

Для оценки роли аккомодационных изменений порога возбуждения в жизнедеятельности растительного организма важное значение, на наш взгляд, имеет рассмотренная выше способность возбудимых структур высших растений (на примере проростков тыквы) к аккомодации при действии температурного раздражителя [209], оказывающего широкое влияние на высшие растения в естественных условиях. Становится очевидным, что вследствие аккомодационного "ухода" от ответа на медленно нарастающий во времени природный фактор возбудимые структуры растений, вероятно, сохраняют возможность реагирования генерацией ПД на действие других раздражителей, биологическое значение которых более велико. Тем самым, по-видимому, осуществляется одна из форм приспособления растительного организма к изменению условий внешней среды.

## Параметры потенциалов действия

**Амплитуда.** Амплитуда ПД у высших растений при обычно используемом внеклеточном отведении от поверхности неодревесневших травянистых органов варьирует в довольно широких пределах: от единиц до десятков милливольт. Изменения потенциала при генерации спайка направлены в сторону увеличения электроотрицательности (т.е. в сторону деполяризации клеток) с последующим восстановлением его исходного уровня. По знаку и порядку величин они совпадают с теми значениями, которые можно наблюдать при фокальной (поверхностной) регистрации ПД у низших растений, например у водорослей и у животных возбудимых объектов, в том числе у нервных препаратов [29, 30, 114, 126, 240, 245].

Высказывается мнение, что у водорослей, "чувствительных" и насекомоядных растений амплитуда ПД несколько выше, чем у остальных высших растений [82]. Однако объективную оценку этого параметра можно провести при анализе результатов микроэлектродных исследований в тех клетках и тканях, которые ПД непосредственно генерируют и проводят, а таких исследований на обычных высших растениях выполнено крайне мало (о локализации возбудимых клеток и путей проведения ПД в растении см. раздел 13).

Внутриклеточными электродами зарегистрированы ПД в возбудимых клетках локомоторных растений: мимозы, венеиной мухоловки, росянки и др. [429, 430, 630, 631, 692]. Наибольшей величины  $A_{нд}$  достигает в возбудимой клетке черешка мимозы — до 180 мВ. Это больше, чем обычно наблюдаемые изменения  $E_m$  в нервных волокнах при ПД ( $\sim 120$  мВ). По крайней мере внешняя причина такого феномена очевидна. Она заключается в том, что также велик и  $E_m^r$  возбудимых клеток мимозы: примерно  $-160 + -180$  мВ, что больше, чем в возбудимых животных клетках. В возбудимых клетках венеиной мухоловки и росянки  $A_{нд}$  обычно меньше.  $E_m^r$  этих клеток также соответственно меньшей величины.

У обычных высших растений наиболее основательные микроэлектродные исследования ПД проведены на удобных для внутриклеточной регистрации нежных тканях генеративных органов. Примерно такой же амплитуды, как у росянки (до 80—90 мВ), регистрируется распространяющийся ПД в способном к локомоции пестике инкарвиллеи [242, 639] или во флорном пучке нектарника липы [164]. Несколько меньшую амплитуду имеют зарегистрированные в этих же работах ПД в пестике лилии и секреторных клетках нектарника липы (30—60 мВ). По данным А.И. Духовного [82], амплитуда первого ПД, наиболее значительного по величине из возникающих в пестике кукурузы при прорастании пыльцы на рыльце (см. раздел 18), еще меньше. Она в среднем составляет  $26,5 \pm 7,6$  мВ. Существенно отметить, что  $E_m^r$  клеток генеративных органов также, как правило,

невелик. Так, способные передавать возбуждение в виде ПД клетки пестика кукурузы имеют  $E_m^r$  в рыльце и столбике  $-72 + -83$  мВ, а в завязи он равняется  $-77 + -84$  мВ [82]. В клетках вегетативных органов высших растений  $E_m^r$  обычно значительно выше (см. раздел 3).

В стебле нелокомоторного высшего растения (на примере тыквы) впервые исследовал ПД микроэлектродным способом А.М. Синюхин [239]. Для этого ему пришлось осуществить весьма сложную процедуру предварительной препаровки для обнажения возбудимых клеток, способных к проведению ПД. Как и у локомоторных растений, ПД имели весьма высокую амплитуду ( $\sim 90$  мВ). Они обнаружены в мелких клетках флоэмы, имеющих и относительно высокий  $E_m^r$  ( $-110 \pm 30$  мВ). Однако более поздние измерения  $E_m^r$  флоэмной паренхимы данного объекта, не сопряженные с регистрацией ПД и более стабильные, показали, что  $E_m^r$  этих клеток намного выше и равен  $-189 \pm 1,6$  мВ [66]. И.И. Гунару и сотрудникам [65] удалось зарегистрировать ПД внутриклеточно только в поверхностных клетках стебля тыквы (табл. 3), но амплитуда ПД в них была  $40-50$  мВ, т.е. меньше, чем в проводящих возбуждение клетках флоэмы.

Исследования, проведенные на интактных гипокотильях проростков тыквы, показали, что амплитуда ПД, распространяющегося вдоль гипокотилия, при его отведении от клеток флоэмной паренхимы вертикально погруженным внутрь стебля тонким вольфрамовым микрозондом (см. раздел 11) может достигать весьма значительных величин ( $\sim 150$  мВ), что в несколько раз превышает  $A_{пд}$  при отведении от поверхности стебля ( $\sim 40$  мВ). В среднем  $A_{пд}$  во флоэмной паренхиме составила  $111 \pm 11,2$  мВ [223]. Параллельно проведенные измерения  $E_m^r$  в клетках этой ткани внутриклеточными стеклянными микроэлектродами дали значения в среднем  $-181 \pm 4$  мВ [185, 222]. Указанные величины вполне сопоставимы с величинами  $A_{пд}$  и  $E_m^r$  в возбудимых клетках чувствительных локомоторных растений.

Итак, амплитуда пика в имеющих высокий  $E_m^r$  и способных к генерации ПД клетках высших растений, в том числе и нелокомоторных, действительно не уступает, а иногда и превышает этот параметр для ПД животных клеток. Чем выше  $E_m^r$ , тем, по-видимому, выше  $A_{пд}$  в клетках данного вида или типа ткани растения.

Обращает на себя внимание, что в возбудимых клетках высших растений, как правило, не происходит изменения знака  $E_m$  в пике ПД.

Таблица 3

ДЛИТЕЛЬНОСТЬ ФАЗ РАСПРОСТРАНЯЮЩЕГОСЯ ПД В СТЕБЛЕ ТЫКВЫ  
ПРИ РАЗНЫХ СПОСОБАХ РЕГИСТРАЦИИ

| Способ регистрации и раздражения                                                | Восходящая ветвь ПД, с | Нисходящая ветвь ПД, с   |                                          | Литературная ссылка |
|---------------------------------------------------------------------------------|------------------------|--------------------------|------------------------------------------|---------------------|
|                                                                                 |                        | Линейный участок пика ПД | Нелинейный выход на стационарный уровень |                     |
| <b>Экстраклеточно</b>                                                           |                        |                          |                                          |                     |
| макроэлектродами от поверхности стебля (раздражение охлаждением)                | $5,6 \pm 0,8$          | $16,3 \pm 2,8$           | $44 \pm 2,8$                             | [191]               |
| металлическими микроэлектродами от флоэмной паренхимы (раздражение охлаждением) | $4,6 \pm 0,7$          | $7,75 \pm 0,75$          | $26 \pm 2,5$                             | [223]               |
| <b>Внутриклеточно (стеклянными микроэлектродами)</b>                            |                        |                          |                                          |                     |
| в эпидермальных клетках поверхности стебля (раздражение срезанием)              | $2,3 \pm 0,8$          | $5,3 \pm 0,9$            | Отрицательный следовый потенциал         | [65]                |
| в основной паренхиме стебля (раздражение срезанием)                             | $1,67 \pm 0,8$         | $3,24 \pm 0,12$          | То же                                    | [65]                |
| во флоэмной паренхиме отпрепарированного пучка (раздражение 1 МКCl)             | $\sim 1-2$             | $\sim 3$                 | $\sim 7-8$                               | [239]               |

Приводимые, в частности, для мимозы примеры "овершута" [610, 631], вероятно, являются исключением, поскольку в большинстве случаев  $E_m$  в пике ПД в возбудимых клетках мимозы в среднем все же равен отрицательной величине: около  $-19 \pm 13 + -22 \pm 15$  мВ [630]. Можно думать, что обе отмеченные особенности ПД высших растений, т.е. высокая амплитуда и отсутствие овершута, могут быть связаны с работой электрогенного ионного насоса (см. разделы 14 и 15).

**Временные характеристики.** Пожалуй, наибольший интерес в сравнительно-эволюционном плане вызывает значительная длительность ПД высших растений. Если в нервах млекопитающих общая продолжительность пика ПД составляет 0,2—2,0 мс, то в клетках высших растений она варьирует от 0,5 с у насекомоядного растения венериной мухоловки до нескольких десятков секунд у обычных высших растений: тыквы, люпина, подсолнечника и др. [175, 245, 560].

Длительность ПД складывается из нарастающей ветви ПД (передний фронт, фаза деполяризации ПД) и нисходящей ветви ПД (задний фронт, фаза реполяризации ПД). В табл. 3 представлены в качестве примера временные параметры пика ПД, зарегистрированные в стебле тыквы,

Таблица 4

ДЛИТЕЛЬНОСТЬ ПЕРЕДНЕГО ФРОНТА И СКОРОСТЬ РАСПРОСТРАНЕНИЯ ПД  
У РАСТЕНИЙ И ЖИВОТНЫХ

| Номер* | Объект исследования            | Длительность<br>переднего фронта ПД, с | Скорость распростра-<br>нения ПД, см/с** |
|--------|--------------------------------|----------------------------------------|------------------------------------------|
| 1      | Аксон кальмара                 | 0,0002                                 | 2000 (0,4)                               |
| 2      | Нерв осьминога                 | 0,01                                   | 300 (3)                                  |
| 3      | Комиссура моллюска<br>беззубки | 0,1                                    | 4,6 (0,46)                               |
| 4      | Венерина мухоловка             | 0,2                                    | 2,0 (0,21)                               |
| 5      | Нителла                        | 1,2                                    | 2,3 (2,5)                                |
| 6      | Стебель тыквы                  | 1—5                                    | 0,5—1,5 (1,5—2,5)                        |

\* Номер 1 по [155], номера 2—5 по [126], номер 6 по [222, 223].  
 \*\* В скобках произведение длительности переднего фронта и скорости распро-  
 странения ПД.

т.е. на одном и том же объекте, при разных способах регистрации, всегда осуществляемой вне зоны действия раздражителя (при этом влияние самого раздражителя на параметры ПД сводится до минимума).

Из данных табл. 3 видно, что длительность переднего фронта ПД по сравнению с задним фронтом в стебле тыквы относительно невелика, особенно при внутриклеточной регистрации. Во флоэмной паренхиме (т.е. в возбудимых клетках) она почти не уступает таковой в возбудимой клетке флоэмной паренхимы мимозы (см. рис. 26).

Обращает на себя внимание особенно большая длительность нисходящей ветви ПД. За счет волны отрицательного следового потенциала или за счет длительного плавного выхода потенциала на стационарный уровень, что также можно рассматривать как отрицательный послепиковый потенциал, она, как правило, длится до 1 мин и более. Анализ этой особенности приводит к заключению методического характера, касающегося двухфазной регистрации ПД. Из-за большой длительности вероятность одновременной регистрации нисходящей ветви ПД высшего растения обеими измерительными электродами очень велика [191]. В этом плане четкая двухфазная запись ПД в стебле люпина [560] является счастливым исключением (благодаря большой длине самого стебля, позволяющей максимально увеличить расстояние между электродами). В работах по фито-электрофизиологии, особенно ранних, гораздо больше можно найти обратных примеров с "наложением" фаз ПД друг на друга. Длительность ПД по таким записям определить правильно нельзя.

Большая длительность ПД у высших растений, по-видимому, связана с тем, что регулировка электрическим полем возбудимых каналов еще не достигла у них той степени совершенства, как в животных объектах.

**Скорость распространения.** ПД, как уже отмечалось, характеризуется электрическим способом распространения, в общем случае подчиняющимся кабельному уравнению (см. раздел 9). В теории возбудимых систем "формализованный" подход к определению скорости ПД, т.е. вне зависимости от конкретной организации возбудимых мембран, предложен достаточно давно [115]. Он свидетельствует о том, что скорость распространения нервного импульса определяют главным образом параметры переднего фронта ПД. Для нахождения скорости распространения ПД достаточно знать производную изменения потенциала во времени  $dV/dt$  в момент достижения порога возбуждения, т.е. в первом приближении отношение  $A_{\text{пд}}$  к длительности его восходящей ветви [155].

Выше показано, что  $A_{\text{пд}}$  высших растений не меньше по величине амплитуды нервного импульса, а длительность восходящей ветви ПД при этом в тысячи раз больше, чем в нерве. Если считать, что проведение ПД у высших растений осуществляется в соответствии с их кабельными свойствами, как это происходит в возбудимых структурах животных, то скорость распространения ПД у них должна быть значительно меньше, чем у нервного импульса. При этом в различных растительных или животных возбудимых тканях скорость распространения ПД должна примерно соответствовать обратной величине длительности восходящей ветви ПД (уравнение 13). Анализ сравнительно-физиологических данных подтверждает это предположение.

Из данных табл. 4 видно, что сопряжение между длительностью переднего фронта и скоростью распространения ПД весьма велико. Произведение параметров (длительность  $\times$  скорость) во всем ряду указанных эволюционно различных объектов лежит в пределах примерно одного порядка (0,4—4).

Видимо, действительно, как отмечали еще А.М. Синюхин и В.В. Горчаков [245] в работе по ПД у нелокомоторных высших растений, "...характеристики ПД растительных и животных клеток имеют много общего, а количественные различия относительны" (С. 845).

Это свидетельствует о том, что механизм генерации распространяющихся ПД и сама организация возбудимых структур у высших растений и у животных имеют общую природу, несмотря на многие весьма специфические их различия.

## Генерация ритмически повторяющихся потенциалов действия

Способность генерировать ритмически повторяющиеся ПД в ответ на раздражение установлена к настоящему времени у многих живых организмов. В частности, естественная активность нервной и мышечной тканей животных осуществляется именно в виде ритмических импульсов возбуждения, а одиночный ПД при этом может рассматриваться как своеобразный физиологический артефакт [135].

Высшие растения также обнаруживают способность генерировать ритмически повторяющиеся ПД. Достаточно подробно, в частности,

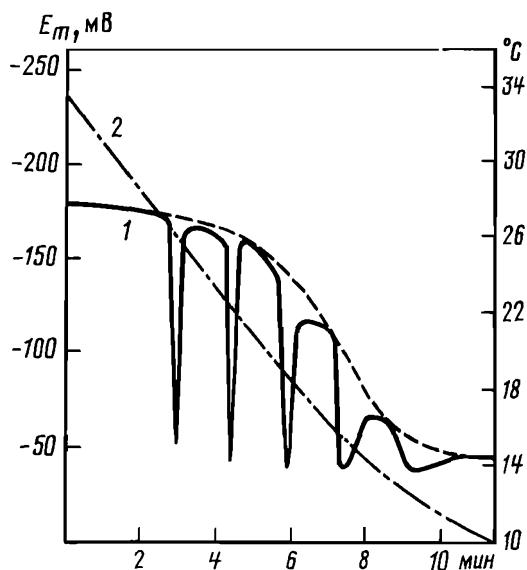


Рис. 30. Кинетика изменения  $E_m$  (1) клетки пучковой паренхимы стебля тыквы при постепенном понижении температуры (2), сопровождающаяся возникновением серии ритмически повторяющихся ПД [189]

Пунктирной линией показано изменение  $E_m^r$

описан феномен их появления в репродуктивной системе растений. Установлено, например, что попадание пыльцы на рыльце цветка индуцирует возникновение ритмически повторяющихся импульсов, перемещающихся к завязи, что связано, по-видимому, с подготовкой генеративного органа к оплодотворению [82].

Генерация ритмически повторяющихся ПД показана и при легком механическом раздражении (мягкой кисточкой) волосков чашелистика и нектарника высшего растения (на примере липы) [164]. Серии редко чередующихся импульсов возникают при этом в проводящем пучке, обслуживающем нектарник.

Помимо генеративного органа ритмически повторяющиеся ПД возникают в ответ на раздражение вегетативных органов, прежде всего стебля высших растений (рис. 30). В число раздражителей, при действии которых в вегетативных органах показано возникновение ритмически повторяющихся импульсов возбуждения, входят растворы солей (KCl, NaCl, LiCl) различной, обычно высокой, концентрации [59, 109, 245, 430, 443], 2,4-Д [76, 245], атразин [245], серный эфир [556], ожог [206, 679], постепенное охлаждение [189, 206, 210, 213, 548].

Возникающая в ответ на раздражение ритмика обычно имеет более или менее регулярный характер [109, 189, 206, 210, 213, 430, 443, 548], но иногда проявляется в виде следующих друг за другом своеобразных "залпов", каждый из которых характеризуется определенным соотношением амплитуд составляющих их импульсов [59, 245].

Процесс генерации ритмически повторяющихся ПД зависит от интенсивности раздражающего воздействия и может быть весьма длительным. Так, в опытах В.Г. Карманова и соавторов [109] на отрезках стебля тыквы длительная генерация ритмически повторяющихся ПД (21 импульс за 2 ч 20 мин) наблюдалась при концентрациях KCl, используемого как раздражитель, от 0,5 мМ и выше. Интервалы между импульсами до 13-го составляли около 5,2 мин, в конце серии — 15 мин. Напротив, длительность импульсов в пределах серии уменьшалась по мере их последовательного возникновения от 1 мин до 5—10 с. Меньшие концентрации KCl (0,1—0,3 мМ) не вызывали генерацию ритмически повторяющихся ПД.

Зависимость количества возникающих ритмически повторяющихся ПД от интенсивности раздражителя показана также С.С. Пятыгиным [206]. Повреждающее температурное воздействие в форме ожога вызывало в стебле тыквы генерацию 4—5 чередующихся импульсов с интервалами времени между ними от 1,0 до 2,5 мин, в то время как умеренное температурное воздействие (постепенное охлаждение от 23 до 11°) — лишь 2, реже 3 последовательных ПД.

Способность возбудимых клеток высших растений генерировать ритмически повторяющиеся ПД обнаруживает зависимость от исходной температуры опыта. Так, у тыквы [213] в ответ на постепенное охлаждение в различных температурных режимах наибольшее количество ритмически повторяющихся ПД, достигавшее 10, возникало в стебле при охлаждении от 35—32°. Изменение исходной температуры опыта в сторону ее повышения или понижения относительно 35—32° сопровождалось уменьшением количества возникающих ритмически повторяющихся ПД и могло приводить к потере способности их генерировать. Это проявлялось в возникновении только одиночных импульсов или полном отсутствии импульсной формы ответа.

Несмотря на сравнительно большое число работ, посвященных возникновению ритмически повторяющихся ПД у высших растений, наиболее полное представление о причинах генерации ритмик дают лишь те из них, в которых осуществлялась внутриклеточная регистрация электрической активности в зоне действия раздражителя [189, 210, 213, 430, 443, 548]. Из результатов таких работ следует, что основным условием возникновения ритмически повторяющихся ПД у высших растений является продолжающаяся после генерации первого импульса деполяризации клеточной мембраны, обеспечивающая многократное достижение (или превышение) изменяющегося уровня порога возбуждения (см. рис. 30). При этом ясно, что скорость подпороговой деполяризации должна быть выше скорости изменения порога возбуждения, поскольку в противном случае пороговый уровень достигнут не будет [135].

Описанный механизм генерации ритмически повторяющихся ПД реализуется обычно, когда интенсивность раздражающего воздействия нарастает постепенно от подпороговых до пороговых величин. В случае резких воздействий, величина которых заведомо выше

величины порога возбуждения, можно полагать, что резко деполяризованная возбудимая мембрана переходит в неустойчивое состояние повышенной функциональной активности, когда уже порог возбуждения изменяется вслед за превысившей его деполяризацией. Генерация ритмически повторяющихся ПД при этом будет длиться, очевидно, до тех пор, пока уровень порога не достигнет уровня деполяризации мембраны под влиянием раздражителя.

На основании изложенных выше представлений о механизме генерации ритмически повторяющихся ПД у высших растений нетрудно понять, почему вероятность появления ритмически повторяющихся импульсов возрастает с увеличением интенсивности раздражающего воздействия. Что же касается причин связи способности возбудимых клеток высших растений генерировать ритмически повторяющиеся ПД с исходной температурой опыта [213], то здесь обращает на себя внимание обстоятельство, что область  $32-35^{\circ}$ , при охлаждении от которой количество возникающих ритмически повторяющихся ПД в стебле тыквы было наибольшим (до 10 импульсов), совпадает с максимумом метаболической компоненты  $E_m^r$  клеток этого объекта в физиологическом диапазоне температур [215]. Метаболическая компонента  $E_m^r$ , согласно концепции сопряжения генерации ПД с работой

электрогенного  $H^+$ -насоса возбудимой мембраны (см. раздел 15), играет важную роль в создании высоких электрохимических ионных градиентов, необходимых для генерации электрических импульсов возбуждения у высших растений. Отсюда можно полагать, что при  $32-35^{\circ}$ , где величина  $E_p$  максимальна, имели место и самые высокие исходные, электрохимические градиенты ПД-образующих ионов, обеспечивающие тем самым наиболее благоприятные потенциальные условия для генерации ритмически повторяющихся ПД. Зависящая от температуры величина порога возбуждения у тыквы вблизи  $30^{\circ}$  также весьма невелика [213].

Завершая рассмотрение феномена генерации ритмически повторяющихся ПД у высших растений в ответ на действие различных экзогенных факторов, можно предположить, что он проявляется прежде всего у тех индивидуально наиболее "реактивных" объектов, пороговый уровень возбудимых структур которых исходно очень низок и в результате легко достигаем. Априори представляется очевидным, что такие "высокореактивные" растения среди общего числа подвергнутых испытанию в рамках опыта должны составлять меньшинство. Именно этим обстоятельством, по-видимому, может быть объяснен тот факт, что возникновение ритмически повторяющихся ПД в ответ на постепенное умеренное охлаждение (от  $23$  до  $11^{\circ}$ ) стебля тыквы было обнаружено не более чем у одной трети испытанных проростков [210]. Остальные проростки, условно менее "реактивные", отвечали на столь умеренное внешнее воздействие генерацией одиночного ПД.

Тот факт, что генерация ритмически повторяющихся ПД у высших растений, в отличие от животных, имеет место в ответ на раздражение далеко не всегда, свидетельствует, судя по всему, о том, что ритмики ПД являются лишь частным вариантом естественной функциональной активности возбудимых структур растительного организма. Благодаря ритмически повторяющимся ПД обеспечивается, очевидно, возможность достаточно длительного влияния импульсной формы возбуждения на физиологическое состояние тканей растения.

### 13. РЕЦЕПЦИЯ РАЗДРАЖЕНИЯ. ПУТИ РАСПРОСТРАНЕНИЯ ПОТЕНЦИАЛА ДЕЙСТВИЯ И ЕГО ТРАНСФОРМАЦИЯ В ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ ОТВЕТ

Восприятие раздражения, генерация импульса, его распространение до того или иного органа и трансформация в функциональный ответ составляют цепь взаимосвязанных процессов, осуществление которых позволяет в конечном итоге реализовать ту роль, которую выполняет ПД в растении.

#### Рецепция раздражения

Рецепция раздражения исследована у высших растений крайне слабо, хотя у некоторых из них, в основном двигательных, электрофизиологическим способом точно установлен этап рецепции и возникновение рецепторного потенциала, приводящего затем к генерации ПД [689, 690]. С определенной долей уверенности можно считать, что у высших растений отсутствуют такие высокоспециализированные рецепторные образования, какие имеются у животных (механорецепторы, световые рецепторы и т.п.). Следует, очевидно, говорить лишь о некоторой специализации ряда клеток, направленной на восприятие внешнего раздражения и выражающейся или в некотором изменении морфологии, например появлении осязательных пор (см. раздел 12), или в несколько большей чувствительности к действию данного фактора. Таким образом, по крайней мере на сегодняшний день, мы можем считать, что рецепция раздражений у высших растений морфологически слабо оформлена и речь, по-видимому, следует вести о тех молекулярных преобразователях, которые существуют в растительной клетке и которые могут быть подключены к восприятию раздражения.

При такой постановке вопроса, очевидно, необходимо попытаться определить эти молекулярные звенья на первых этапах рецепции для каждого типа раздражителя, имея в виду, однако, что в любом случае цепь событий должна заканчиваться изменением  $E_m'$ , а именно достижением им порогового значения.

Наиболее простая ситуация, очевидно, складывается при действии таких электролитов, как KCl и NaCl, которые содержат потенциалоп-

ределяющие ионы и действие которых направлено непосредственно на  $E_m$  путем изменения ионных электрохимических градиентов.

Значительно сложнее, по-видимому, рецепция неорганических солей, у которых ионы не связаны напрямую с электрогенезом. Здесь может включаться целая гамма явлений, таких, как действие на состояние липидного матрикса, а через него на работу электрогенных насосов и ионных каналов; непосредственное действие на состояние ионных каналов; влияние на состояние электрогенных систем мембраны путем ее растяжения и сжатия вследствие изменения осмотических свойств клетки; изменение состояния мембраны и ее электрогенных систем путем изменения поверхностного заряда и т.д.

Особый интерес в смысле рецепции раздражения представляют осмотические явления. У растений они играют своеобразную роль вследствие наличия клеточной оболочки, являющейся весьма плотным каркасом. Изменение объема клетки заставляет плазматическую мембрану прижиматься к клеточной стенке или отходить от нее. При этом в результате изменения механического давления меняется конфигурация электрогенных насосов (в частности,  $H^+$ -АТФазы), и это приводит к ослаблению или усилению их деятельности [596]. Такой способ восприятия раздражения, очевидно, имеет место и при чисто механических воздействиях на растительную ткань (давление, деформации и др.)

Весьма четко прослеживаются в настоящее время молекулярные основы восприятия температурного раздражения у растений (см. раздел 16). Что касается светового фактора, то его воздействие связано прежде всего с пигментными системами клетки (фитохром, фотосинтетические пигменты), однако цепь процессов, приводящих к пороговой деполяризации поверхностной мембраны, остается пока недостаточно ясной.

Все сказанное выше не означает, однако, что восприятие раздражений у высших растений лишено какой-либо специфичности. Так, например, генерация ПД происходит при попадании на рыльце цветка пыльца. Однако возникновение электрических импульсов, достигающих завязи, как правило, не наблюдается, если на рыльце подействовать таким же по силе, но не адекватным механическим раздражением (прикосновение кисточкой, попадание механических частиц) [242].

По крайней мере две причины можно выделить в качестве основы такой специализации. Во-первых, это некоторая комплексность раздражителя. Например, при попадании пыльца механический фактор, очевидно, подкрепляется определенными химическими стимулами. Во-вторых, специфическая настроенность данной молекулярной системы к восприятию данного раздражителя. Так, при холодной закладке растения липидный состав биомембран меняется таким образом, что температура фазового перехода сдвигается в сторону более низких значений. В соответствии с этим ПД возникает в ответ на действие более глубокого охлаждения (см раздел 16).

Очень существенная роль в восприятии различного рода раздра-

жителей в высших растений принадлежит, по-видимому, ионам  $\text{Ca}^{2+}$ . Последние, как известно, находятся в мембране в связанном состоянии с фосфолипидами и особенно белками [359]. Воздействие внешнего фактора может нарушать эту связь и приводить к освобождению  $\text{Ca}^{2+}$ . Данный эффект показан, например, при действии 2, 4-Д [86], геотропической стимуляции [577] и ряде других раздражителей [423]. Поскольку связанный с мембраной Са играет важную роль в поддержании ее определенного конформационного состояния [608], то его освобождение из мембраны может привести к увеличению ее проницаемости [360] и как следствие — появлению рецепторного потенциала, который, в свою очередь, может при определенных условиях вызвать генерацию ПД. Кстати, необходимо отметить, что пока неясно, в каких случаях возникают у растений рецепторные потенциалы, а там, где они возникают, остается невыясненной их трансформация в импульсный ответ.

Из сказанного выше нетрудно заметить, что восприятие разных раздражителей осуществляется у высших растений часто с использованием одних и тех же молекулярных механизмов, хотя иногда и в разных сочетаниях. Такая универсальность, по-видимому, вполне целесообразна, если учесть условия существования этих организмов, ведущих неподвижный образ жизни и воспринимающих постоянно самые разнообразные воздействия почти всей своей поверхностью. При этом обращает на себя внимание нередко очень высокая чувствительность рецепторного восприятия, позволяющая различать, например, перепад температур в  $1-2^\circ$  и отвечать на него генерацией ПД [188]. Отсутствие у высших растений специальных рецепторов раздражений не противоречит, однако, тому факту, что в их мембранах имеются особые рецепторные белки для восприятия факторов гормональной природы и некоторых других лигандов, поскольку такая рецепция обычно не приводит к возникновению волны возбуждения, сопровождающейся генерацией ПД.

## Пути распространения потенциала действия

Органом, в котором происходит преимущественное распространение ПД у высших растений, является стебель. По имеющимся данным, корни и листья не обладают этой способностью [150, 699]. Наблюдения о том, что ПД могут распространяться и по листу [625], носят единичный характер и не получили пока уверенного подкрепления. В то же время генерация ПД происходит при нанесении раздражения не только на стебель, но также на корень, лист и другие части растения [175, 570].

Вопрос о том, по каким тканям осуществляется распространение ПД в стебле, специально обсуждался в литературе. Здесь можно выделить две точки зрения. Согласно одной, в распространении ПД могут участвовать все ткани стебля [65, 108]. Этот взгляд основывается на том, что электрические ответы типа ПД регистрируются в месте раздражения во всех клетках стебля [129]. В ряде случаев удается заре-

гистрировать ПД небольшой амплитуды в непучковых клетках стебля и на расстоянии от раздражаемого участка [65].

В соответствии с другой точкой зрения каналом распространения ПД в стебле высших растений являются проводящие ткани. Известно, что появление в ходе эволюции каналов преимущественного распространения возбуждения явилось мощным фактором в историческом развитии живых объектов. Поэтому вопрос о наличии у высших растений специализированных тканей, участвующих в проведении ПД, имеет большое принципиальное значение. К.А. Тимирязев [255] в связи с этим отмечал, что "...если у растений подтвердится (предполагаемое некоторыми учеными) существование известных путей, по которым раздражение сообщается быстрее, чем по другим, то в них придется признать нечто, по крайней мере физиологически соответствующее нервам" (С. 226).

Подтверждение важной роли проводящих пучков в распространении ПД осуществлялось с помощью нескольких подходов. Проводилась препаровка проводящих тканей, в разной степени затрагивающая их целостность [151, 627, 675]. Производилось наложение на стебель механического блока, позволяющего дозированно нарушать основную паренхиму и проводящие ткани [702]. Наконец, имеются работы, в которых роль проводящих пучков в распространении ПД у высших растений выяснялась с помощью электрофизиологической методики [30, 239, 630].

Все эти исследования с несомненностью приводят к заключению о важной роли проводящих пучков в распространении ПД. В связи с этим встает вопрос о том, как следует отнестись к указанным выше наблюдениям, показывающим участие в этом процессе и других тканей стебля. Нам представляется, что ответ на этот вопрос может быть дан только на основе анализа кабельных свойств тканей стебля, поскольку именно кабельная постоянная  $\lambda$  в первую очередь характеризует способность той или иной биологической структуры передавать электрический импульс. Под кабельной постоянной понимают, как известно, то расстояние, на котором импульс затухает в  $e$  раз.

В нашей лаборатории было проведено определение кабельной постоянной тканей стебля тыквы путем изучения степени затухания биоэлектрических реакций на тестирующее холодное воздействие при их электротоническом распространении в рефрактерный период (т.е. когда ПД распространяться не могут) [223]. На рис. 31, А представлено затухание фронта деполяризации, электротонически распространяющегося вдоль стебля. Это затухание носит монотонный характер и начинается таковое при определении  $\lambda$  в стебле традесканции [88]. Если, однако, изобразить полученные результаты в полулогарифмическом масштабе, то мы получаем не прямую линию, а более сложную зависимость (рис. 31, Б). Эта зависимость, выражающаяся кривой 1, может быть разложена на две прямые —  $a$  и  $b$ , из которых прямая  $b$  проходит через начало координат. Следовательно, зависимость, описывающая затухание электротонического потенциала в стебле тыквы, выражается более корректно не в виде одной экспоненты с усреднен-

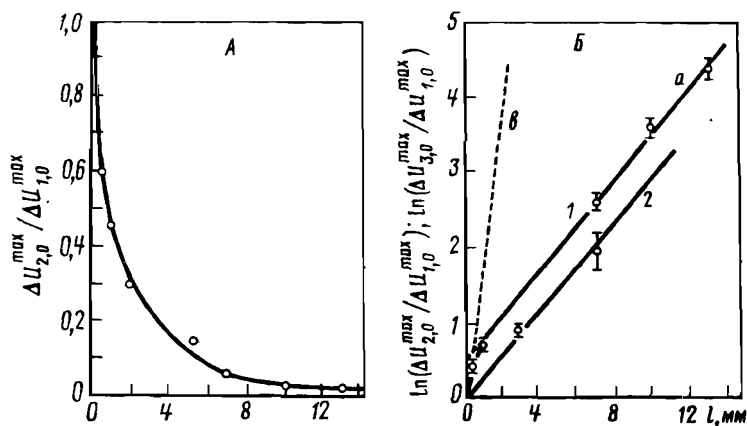


Рис. 31. Затухание фронта деполяризации, электротонически распространяющегося вдоль стебля [223]

А — зависимость от расстояния отношения амплитуды электротонически распространяющейся деполяризации, отводимой от поверхности стебля 14-дневного проростка тыквы, к амплитуде деполяризации в зоне локального охлаждения; Б — зависимость от расстояния логарифма отношения амплитуд электротонически распространяющейся деполяризации при поверхностном (1) и внутрипучковом (2) способах отведения к амплитуде деполяризации в зоне охлаждения: а — линейный участок кривой 1, б — прямая, построенная как разность антилогарифмов ординат кривой 1 и прямой а

ной константой  $\lambda$  в показателе степени, а в виде суммы двух экспонент:

$$\Delta U_{2,0}^{\max} / \Delta U_{1,0}^{\max} = \exp(-\Delta l / \lambda_a) + \exp(-\Delta l / \lambda_b). \quad (15)$$

Установленный факт дал основание полагать, что в интактном стебле тыквы мы имеем не одну, а две кабельные структуры с разными значениями  $\lambda$ . Одной из них на рис. 31, Б соответствует прямая а, а в другой — прямая б.

Действительно, зависимость  $\ln(\Delta U_{3,0}^{\max} / \Delta U_{1,0}^{\max}) = f(\Delta l)$ , полученная при отведении БЭР металлическим микроэлектродом, погружаемым в периферическую зону наружной флоры пучков, и также отвечающая критерию электротонически распространяющейся БЭР (одновременность изменений разностей потенциалов  $\Delta U_{3,0}$  и  $\Delta U_{1,0}$ ), в графическом виде выражалась прямой 2, выходящей из начала координат и параллельной прямой а. Таким образом, прямая а, очевидно, отражает кабельные свойства проводящих тканей стебля. Что касается прямой б, то она соответственно должна отражать кабельные свойства остальных тканей стебля, т.е. внепучковых клеток.

Определение кабельных постоянных обеих кабельных линий дало значения:  $\lambda_a = 3,4$  мм,  $\lambda_b = 0,6$  мм. Обе величины превышают размеры одной клетки и относятся соответственно: первая — к симпласту

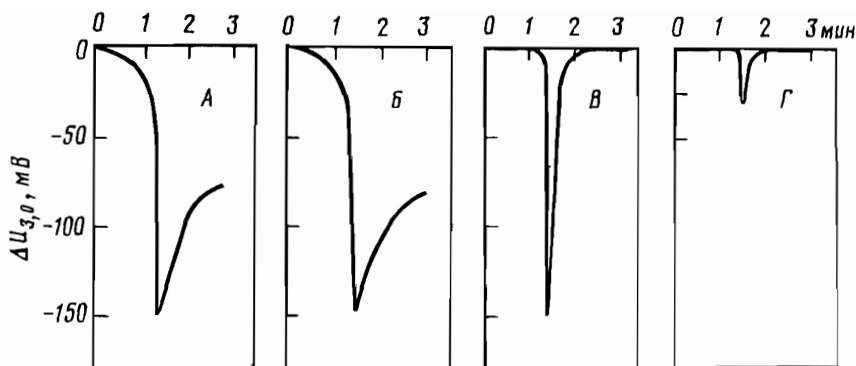


Рис. 32. Биоэлектрические реакции, возникающие в стебле проростка тыквы в ответ на его умеренное локальное охлаждение [223]

Микроэлектрод погружен: А — в периферическую область наружной флоэмы в зоне локального охлаждения стебля, Б — в межпучковую ткань в этой зоне, В — в периферическую область наружной флоэмы на расстоянии 50 мм от зоны охлаждения, Г — в межпучковую ткань на том же расстоянии от зоны охлаждения

пучковых клеток, а вторая — к симпласту внепучковых клеток стебля.

Поскольку в симпласте стебля тыквы имеют место две кабельные структуры с различными значениями  $\lambda$ , то следует ожидать, что эти структуры по-разному участвуют в распространении ПД.

Как видно из рис. 32, амплитуда фронта ПД в зоне охлаждения могла достигать 150 мВ и при микроэлектродном отведении имела одинаковую величину как в клетках проводящего пучка, так и во внепучковых клетках. Отсюда можно заключить, что генерировать фронт ПД в ответ на непосредственное действие раздражителя могут как пучковые, так и внепучковые клетки. Что касается способности проводить возникший ПД, то, как видно из рис. 32, независимо от расстояния до зоны раздражения внутри пучка регистрировались импульсные изменения разности потенциалов примерно такой же амплитуды, что и в этой зоне. В то же время при поверхностном отведении ПД на расстоянии 25 мм от зоны охлаждения его амплитуда была значительно меньше, чем у спайка, распространяющегося внутри пучка.

Таким образом, бездекрементное распространение ПД в стебле осуществляется в проводящих пучках. Внепучковые клетки основной паренхимы и эпидермиса, по-видимому, принимают активное участие в восприятии раздражения, возбуждаясь и генерируя фронт ПД сами, но способностью к бездекрементному распространению ПД они, в отличие от пучковых клеток, не обладают. Это, очевидно, связано с более высокой электропроводностью симпласта внутри пучков. Если предположить, что сопротивление изоляции пучковой и внепучковой кабельных линий, т.е. мембранное сопротивление  $R_m$ , у клеток

стебля одинаково, то, исходя из уравнения кабельной постоянной [155]

$$\lambda^2 = R_m / (R_0 + R_i), \quad (16)$$

где  $(R_0 + R_i)$  — сумма внешнего и внутреннего сопротивлений кабеля на единицу его длины, и основываясь на том, что полученное значение  $\lambda_a$  больше  $\lambda_b$  в 5,6 раза, можно заключить, что сумма  $(R_0 + R_i)$  для симпласта внутripучковых клеток примерно в 32 раза меньше, чем для внепучковых. Поскольку внешнее сопротивление  $R_0$ , т.е. сопротивление апопласта, для кабельных линий, составленных пучковыми и внепучковыми клетками, также, очевидно, можно считать одинаковым, то это значит, что собственная электропроводность симпласта пучков должна более чем в 32 раза превосходить электропроводность симпласта вне пучков. Отсюда средняя плотность плазмодесм в проводящих ПД паренхимных клетках проводящих пучков должна быть значительно выше, чем в клетках основной паренхимы и эпидермиса стебля (прямых анатомических данных такого характера в литературе не приводится) [53].

Исходя из полученных данных о кабельных свойствах стебля, можно объяснить, почему амплитуда ПД, отводимого вне зоны раздражения от его поверхности, в несколько раз меньше соответствующей величины, определенной нами при внутripучковом отведении.

В первом приближении можно принять, что внепучковые клетки совершенно не возбуждаются при распространении спайка внутри пучка, поскольку локальные токи, замыкающиеся в них, не могут обеспечить пороговой деполяризации их возбудимых в принципе мембран. Кабельная постоянная  $\lambda_b$  для внепучковых клеток равна 0,6 мм. Проводящие пучки в стеблях используемых в экспериментах проростков удалены от поверхности на глубину 0,5—0,6 мм. Следовательно, распространяющийся пассивно от пучка к поверхности импульс должен затухать на этом расстоянии примерно в  $e$  раз, т.е. в 2,7 раза. Амплитуды ПД, зарегистрированных при поверхностном и внутripучковом способах отведения вне зоны раздражения, отличаются в 3,6 раза ( $31 \pm 4$  и  $111 \pm 11$  мВ соответственно). Отсюда реальное затухание импульса ПД при его распространении вне пучка даже несколько больше, чем показывает расчет на основании кабельных свойств внепучковых тканей. Поэтому появление импульса амплитудой 20—40 мВ на поверхности стебля вполне может быть объяснено только его электротоническим распространением от внутripучковых тканей. По последним импульс распространяется активно как волна надпорогового электрического возбуждения паренхимных клеток проводящих пучков.

Весьма примечательна способность проводящих пучков взаимодействовать между собой в ходе распространения волны возбуждения. Это выражается в том, что волна возбуждения при определенных условиях может передаваться в поперечном направлении от одного проводящего пучка к другому. Данное явление зависит от числа возбудимых элементов в пучке, т.е. от "мощности" возбуждения.

Поэтому, например, по наблюдениям Сиббаока [631], в листовом черешке мимозы ПД легко передается от толстого пучка к тонкому, но в обратном направлении этот процесс не происходит.

В основе межпучковых взаимодействий лежат, по-видимому, электротонические явления [631]. Подобный тип передачи, называемой эфаптической, достаточно подробно исследован для пучков нервных волокон [152, 154].

Наличие межпучковых взаимодействий может, вероятно, привести к возникновению у растений так называемых коллективных состояний, которые также имеют свою аналогию в деятельности нервных волокон [153]. Их суть состоит в том, что при одновременном возбуждении двух или более пучков генерируемые импульсы могут как бы "зацепиться" друг за друга и образовать общий импульс. Экспериментальные доводы в пользу такого кооперирования получены со стеблями тыквы [109]. Степень объединения импульсов, вероятно, зависит от интенсивности раздражения. Мощная кооперация происходит лишь при очень сильных воздействиях. Под влиянием естественных раздражителей ПД может распространяться в данном проводящем пучке независимо от соседних. Это отчетливо прослеживается на черешках листьев мимозы и было впервые продемонстрировано Босом [30].

Поскольку проводящий пучок является сложным образованием, состоящим из разного типа клеток, то важно знать, какие из них ответственны за распространение ПД. Путем хирургического удаления различных тканей черешка мимозы некоторым авторам удалось показать, что важную роль в этом отношении играют элементы флоэмы [424, 627, 643, 675]. Однако впервые прямой ответ на данный вопрос был дан Босом [30], разработавшим методику электрического зондирования проводящих тканей. Он установил, что в проводящем пучке мимозы распространение ПД происходит по наружной флоэме и протоксилеме, которую Бос назвал внутренней флоэмой. Эти результаты нашли подтверждение в последующих работах, причем была дополнительно выявлена доля участия разных клеток этих тканей в распространении возбуждения.

Путем микроэлектродных исследований удалось показать, что в проводящих пучках мимозы, а также растений, не проявляющих быстрых двигательных реакций, таких, как тыква и борщевик, высоким  $E_m'$  и

способностью генерировать ПД обладают лишь относительно мелкие удлинённые паренхимные клетки флоэмы и протоксилемы [239, 630]. У мимозы они имеют ~10 мкм в диаметре и 120 мкм в длину. Весьма примечательно, что эти клетки образуют многочисленные ряды вдоль продольной оси проводящего пучка. Сравнительный анализ электрохимических свойств паренхимных клеток проводящих пучков показал, что они хорошо приспособлены для генерации и проведения ПД (см. раздел 14).

Особо следует отметить самостоятельность путей проведения возбуждения и передвижения веществ в проводящих пучках. Прямые

электрофизиологические измерения показывают, что ПД не распространяется по ситовидным трубкам [630]. Об этом же свидетельствует и тот факт, что протоксилема успешно осуществляет передачу импульса, хотя в ней отсутствуют ситовидные элементы [631]. Таким образом, мы приходим к заключению о наличии у высших растений специального канала, обеспечивающего быстрое перемещение волны возбуждения. Как уже отмечалось, он представлен удлинненными паренхимными клетками флоэмы и протоксилемы. Вполне возможно, что сюда следует отнести также и некоторые клетки метаксилемы [631], хотя этот вопрос еще окончательно не решен.

## Трансформация потенциала действия в функциональный ответ

После достижения ПД того или иного органа растения (листа, корня, завязи и т.д.) через определенный латентный период наступает функциональный ответ. Поскольку у высших растений ПД не несут, по-видимому, какой-то конкретной информации, а служат в основном сигналом о внешнем воздействии, то функциональный ответ данного органа проявляется путем временного перехода свойственных ему физиологических процессов на иной уровень. Как будет показано ниже (см. раздел 18), этот переход носит колебательный характер и является неспецифическим, т.е. разные раздражители в разных органах вызывают однотипные по кинетике функциональные ответы: в листе — фотосинтеза [174], в корне — поглощения веществ [182] и т.д. Однако, как конкретно протекает указанная трансформация, остается практически невыясненным.

По-видимому, начальным ее этапом является возникновение в данном органе под влиянием ПД местной электрической реакции, выражающейся в смещении  $E_m'$  клеток. С помощью микроэлектродов эта реакция не фиксировалась, однако путем макроэлектродной регистрации она установлена вполне отчетливо в листьях [74], корнях [182] и других органах.

Смещение  $E_m'$  под влиянием ПД может иметь в своей основе разные причины. Поскольку генерация ПД у высших растений связана с возникновением больших суммарных ионных потоков, приводящих к значительным ионным сдвигам в примыкающем к возбудимым клеткам пространстве (см. раздел 14), то это вполне может отразиться на величине  $E_m'$  клеток данного органа. Однако если допустить, как это делают ряд авторов [150, 699], что ПД не распространяется в листе и корне, то этот путь нельзя признать достаточно эффективным, поскольку латентный период между приходом ПД в данный орган (лист, корень и др.) и изменением  $E_m'$  его клеток весьма невелик и по данным для листа тыквы составляет от 4 до 20 с [74]. За такой короткий промежуток времени ионные сдвиги (или перемещение какого-либо

фактора химической природы) вряд ли в состоянии охватить влиянием весь орган. Поэтому более реальным представляется электротоническое действие ПД, которое благодаря имеющимся клеточным коммуникациям может быть весьма эффективным. В результате происходит смещение  $E'_m$  клеток, что суммарно выражается в изменении электрической полярности данного органа.

Изменение  $E'_m$  под влиянием ПД неизбежно должно отразиться на функциональной активности клеток, поскольку от величины  $E'_m$  зависит работа многих мембраносвязанных систем (см. раздел 8). В корне, например, вслед за смещением его электрической полярности, вызванным ПД, наблюдаются конформационные изменения белков в поверхностных мембранах эпидермальных клеток, что четко установлено по десорбции красителя бирюзового прямого светопрочного [127]. Эти изменения затрагивают АТФазные белки мембран [181], а также, по-видимому, вторичные системы активного транспорта, работающие в основном за счет энергии  $\Delta\bar{\mu}H^+$ . В результате под влиянием ПД происходят сдвиги в поглотительной деятельности корней, в частности, в поглощении  $H_2PO_4^-$  [182]. Показательно, что кинетика изменений поглощения  $H_2PO_4^-$  корнями с некоторым запаздыванием хорошо повторяет кинетику изменений АТФазной активности [181].

Безусловно, что для других органов (листья, завязь, верхушка растения и др.), наряду с некоторыми общими моментами должны иметь место специфические явления в цепи событий, приводящих к изменению функций, свойственных данному органу. Так, может возникнуть проблема передачи сигнала от поверхностной мембраны к внутриклеточным системам. Весьма перспективным здесь представляется привлечение идеи мессенджеров. Определенно роль такого мессенджера при действии ПД мог бы играть  $Ca^{2+}$ , который легко выходит из поверхностной мембраны растительной клетки и, возможно, других внутриклеточных депо этого иона при различных воздействиях. Данная идея сейчас развивается Дэвисом [363, 364]. Поскольку внутриклеточная концентрация свободного  $Ca^{2+}$  у высших растений поддерживается на очень низком уровне —  $10^{-6}$  —  $10^{-8}$  М [576], то увеличение его содержания может через ту или иную систему (например, фосфоинозитидную) оказать регуляторное действие на протекание ряда физиологических процессов. В этой связи следует отметить, что принципиальная возможность освобождения Са из связанного состояния и перехода его в ионизированную форму под влиянием ПД показана в нашей лаборатории В.А. Калининым с помощью индикатора  $Ca^{2+}$  ализаринового красного сульфоната [176].

## 14. ИОННЫЕ МЕХАНИЗМЫ ГЕНЕРАЦИИ ПОТЕНЦИАЛА ДЕЙСТВИЯ У ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ

Несмотря на то что в настоящее время накоплен достаточно большой фактический материал, свидетельствующий о том, что ПД у высших растений — широко распространенная и важная функция, механизмы его генерации остаются слабо изученными. Данные о природе трансмембранных ионных токов ( $I_j$ ) или нетто-потоков ( $I = I_j/z_jF$ ), сопровождающих ПД, получены преимущественно на гигантских клетках харовых водорослей и в гораздо меньшей степени — на клетках высших растений. Последние имеют сложную структуру проводящих возбуждение тканей и мелкие клетки, поэтому для них пока не осуществлены исследования ионных токов при возбуждении общепринятым в электрофизиологии методом фиксации напряжения. Основным приемом при изучении этого вопроса у высших растений является анализ ионных сдвигов, возникающих во время генерации и распространения ПД.

### Ионные сдвиги при возбуждении

Для высших растений наиболее определенные доказательства возникновения ионных нетто-потоков при генерации ПД (на основе изучения ионных сдвигов) впервые были получены Торияма [666]. Применяя гистохимическую методику, он установил, что в проводящих тканях черешка мимозы без возбуждения (в этом варианте растения для предотвращения возбуждения предварительно "наркотизировали" парами эфира) ионы калия локализованы главным образом в паренхимных клетках флоэмы и протоксилемы, т.е. в тех клетках, которые Сибакка [630] назвал возбудимыми, так как именно они проводят ПД. Сразу после раздражения  $K^+$  обнаруживался в межклетниках, ситовидных трубках и сосудах. Отсюда можно сделать важный вывод, что в ходе распространения ПД по проводящим тканям происходит выход значительных количеств  $K^+$  из генерирующих ПД паренхимных клеток проводящих тканей в апопласт и в ситовидные трубки.

С этим выводом в определенной степени согласуются результаты работы И.И. Гунара и Л.А. Паничкина [69]. В ней указывается, что концентрация  $K^+$  в пасоке, вытекающей из декапитированного стебля подсолнечника, начинает увеличиваться сразу при регистрации в стебле распространяющегося электрического импульса. Правда, авторы связывают это явление главным образом с выбросом  $K^+$  из корневой системы. Однако представляется реальным, что первоначальное увеличение концентрации  $K^+$  в пасоке определяется его выходом из генерирующих ПД паренхимных клеток в прилегающие сосуды, так как биоэлектрическая реакция распространяется по стеблю значительно быстрее, чем поток раствора от корней по ксилеме. Авторы отмечают также, что концентрация  $Ca^{2+}$  в пасоке снижается при регистрации ПД в стебле. Это позволяет предполагать возникновение при генерации ПД потока  $Ca^{2+}$ , входящего в возбудимые клетки проводящих тканей.

Еще ранее, исследуя ионные потоки в корневой системе при раздражении, И.И. Гунар и сотрудники [67] обнаружили зеркальную периодичность в поглощении и выделении  $K^+$  и  $Ca^{2+}$  корнями. Было высказано мнение, что пара ионов  $Ca^{2+}/K^+$  играет в процессах возбуждения у растений ту же роль, что и пара  $Na^+/K^+$  в нервах животных. Это мнение подтверждалось и другими исследованиями [49, 61, 62], в которых отмечалось четкое увеличение выхода  $K^+$  в среду и входа  $Ca^{2+}$  из среды, омывающей корни, при раздражении надземной части растения. Однако прямым свидетельством участия  $Ca^{2+}$  и  $K^+$  в генерации ПД эти работы все же не являлись, ибо из надземной части в корни ПД не распространяются и их покровными клетками не генерируются [150]. Они позволяют говорить лишь о предположительном участии потока  $K^+$  в реполяризации, а потока  $Ca^{2+}$  — в деполяризации возбудимой мембраны при генерации ПД у высших растений.

Можно считать вероятным в формировании ПД у высших растений и выходящего потока анионов  $Cl^-$ , создающего входящий электрический ток (по направлению движения положительных зарядов). Увеличение концентрации  $Cl^-$  от 10 до 80 мМ зарегистрировано в апопласте листовой подушечки мимозы во время ПД [609]. Предполагается, что это увеличение вызвано потоком  $Cl^-$  из возбудимых клеток. Авторы вначале считали, что выход  $Cl^-$  при возбуждении связан только с двигательным актом листовой подушечки как моторного органа. Однако их дальнейшие электрофизиологические исследования показали, что амплитуда ПД в не обладающих моторной активностью возбудимых клетках черешка мимозы очень сильно зависит от изменения концентрации  $Cl^-$  во внеклеточной среде [610]. Это подтверждает "хлорную природу" генерации пика ПД, хотя известно, что у некоторых высших растений, например у альдрованды [443] и венериной мухоловки [429], амплитуда ПД почти неизменна при варьировании  $Cl^-$  в среде и резко возрастает при увеличении внеклеточной концентрации  $Ca^{2+}$ .

Таким образом, имеются отдельные наблюдения, показывающие, что нетто-потоки ионов  $K^+$ ,  $Ca^{2+}$  и  $Cl^-$  могут возникать в генерирующих и проводящих ПД клетках и тканях высших растений. Однако, чтобы уверенно судить о природе этих ионных потоков и о характере их участия в генерации ПД, необходимо в первую очередь иметь количественные результаты о том, сколько и каких ионов переносится через единицу клеточной поверхности за определенные фазы развития ПД или хотя бы в более грубом приближении за все время генерации спайка. Такой подход был реализован в нашей лаборатории при исследовании ПД-индуцированных ионных сдвигов в стеблях проростков тыквы [176, 192, 220, 225, 549].

Для растений тыквы существует отработанная несложная методика быстрого (сравнимого по времени с длительностью ПД) получения проб флоэмного эксудата [387], являющегося содержимым ситовидных элементов. Мембраны последних не участвуют в генерации ПД [630], но клетки флоэмной паренхимы, передача ПД по которым показана неоднократно, располагаются параллельно ситовидным труб-

Таблица 5

ВЛИЯНИЕ ОДИНОЧНОГО ПД НА СОДЕРЖАНИЕ ИОНОВ  
ВО ФЛОЭМНОМ ЭКСУДАТЕ ИЗ ГИПОКОТИЛЕЙ ПРОРОСТКОВ ТЫКВЫ, мМ

| Вариант                 | K <sup>+</sup> | Na <sup>+</sup> | Cl <sup>-</sup> | Ca (ионизиру-<br>ванный +<br>связанный) |
|-------------------------|----------------|-----------------|-----------------|-----------------------------------------|
| В покое                 | 72,4 ± 4,1     | 0,8 ± 0,1       | 15,6 ± 1,3      | 2,5 ± 0,4                               |
| При прохож-<br>дении ПД | 102,5 ± 8,7    | 1,7 ± 0,2       | 21,3 ± 1,4      | 4,4 ± 0,8                               |

Таблица 6

ИОННЫЕ ПОТОКИ, НАПРАВЛЕННЫЕ В СИТОВИДНЫЕ ТРУБКИ,  
ПРИ ГЕНЕРАЦИИ РАСПРОСТРАНЯЮЩЕГОСЯ ПД В ПРОВОДЯЩИХ ТКАНЯХ  
ГИПОКОТИЛЯ ПРОРОСТКА ТЫКВЫ

| Ион              | Величина потока,<br>моль · см <sup>-2</sup> · мин <sup>-1</sup> | Плотность потока,<br>моль · см <sup>-2</sup> · с <sup>-1</sup> |
|------------------|-----------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------|
| K <sup>+</sup>   | 0,5 + 1,2 · 10 <sup>-8</sup>                                    | ~ 0,85 · 10 <sup>-9</sup>                                      |
| Cl <sup>-</sup>  | 0,1 + 0,2 · 10 <sup>-8</sup>                                    | ~ 0,15 · 10 <sup>-9</sup>                                      |
| Na <sup>+</sup>  | 0,2 + 0,3 · 10 <sup>-9</sup>                                    | ~ 0,25 · 10 <sup>-10</sup>                                     |
| Ca <sup>2+</sup> | 0,4 + 0,6 · 10 <sup>-9</sup>                                    | ~ 0,5 · 10 <sup>-10</sup>                                      |

Пр и м е ч а н и е. Нетто-потоки для K<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup> и Na<sup>+</sup> рассчитаны по ионным сдвигам во флоэмном эксудате, для Ca<sup>2+</sup> — по сдвигам концентрации общего Ca (ионизированного и связанного).

кам и тесно прижаты к ним своими оболочками. Можно было ожидать, что ионные потоки, возникающие при генерации ПД в практически недоступных для прямого анализа внутриклеточного содержимого возбудимых паренхимных клетках тыквы, достигнут и ситовидных трубок. Данные Торияма [666] о выходе K<sup>+</sup> у мимозы из флоэмных паренхимных клеток в ситовидные трубки при возбуждении прямо подтверждают такую возможность.

В табл. 5 представлены результаты измерения содержания ионов во флоэмном эксудате проростков тыквы методом пламенной фотометрии и радиоактивных индикаторов (<sup>36</sup>Cl<sup>-</sup>). Видно, что эксудат, полученный из растений, по которым проходит ПД, отличается более высоким содержанием всех исследованных ионов по сравнению с эксудатом невозбужденных растений.

Наблюдаемые сдвиги в содержании K<sup>+</sup> (~30 мМ) соответствуют входу в ситовидные элементы, имеющие диаметр 10 — 15 мкМ, (0,5 + 1,2) · 10<sup>-8</sup> моль K<sup>+</sup> на 1 см<sup>2</sup> их боковой поверхности. Поток развивается за время генерации одиночного ПД, равное 10 + 20 с (рис. 33). Отсюда средняя плотность нетто-потока K<sup>+</sup> составляет 10<sup>-9</sup> моль · см<sup>-2</sup> · с<sup>-1</sup>. Рассчитанная аналогичным образом на основе ионных сдвигов плотность нетто-потока Cl<sup>-</sup> примерно в 5 раз меньше, чем у нетто-потока K<sup>+</sup>. Ионные сдвиги и, следовательно, нетто-потоки Na<sup>+</sup> и Ca<sup>2+</sup> по крайней мере на порядок меньше, чем нетто-потоки K<sup>+</sup> (табл. 6).

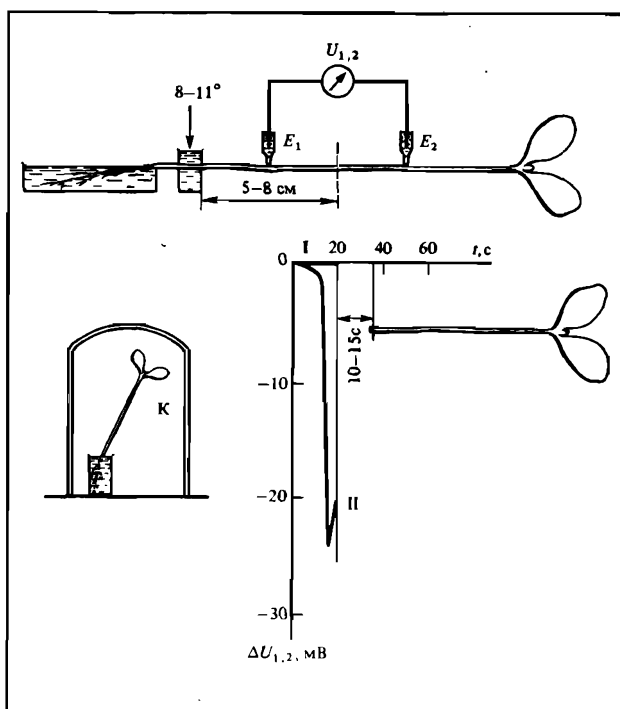


Рис. 33. Схема постановки опыта по выявлению ионных сдвигов во флоэмном эксудате при прохождении ПД по гипокотилу проростка тыквы

Пунктиром обозначено место нанесения разреза для сбора эксудата. Стрелками: 5—8 см — расстояние от места разреза до зоны охлаждения стебля водой (8—11°); 10—15 с — время выделения эксудата, собираемого капилляром;  $U_{1,2}$  — самописец, регистрирующий изменение разности потенциалов между электродами  $E_1$  и  $E_2$ ; I — запись  $\Delta U_{1,2}$  у контрольного растения; II — запись  $\Delta U_{1,2}$  у опытного растения; K — контрольное растение, предварительно "наркотизируемое" в парах эфира 20 мин. Ноль на оси абсцисс — начало раздражения контрольного и опытного растений охлаждением

Весьма интересно сопоставить величины и плотности ионных нетто-потоков, возникающих при генерации ПД в проводящих тканях, с соответствующими характеристиками ионных потоков, возникающих при генерации ПД в известных возбудимых объектах. На гигантском аксоне кальмара было показано, что за время генерации одного ПД чистый вход  $\text{Na}^+$  в аксон и чистый выход  $\text{K}^+$  из него составляют  $(3 + 4) \cdot 10^{-12}$  моль  $\cdot$  см $^{-2}$   $\cdot$  имп $^{-1}$  [465]. В клетке харовой водоросли при генерации одиночного ПД переносится ионов значительно больше:  $\text{Cl}^- - (0,2 + 1,6) \cdot 10^{-8}$  моль  $\cdot$  см $^{-2}$   $\cdot$  имп $^{-1}$  и  $\text{K}^+ - (2,0 + 4,2) \cdot 10^{-8}$  моль  $\cdot$  см $^{-2}$  имп $^{-1}$  [396]. В работе [23] указывается, что "принципиальным отличием" ионных токов у харовых водорослей от токов в аксоне кальмара является перенос во время возбуждения в сотни раз большего заряда. Этот вывод, очевидно, относится и к проводящим

тканям высших растений, где, как видно из табл. 6, также переносится ионов за время ПД в сотни-тысячи раз больше, чем в аксоне.

Однако, по нашему мнению, ионные потоки, возникающие при генерации ПД во всех этих эволюционно различных возбудимых образованиях, имеют и определенное сходство. Так, длительность ПД в аксоне около 1 мс. Отсюда средняя плотность ПД-образующего потока  $K^+$  или  $Na^+$  за время генерации нервного импульса составляет величину порядка  $10^{-9}$  моль  $\cdot$  см $^{-2}$   $\cdot$  с $^{-1}$ . Длительность ПД в клетке харовой водоросли  $\sim 10$  с. Отсюда плотность ПД-образующих потоков у нее в соответствии с приведенными выше данными [396] также  $10^{-9}$  моль  $\cdot$  см $^{-2}$   $\cdot$  с $^{-1}$ . Наконец, плотности потоков  $K^+$  и  $Cl^-$ , возникающих в клетках проводящих тканей тыквы при генерации ПД, тоже имеют порядок  $10^{-9}$  моль  $\cdot$  см $^{-2}$   $\cdot$  с $^{-1}$  (см. табл. 6).

Такое совпадение, по-видимому, не случайно. Оно позволяет предположить, что потоки  $K^+$  и  $Cl^-$  играют наиболее важную роль в генерации ПД у высших растений, а меньшие по величине потоки  $Ca^{2+}$  и  $Na^+$  (см. табл. 6), видимо, вносят значительно меньший вклад в этот процесс. Поскольку механизм участия в генерации ПД у растений достаточно основательно изучен лишь на гигантских клетках водорослей, то для дальнейшего анализа вопроса целесообразно рассмотреть сведения о механизме генерации ПД у этих "модельных" объектов.

## Электрохимические модели генерации потенциала действия в растительных объектах

Теоретическую основу процесса возбуждения в клетках харовых водорослей, так же как и в клетках животных объектов, составляет классическая электрохимическая модель Ходжкина и Хаксли, показавших, что сложная кинетика изменения  $E_m$  при генерации ПД может быть объяснена сравнительно простыми изменениями диффузионной ионной проницаемости возбудимых мембран. Ходжкин и Хаксли экспериментально обосновали, что между величиной ионного тока  $J_j$  ионов сорта  $j$ , участвующих в генерации нервного импульса, и электрохимическим градиентом для  $j$  на мембране существует линейная зависимость

$$J_j(E_m, t) = g_j(E_m, t)[E_m(t) - E_N], \quad (17)$$

где коэффициент пропорциональности  $g_j(E_m, t)$  — проводимость мембран для  $j$ , зависящая от времени  $t$  и величины мембранного потенциала  $E_m(t)$  в данный момент времени  $t$ , а  $E_N$  — значение равновесного потенциала, определяемое в соответствии с уравнением Нернста как логарифм отношения концентраций  $j$  вне  $[j]^{out}$  и внутри  $[j]^{in}$  клетки:

$$E_N = \frac{RT}{z_j F} \ln \frac{[j]^{out}}{[j]^{in}}. \quad (18)$$

Уравнение 17 составлено на основе эквивалентной схемы возбудимой мембраны с параллельным соединением ЭДС для потенциалопределяющих ионов. Напомним, что величине  $g_j$  в уравнениях эквивалентных схем соответствует близкая по смыслу величина — коэффициент ионной проницаемости  $P_j$  в уравнениях "постоянного поля" (уравнения 4 и 5).

Импульс ПД при возбуждении харофитов генерируют одновременно и плазмалемма и тонопласт клетки. В обеих мембранах изменения потенциала на восходящей фазе ПД положительны, т.е. идут в направлении имеющего знак "плюс" равновесного потенциала  $E_N$  (уравнение 18).  $E_m'$  тонопласта сам по себе положителен, поэтому в

отличие от плазмалеммы на нем формируется импульс гиперполяризации, но значительно меньшей амплитуды, чем импульс деполяризации плазмалеммы [52, 389, 466]. Таким образом, ПД интактной клетки харовой водоросли, всегда развивающийся в сторону деполяризации, — это главным образом ПД плазмалеммы. Данный вывод, по-видимому, справедлив и для высших растений.

Джеффи и Муллинс [396], используя различные меченые атомы ( $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Cl^-$ ), установили, что только  $P_{Cl}$  (или  $g_{Cl}$ ) резко (в сотни раз) возрастает при генерации ПД у хары. Отсюда можно заключить, что в формировании ПД у харовых водорослей основную роль может играть лишь один тип селективной мембранной проницаемости, а именно увеличивающаяся при возбуждении диффузионная хлорная проницаемость.

Результаты некоторых экспериментов в условиях фиксации напряжения на плазмалемме и тонопласте подтвердили вывод о том, что фазу деполяризации ПД у харофитов определяет ионный ток  $Cl^-$  —  $J_{Cl}$  [23]. Авторы показали, что добавление в наружную среду эквивалентных количеств  $CaCl_2$  или  $NaCl$  смещало потенциал реверсии входящего (деполяризующего) тока на одну и ту же величину в соответствии с уменьшением равновесного потенциала  $E_N$  для аниона  $Cl^-$  (для катионов  $Na^+$  и  $Ca^{2+}$  равновесный потенциал при введении добавок во внешнюю среду должен не уменьшаться, а увеличиваться).

В то же время ранее было установлено, что изменение внеклеточной концентрации  $Ca^{2+}$  также может изменять амплитуду входящего тока у многих харовых водорослей [388, 434]. В работе [39] было обнаружено существование еще одной, хотя и меньшей, чем хлорная, компоненты входящего тока у харовой водоросли нителлы. Впоследствии [6] установлено, что она связана с потоком  $Ca^{2+}$ . Удалось не только идентифицировать эту компоненту входящего тока, но и, реконструировав в искусственной билипидной мембране одиночный  $Ca^{2+}$ -канал, изучить химический состав каналобразующих комплексов [5, 41]. Полагают, что этот канал представляет собой кластер, состоящий из нескольких десятков элементарных каналов [20], которые включаются и выключаются одновременно.

Большинство экспериментальных данных, характеризующих ионный механизм генерации ПД в клетках харовых водорослей, уклады-

вается в схему, предложенную в работах Г.Н. Берестовского и соавторов [21, 461, 495]. При деполяризации мембран до порогового уровня происходит активация электрическим полем  $\text{Ca}^{2+}$ -каналов.  $\text{Ca}^{2+}$ , входя в цитоплазму, активирует хлорные каналы плазмалеммы и тонопласта.  $\text{Cl}^-$  выходит из клетки и в итоге формируется суммарный фронт ПД. Таким образом, фазу деполяризации ПД в клетках харофитов обеспечивают возбудимые потенциалзависимые  $\text{Ca}^{2+}$ -каналы и возбудимые  $\text{Ca}^{2+}$ -активируемые  $\text{Cl}^-$ -каналы.

Бэйлби и Костер [301] показали, что кинетика изменения проводимости  $\text{Ca}^{2+}$ -и  $\text{Cl}^-$ -каналов может быть описана уравнениями типа

$$g_j = \bar{g}_j m^3 h, \quad (19)$$

где  $\bar{g}_j$  — максимальная проводимость мембраны, а  $m$  и  $h$  — параметры активации и инактивации, аналогичные введенным для  $\text{Na}^+$ -канала аксона. Отсюда доля возбудимых деполяризующих каналов в клеточной мембране растительной клетки, находящихся в данный момент процесса возбуждения в открытом состоянии ( $\sigma_j$ ), как и в нервной клетке, должна быть пропорциональна проводимости мембраны для данного иона:

$$g_j = M_j g_j^* \sigma_j, \quad (20)$$

где  $M_j$  — число  $j$ -каналов на единицу площади мембраны;  $g_j^* = \text{const}$  — проводимость одиночного открытого возбужденного  $j$ -канала.

Фаза реполяризации ПД у харофитов обеспечивается выходящим потоком  $\text{K}^+$  через  $\text{K}^+$ -каналы, которые функционируют в покое (см. раздел 4), но, вероятно, несколько активируются при возбуждении. О потенциалзависимости  $\text{K}^+$ -каналов покоя у харовых водорослей уже говорилось в разделе 4. В последнее время получены доказательства, что активация  $\text{K}^+$ -каналов вакуолярных мембран харофитов при деполяризации зависит еще от концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  в цитоплазме [203]. Однако Джеффи и Муллинс [396] подсчитали, что достаточное для реполяризации увеличение калиевого тока из клетки харовой водоросли может происходить и без существенного увеличения  $g_{\text{K}}$  или  $P_{\text{K}}$ , а только в результате пассивного движения, вызванного уменьшением  $E_{\text{м}}$  хлорным током, т.е. за счет изменения  $g_{\text{Cl}}$ . Это отражено на эквивалентной схеме генерации ПД у нителлы (рис. 34, А), приведенной в обзоре [304]. Здесь же представлена и "альтернативная" схема генерации ПД (рис. 34, Б) у другого "модельного" растительного объекта, также весьма детально изученного, — ацетабулярии.

ПД у ацетабулярии [394, 402, 408, 409, 526], а также у нейроспоры [640] отличается от "классического" ПД в нервных волокнах и клетках харовых водорослей тем, что его генерация не связана с увеличением диффузионной ионной проницаемости мембраны. Напротив, "метаболический" ПД ацетабулярии характеризуется временным снижением мембранной проводимости  $g_{\text{м}}$  на фазе деполяризации ПД. Это

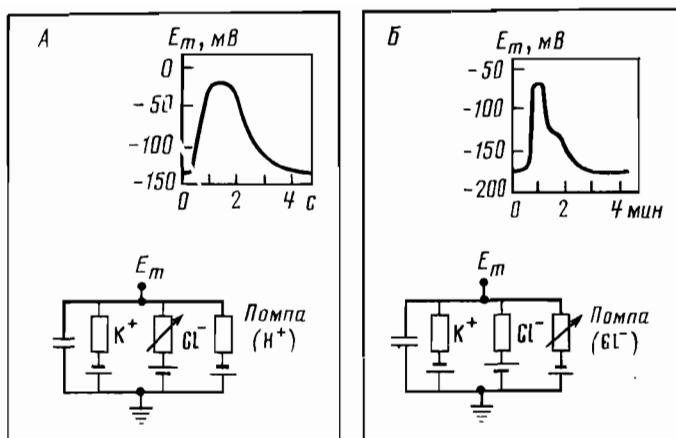


Рис. 34. Форма потенциала действия и эквивалентная схема для возбудимой мембраны нителлы (А) и ацетабулярии (Б) [304]

Стрелками отмечены вероятные возбудимые ионные каналы

обусловлено потенциалзависимыми скачкообразными изменениями проводимости (выключением-включением) электрогенного хлорного насоса, закачивающего  $\text{Cl}^-$  в клетки и создающего высокий  $E_m$  на клеточной мембране в покое (см. рис. 34, Б).

$E_m$  ацетабулярии имеет два стационарных уровня:  $E_m^0 = -170$  мВ и  $E_m^1 = -80$  мВ, а также один неустойчивый уровень (в максимуме ПД)  $E_m^* = -60$  мВ. Возможен переход:  $E_m^0 \rightarrow E_m^* \rightarrow E_m^1 \rightarrow E_m^0$ . Предполагается,

что переход  $E_m^0 \rightarrow E_m^*$  и представляет собой фазу деполяризации метаболического ПД. Она осуществляется при выключении электрогенного насоса. Переход  $E_m^* \rightarrow E_m^1 \rightarrow E_m^0$  осуществляется при включении насоса [228]. Метаболические ПД предположительно регулируют внутриклеточную концентрацию  $\text{K}^+$  и сопряжены с пулом АТФ в клетках [306, 526].

Таким образом, в настоящее время существуют две достаточно хорошо обоснованные концепции генерации ПД в растительных клетках: 1) "классического" ПД, возникающего в такой системе, где существует хотя бы один вид ионных каналов, резко увеличивающих пассивную селективную проницаемость мембран  $P_j$  для ионов сорта  $j$  в ответ на изменение электрического поля на мембране; 2) "метаболического" ПД, осуществляемого за счет потенциалзависимого выключения-включения электрогенного насоса, при этом резкого изменения пассивной ионной проницаемости мембран не происходит.

Реальные электрохимические процессы, определяющие биоэлектрогенез мембран растительных клеток при возбуждении, по-видимому, не укладываются полностью ни в первую, ни во вторую схему. Так, отмечается, что в интактных клетках ацетабулярии во время ПД наблюдается более мощный, чем в покое, выходящий поток  $\text{Cl}^-$ , который невозможно объяснить только выключением  $\text{Cl}^-$ -помпы. Предполагается, что везикулы, содержащиеся в цитоплазме, переносят часть  $\text{Cl}^-$  при возбуждении в электронейтральном виде [409]. Согласно другой точке зрения, при генерации ПД у ацетабулярии в 4—6 раз увеличивается пассивный поток  $\text{Cl}^-$  наружу через каналы, регулируемые величиной осмотического давления [689].

Неоднозначно решается в данное время вопрос и о роли систем активного транспорта при генерации ПД у харовых водорослей. Кишимото с соавторами [471], анализируя динамику изменения активной и пассивной проводимости, ЭДС и насосного тока в период генерации ПД у хары, нашел, что ЭДС насоса остается постоянной, но наряду со значительным увеличением пассивной проводимости при ПД (обеспечивающим общее увеличение  $g_m$ ) отмечается двукратное уменьшение проводимости  $\text{H}^+$ -насоса.

Таким образом, даже у относительно хорошо изученных гигантских клеток водорослей соотношение активных (подавление насосного тока) и пассивных (увеличение пассивной проводимости) механизмов ПД еще окончательно не установлено. Что касается электрохимических механизмов генерации ПД у высших растений, то они в гораздо большей степени неясны. Тем не менее иногда отмечают, что модель "классического" ПД с увеличением пассивной проводимости, разрабатываемая для клеток харовых водорослей, кажется более близкой к реальному механизму генерации ПД в клетках высших растений [304]. Экспериментально это обычно подтверждают тем, что на фазе деполяризации ПД у "чувствительных" растений (мимоза, альдрованда и т.п.) отмечается резкое снижение  $R_m$  их возбудимых клеток [283, 443, 609, 610], что также происходит и при генерации ПД в клетках харовых водорослей [358]. Полагают, что это свидетельствует о резком возрастании селективной мембранной проницаемости ( $P_{\text{Cl}}$  или  $P_{\text{Ca}}$ ) при достижении порога возбуждения [443].

Указанные в табл. 6 плотности нетто-потоков  $\text{Cl}^-$  и  $\text{K}^+$  близки к таковым у харофитов. Это также позволяет считать, что возникающие при генерации ПД ионные потоки в проводящих тканях высших растений имеют сходную природу с ПД-образующими потоками харовых водорослей, т.е. идут при возбуждении пассивно по градиентам электрохимических потенциалов и возникают в результате увеличения диффузионной проницаемости мембран возбудимых клеток по крайней мере для одного деполяризующего иона ( $\text{Cl}^-$ ).

Убедительные доказательства этого предположения были получены при анализе электрохимических характеристик клеток проводящих тканей стебля тыквы в покое и при возбуждении.

## Электрохимические характеристики клеток проводящих тканей в покое и при возбуждении

Градиенты электрохимического потенциала  $\Delta\bar{\mu}_j$  для ионов  $j$  в клетках проводящих тканей определяли [222, 549] как сумму электрической и концентрационной составляющих в (кДж·моль<sup>-1</sup>):

$$\Delta\bar{\mu}_j = z_j F E_m + RT \ln \frac{[j]^{\text{in}}}{[j]^a}, \quad (21)$$

где  $[j]^a$  — концентрация иона в сосудах ксилемы, т.е. в апопласте, а  $[j]^{\text{in}}$  — его концентрация внутри живых клеток, а именно в содержимом ситовидных трубок —  $[j]^{\text{ст}}$ , т.е. во флоэмном эксудате, и в паренхимных клетках —  $[j]^{\text{пк}}$ . Паренхимные клетки проводящих тканей в данном случае представляют собой всю пучковую паренхиму стебля и включают клетки флоэмы, ксилемы и недифференцированные клетки камбиальной зоны. По крайней мере часть этих клеток, согласно данным электрофизиологических исследований, участвует в проведении ПД, т.е. является возбудимой [222, 223].

Результаты измерений  $[j]^a$ ,  $[j]^{\text{ст}}$  и  $[j]^{\text{пк}}$  приведены в табл. 7.

Из данных таблицы видно, что концентрации  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{K}^+$  и  $\text{Na}^+$  в паренхимных клетках значительно выше, чем в апопласте. По-видимому, в паренхимных клетках они также выше, чем в ситовидных трубках. В отношении  $\text{K}^+$  это показано и гистохимически [194]. Как видно из рис. 35,  $\text{K}^+$  обнаруживает именно в тех участках проводящего пучка, где сосредоточены паренхимные клетки, т.е. на периферии наружной флоэмы (1), в камбиальной зоне (3), между сосудами (4) и в несколько меньшей степени во внутренней флоэме (6). В центральной зоне наружной флоэмы (2), которая состоит в основном из ситовидных элементов с клетками-спутниками, и в сосудах (5) плотность осадка значительно ниже, чем в перечисленных выше участках. Таким образом, прямые гистохимические измерения подтверждают, что в стебле тыквы паренхимные клетки проводящих тканей отличаются наиболее высоким содержанием  $\text{K}^+$ .

На основе найденных концентраций ионов с учетом величин  $E_m^r$  находили значения градиентов электрохимических потенциалов  $\Delta\bar{\mu}_{\text{K}}$ ,  $\Delta\bar{\mu}_{\text{Na}}$ , и  $\Delta\bar{\mu}_{\text{Cl}}$ . Из табл. 7 видно, что градиенты электрохимических потенциалов, являющиеся движущими силами пассивного ионного транспорта, направлены для катионов калия и натрия внутрь ситовидных трубок и паренхимных клеток, а для аниона хлора — наружу. Следовательно, нетто-поток  $\text{K}^+$  и, очевидно, сопутствующий ему незначительный поток  $\text{Na}^+$  не могут сразу при возбуждении выходить из возбудимых паренхимных клеток, хотя соответствующий градиент концентрации для этого существует. Для обеспечения выхода  $\text{K}^+$  ( $\text{Na}^+$ ) необходима деполяризация паренхимных клеток. Не совсем ясна ситуация с  $\text{Ca}^{2+}$ . В экспериментах, результаты которых представлены в табл. 7,

Таблица 7

КОНЦЕНТРАЦИЯ ИОНОВ (мм) И ГРАДИЕНТЫ ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИХ ПОТЕНЦИАЛОВ (кДж·моль<sup>-1</sup>) В РАЗЛИЧНЫХ ЭЛЕМЕНТАХ ПРОВОДЯЩИХ ТКАНЕЙ ГИПОКОТИЛЯ ТЫКВЫ В ПОКОЕ

| Ион j           | Среднее содержание в изолированных пучках, ммоль/кг сырой массы<br>$[j]^{\Sigma}$ | Сосуды ксилемы<br>$[j]^a$ | Ситовидные трубки |                              | Паренхимные клетки   |                                 |
|-----------------|-----------------------------------------------------------------------------------|---------------------------|-------------------|------------------------------|----------------------|---------------------------------|
|                 |                                                                                   |                           | $[j]^{\text{CT}}$ | $\Delta \bar{j}^{\text{CT}}$ | $[j]^{\text{ПК}}(1)$ | $\Delta \bar{j}^{\text{ПК}}(2)$ |
| K <sup>+</sup>  | 57,8 ± 3,5                                                                        | 3,5 ± 0,9                 | 98,0 ± 11,2       | -0,6                         | 164,8 ± 29,7         | -8,0                            |
| Na <sup>+</sup> | 3,6 ± 0,9                                                                         | 0,4 ± 0,2                 | 7,0 ± 4,1         | -1,6                         | 9,3 ± 4,6            | -9,6                            |
| Cl <sup>-</sup> | 9,3 ± 1,9                                                                         | 2,7 ± 1,0                 | 16,7 ± 4,3        | +13,1                        | 20,7 ± 8,4           | +22,3                           |
| Ca общ          | 3,4 ± 0,3                                                                         | 4,1 ± 0,3                 | 3,8 ± 0,4         | —                            | 1,5 ± 1,4            | —                               |

Примечания. 1) Концентрацию  $[j]^{\text{ПК}}$  рассчитывали приближенно, исходя из концентрации j в гомогенате проводящих тканей  $[j]^{\Sigma}$ , эксудате из ситовидных трубок  $[j]^{\text{CT}}$  и соке из сосудов ксилемы  $[j]^a$ , с учетом микрометрических измерений поперечных срезов клеток проводящих тканей по формуле

$$[j]^{\text{ПК}} = \frac{[j]^{\Sigma} - 0,6[j]^a - 0,15[j]^{\text{CT}}}{0,25},$$

где 0,6 — относительный объем апопласта на единицу длины пучка (0,35 — просветы сосудов и 0,25 — все клеточные стенки); 0,15 — относительный объем ситовидных трубок вместе с сопровождающими клетками; оставшаяся доля 0,25 — относительный объем паренхимных клеток пучка; 2) знак "минус" соответствует направлению вектора  $\Delta \bar{j}$  внутрь клеток, электрическая компонента  $\Delta \bar{j} (E_m^r)$  равна  $-0,181 \pm 0,004$  В для паренхимных клеток и  $-0,088 \pm 0,007$  В для ситовидных трубок.

измерялась концентрация общего кальция, т.е. ионизированного и связанного. Достоверных различий по данному показателю между различными компартментами не обнаружено. Поэтому можно лишь предполагать, что Ca<sup>2+</sup> при возбуждении способен входить как в паренхимные клетки, так и в ситовидные трубки из апопласта по исходно существующим электрическим градиентам. Что касается ионов Cl<sup>-</sup>, то они вполне определенно должны идти не только в апопласт, но и в ситовидные трубки из паренхимных клеток по градиентам электрохимического потенциала  $\Delta \bar{\mu} \text{Cl}^{\text{ПК}}$  и  $\Delta \bar{\mu} \text{Cl}^{\text{ПК}} - \Delta \bar{\mu} \text{Cl}^{\text{CT}}$ . В последнем случае мы имеем дело с разностью выходящих электрохимических градиентов из паренхимных клеток и из ситовидных трубок ( $\Delta \bar{\mu} \text{Cl}^{\text{ПК}} - \Delta \bar{\mu} \text{Cl}^{\text{CT}} = -9,2$  кДж/моль). Однако для реализации этих движущих сил необходимо или выключение активного транспорта Cl<sup>-</sup> внутрь паренхимных клеток (как у ацетабулярии) или увеличение хлорной проницаемости мембран (как у харовых водорослей).

Результаты компартментального анализа, проведенного на изоли-

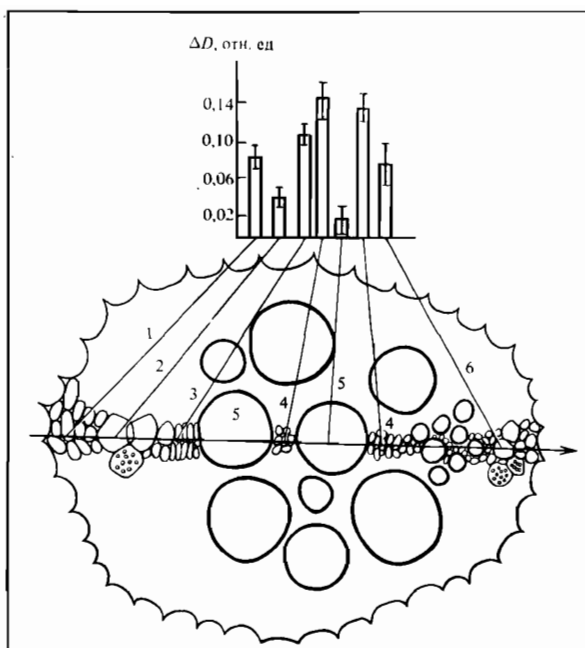


Рис. 35. Гистохимическое выявление  $K^+$  в клетках проводящего пучка гипокотыля проростка тыквы [194]

$D$  — оптическая плотность осадка солей калия в клетках проводящего пучка, обработанного гексакобальтнитритом натрия; 1 — периферия наружной флоэмы; 2 — центральная зона наружной флоэмы; 3 — камбиальная зона; 4 — ксилемная паренхима; 5 — сосуды ксилемы; 6 — внутренняя флоэма. Стрелкой обозначено направление движения оптической щели микрофотометра

рованных пучках стеблей тыквы [549], привели к заключению, что стационарная относительная проницаемость  $P_{Cl}/P_K$ , рассчитанная по константам выхода радиоактивных ионов  $^{36}Cl^-$  и  $^{86}Rb^+$  (аналог  $K^+$ ) из цитоплазмы пучков, весьма низка:  $P_{Cl}/P_{K(Rb)} = 0,07$ . Плотность односторонних стационарных выходящих потоков при этом составляет  $\sim 3$  и  $\sim 9$   $\mu\text{моль} \cdot \text{см}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$  для  $Cl^-$  и  $K^+$  соответственно. Расчет по уравнению Гольдмана—Ходжкина—Катца (уравнение 4) позволил установить [222], что для обеспечения переноса за время ПД 5–6 мМ  $Cl^-$  из паренхимных клеток в ситовидные трубки необходим поток этого иона  $\sim 200$   $\mu\text{моль} \cdot \text{см}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ . При этом коэффициент хлорной проницаемости  $P_{Cl}$  плазматических мембран клеток проводящих тканей должен возрасти примерно в 300 раз. Сопоставимые изменения проницаемости для деполяризующего иона возникают в аксоне [136] и клетках харовых водорослей [396] при генерации ПД.

Таким образом, при возбуждении в проводящих тканях высших растений происходит резкое увеличение пассивной ионной проницаемости  $P_{Cl}$  и резкое увеличение выходящего из возбудимых паре-

нихимных клеток диффузионного потока  $\text{Cl}^-$  "наружу", т.е. в апопласт и в ситовидные трубки, по существующим градиентам электрохимических потенциалов  $\Delta\mu\text{Cl}^{\text{пк}}$  и  $\Delta\mu\text{Cl}^{\text{пк}} - \Delta\mu\text{Cl}^{\text{ст}}$ . Этот поток может играть роль деполяризующего потока для возбудимых паренхимных клеток, поскольку создает входящий ток  $J_{\text{Cl}}$ .

В результате деполяризации даже при неизменном  $P_{\text{K}}$  плотность выходящего потока  $\text{K}^+$  из паренхимных клеток стебля тыквы на максимуме ПД должна возрасти в соответствии с уравнением Гольдмана—Ходжкина—Катца примерно в 90 раз (до  $\sim 800 \text{ пмоль} \cdot \text{см}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ ) за счет обращения  $\Delta\mu\text{K}$  наружу. По-видимому, выходящий ток  $J_{\text{K}}$  способен реполяризовать возбудимые паренхимные клетки [222].

## Роль ионных потоков $\text{K}^+$ , $\text{Cl}^-$ , $\text{Ca}^{2+}$ в генерации электрического импульса в проводящих тканях

Э.И. Вискребенцевой и А.М. Синюхиным [49] было показано, что длительность фазы реполяризации ПД у  $\text{K}^+$ -дефицитных растений тыквы значительно увеличивается. Впоследствии в нашей лаборатории установлено, что крутизна фазы деполяризации в зоне раздражения резко снижается у выращенных без  $\text{Cl}^-$  проростков тыквы [221]. Таким образом, опыты с исключением  $\text{Cl}^-$  и  $\text{K}^+$  из среды выращивания подтверждают участие этих ионов в процессах деполяризации и реполяризации при генерации ПД в проводящих тканях.

Однако существенным недостатком таких экспериментов является вполне вероятное изменение физиологического состояния "дефицитных" по какому-либо элементу растений по сравнению с контролем, а также то, что изменение соотношения  $[j]^{\text{ин}}/[j]^{\text{а}}$  при этом нельзя точно определить и прогнозировать. Значительно успешнее идентификация  $\text{Cl}^-$  как деполяризующего, а  $\text{K}^+$  как реполяризующего иона может быть проведена на частично изолированных (т.е. сохранивших связь со стеблем) проводящих пучках тыквы, омываемых проточным раствором. При этом можно контролировать ионный состав по крайней мере с внешней стороны клеток (в апопласте).

Как показано в нашей лаборатории, импульсная БЭР в зоне раздражения постепенным охлаждением у таких пучков возникает очень стабильно [227]. Эту БЭР можно интерпретировать как передний фронт ПД, хотя и не способный в данных условиях к распространению (местный ПД). При замене ионной оmyающей пучок среды ( $2\text{ММ K}^+$ ,  $1\text{ММ Ca}^{2+}$ ,  $1\text{ММ Na}^+$ ,  $1\text{ММ NH}_4^+$ ,  $2\text{ММ Cl}^-$ ,  $1\text{ММ H}_2\text{PO}_4^-$ ,  $1\text{ММ NO}_3^-$ ,  $1\text{ММ SO}_4^{2-}$ ), в которой он предварительно инкубировался в течение суток после препаровки, на дистиллированную воду амплитуда БЭР резко возрастает. Это можно объяснить увеличением направленного из возбудимых клеток электрохимического градиента для деполяризации иона  $\text{Cl}^-$  (но, возможно, и для других анионов). Снижение концентрационного градиента  $\text{K}^+$  без изменения  $\Delta\mu\text{Cl}$  (добавление в оmyающую деионизированную среду солей  $\text{K}^+$ , не содержащих  $\text{Cl}^-$ ) почти не сказывается на амплитуде ответа, но заметно

уменьшает его фазу реполяризации. Снижение  $\Delta\psi_{Cl}$  за счет добавления  $Cl^-$  в омывающий безионный раствор резко уменьшает амплитуду и скорость деполяризации, а увеличение  $\Delta\psi_{Cl}$  за счет исключения содержащих  $Cl^-$  солей из исходной омывающей ионной среды приводит к такому же увеличению амплитуды БЭР, как и замена исходной среды на деионизованную воду [217]. Результаты этих опытов свидетельствуют о том, что направленный из пучковых паренхимных клеток элетрохимический градиент для  $Cl^-$  является непосредственной движущей силой, обеспечивающей деполяризующий ток  $J_{Cl}$  при генерации ПД в проводящих тканях. Направленный в ту же сторону концентрационный градиент для  $K^+$  обеспечивает после деполяризации реполяризующий ток  $J_K$ .

В экспериментах на частично изолированных проводящих пучках тыквы исследовалась также роль  $Ca^{2+}$  в генерации ПД [217, 227]. Изменение концентрации  $Ca^{2+}$  в омывающем пучок растворе, в отличие от изменения концентрации  $Cl^-$ , почти не сказывается на параметрах БЭР. Лишь введение комплексона для  $Ca^{2+}$  ЭДТА в раствор или полное удаление  $Ca^{2+}$  из клеточных стенок длительным отмыванием лишает пучки способности к возбуждению. Добавление 1 мМ  $Ca^{2+}$  в омывающий раствор полностью восстанавливает способность к импульсному возбуждению. Этот феномен можно объяснить тем, что наличие незначительных количеств  $Ca^{2+}$  ( $\leq 1$  мМ) во внеклеточной среде необходимо для осуществления импульсной деполяризации в проводящих тканях, но роль входящего тока  $J_{Ca}$  в процессе самой деполяризации, по-видимому, незначительна.

Сходного характера данные получены и на возбудимых паренхимных клетках флоры листового черешка мимозы [160]. Было показано, что амплитуда ПД черешка мимозы резко возрастает на ~40 мВ при исключении из внеклеточной среды  $Ca^{2+}$  и  $Cl^-$ . Это объясняют сдвигом равновесного потенциала только для  $Cl^-$  как деполяризующего иона в сторону более положительных значений (уравнение 18).

Таким образом, на основании комплексных исследований, проведенных в нашей лаборатории, можно заключить, что генерация ПД в возбудимых клетках высших растений (на примере проводящих тканей стебля тыквы) осуществляется в основном пассивными нетто-потоками трех ионов: входящего в клетки нетто-потока  $Ca^{2+}$  (деполяризующего входящего тока), выходящего нетто-потока  $Cl^-$  (деполяризующего входящего тока) и выходящего нетто-потока  $K^+$  (реполяризующего выходящего тока). При этом вклад хлорного тока  $J_{Cl}$  в формирование фазы деполяризации ПД, по всей вероятности, намного больше, чем кальциевого тока  $J_{Ca}$ .

Необходимо подчеркнуть, что при генерации ПД в проводящих тканях тыквы, как, впрочем, вероятно, и в возбудимых клетках мимозы [605] и харовых водорослей [396], электрический заряд, перенесенный  $Cl^-$ , не может скомпенсировать в несколько раз больший заряд, перенесенный направленным в ту же сторону потоком  $K^+$ . У харофитов допускается в связи с этим, что в ходе генерации ПД идет

пассивный трансмембранный перенос не только  $\text{Cl}^-$ , но и других анионов [626]. В проводящих тканях высших растений другие анионы, в основном органические (малат), поддерживают вместе с  $\text{Cl}^-$  ионный баланс в покое [414], при тургорных устьичных движениях [112], при сейсмонастических, гравитропических и других моторных реакциях [233, 605]. Они должны обеспечивать баланс в переносе электрических зарядов и при генерации ПД. Однако можно предположить, что возникающие при возбуждении нетто-потоки неидентифицированных анионов возникают позже, чем хлорные. Поэтому они не участвуют в перезарядке мембран возбудимых клеток растений и электрически нейтрализуются, в отличие от более раннего потока  $\text{Cl}^-$ , одновременным противоположно направленным потоком катионов  $\text{K}^+$  (и  $\text{Na}^+$ ). Это доказывается тем, что именно  $\Delta\bar{\mu}\text{Cl}$ , как было показано выше, определяет амплитуду и скорость деполяризации проводящих тканей.

Если исходить из положения о том, что возникновение  $J_{\text{Ca}}$ ,  $J_{\text{Cl}}$  и  $J_{\text{K}}$  в клетках проводящих тканей обеспечивает, как и в клетках харовых водорослей, генерацию электрического импульса, то необходимое при этом разделение ионных токов во времени ( $J_{\text{dep}}$ ,  $J_{\text{rep}}$ ) может осуществляться лишь при наличии в клеточных мембранах селективных  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ - и  $\text{K}^+$ -каналов.

## Участие ионных каналов в генерации потенциала действия в проводящих тканях

Один из подходов в выявлении работы ионных каналов в клеточных мембранах связан с применением специфических блокаторов. В нашей лаборатории экспериментальное обоснование участия калиевых, хлорных и кальциевых ионных каналов в генерации ПД в возбудимых клетках проводящих тканей высших растений было также проведено с использованием известных блокаторов ТЭА, ЭК и верапамилового производного D-600.

Для клеток харовых водорослей установлено, что ЭК ингибирует возбудимые хлорные каналы [144]. ТЭА блокирует участвующие в реполяризации плазматических мембран харовых водорослей калиевые каналы [52]. Верапамил, как известно, блокирует кальциевые каналы биомембран [124], в том числе и реконструированные в липидном бислое кальциевые каналы харофитов [5]. Специфически он связывается, как полагают [289], и с кальциевыми каналами изолированной плазмалеммы клеток высших растений (в частности, гипокотилей проростков тыквы). Исследований ПД высших растений с применением блокаторов ионных каналов ранее не проводилось. Есть только данные, что ТЭА ( $10^{-3}$  М) угнетает ПД-индуцируемое быстрое сейсмонастическое движение у мимозы [605], но при этом не связанное с ПД медленное гравитропическое движение ТЭА не угнетает.

Эксперименты на целых гипокотилеях тыквы при введении растворов блокаторов с транспирационным током или путем их перфузии в воздушную полость стебля [192, 549] и эксперименты на

частично изолированных проводящих пучках [217, 227] показали, что введение 2 мМ ЭК угнетает способность к проведению ПД. ЭК также постепенно (в течение 2 ч) уменьшает амплитуду и скорость (крутизну) резкой импульсной деполяризации в зоне раздражения как в целом стебле, так и в частично изолированных проводящих пучках. Очевидно, это происходит в результате блокирования обеспечивающих деполяризующий входящий ток хлорных каналов. ТЭА в концентрации 6 мМ увеличивает в несколько раз длительность ПД в экспериментах на целом стебле и достоверно повышает амплитуду деполяризации в зоне раздражения, особенно у частично изолированных проводящих пучков. Можно полагать, что ТЭА уменьшает долю ( $\sigma$ ) открытых калиевых каналов (уравнение 20) и проводит таким образом к более длительному превышению входящего тока над выходящим и соответственно к увеличению длительности и амплитуды импульса.  $2 \cdot 10^{-5}$  М раствор Д-600 очень резко снижает у проводящих пучков амплитуду и крутизну деполяризации. Это, очевидно, связано с блокированием  $\text{Ca}^{2+}$ -потока, входящего в клетки проводящих тканей из апопласта. Деполяризующий хлорный поток при этом также не возникает. Отсюда можно полагать, что нетто-поток  $\text{Ca}^{2+}$  в возбудимые клетки проводящих тканей из внеклеточной среды через специфически блокируемые верапамилом кальцевые каналы запускает весь регенеративный процесс импульсной деполяризации в этих клетках.

Итак, описанное действие блокаторов ионных каналов хорошо объясняется в свете концентрации о существовании в плазматических мембранах возбудимых паренхимных клеток проводящих тканей кальциевых, хлорных и калиевых каналов, аналогичных таковым в возбудимых мембранах харовых водорослей.

Возможность более прямого электрофизиологического доказательства существования в клетках высших растений возбудимых ионных каналов появилась только в последнее время благодаря разработке метода пзтч-клямпа, т.е. фиксации потенциала и регистрации тока на отдельном микроучастке клеточной мембраны  $1-1,5 \text{ мкм}^2$ . Этот метод дает возможность идентифицировать одиночные ион-специфичные каналы в клетках сколь угодно малых размеров любых растительных тканей [421, 655]. Несомненно, такие исследования позволят детально изучить ионные токи в возбудимых мембранах (в плазмалемме и тонопласте отдельно) клеток проводящих тканей высших растений при генерации в них ПД. К сожалению, этот метод пока еще не получил должного развития в электрофизиологии высших растений. По-прежнему большая часть исследований ионных каналов в режиме фиксации потенциала выполняется на гигантских клетках водорослей [145], хотя в перспективе "просматривается" полная инвентаризация ионных каналов растительных клеток от одиночных до высших растений" [22].

В целом на основании изложенного выше материала ионный механизм генерации ПД в возбудимых паренхимных клетках проводящих тканей можно представить, хотя и в достаточно общем виде, следующим образом (рис. 36). Как и у харовых водорослей, возбудимые  $\text{Ca}^{2+}$ -

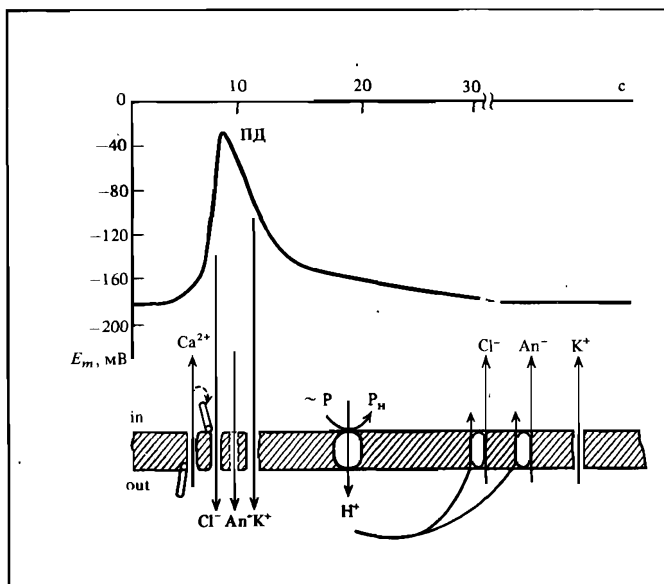


Рис. 36. Схема ионных потоков в ходе одиночного цикла возбуждения у высших растений

зависимые хлорные каналы активируются ионами кальция, входящими через возбудимые потенциалзависимые кальциевые каналы из внеклеточной среды. Выходящий поток анионов хлора, т.е. входящий электрический ток, приводит к деполяризации. Деполяризация, в свою очередь, приводит к возникновению реполяризующего выходящего потока  $K^+$  через калиевые каналы (покоя?). Для поддержания катион-анионного баланса, т.е. для компенсации заряда, переносимого  $K^+$ , из паренхимных клеток при возбуждении должны выходить и другие анионы. Возможно, этот поток анионов идет через неспецифические анионные каналы. Поскольку значительная часть  $E_m^r$  клеток

проводящих тканей создается электрогенной помпой, то ее дополнительное влияние на кинетику изменения потенциала при возбуждении, безусловно, имеет место (см. раздел 15). Однако угнетение электрогенной помпы, которое лежит в основе генерации ПД у ацетабулярии, при этом не может играть определяющей роли. В противном случае плотность выходящего нетто-потока  $Cl^-$  из паренхимных клеток в ситовидные трубки (см. табл. 6) не превышала бы в десятки раз стационарный выходящий поток  $Cl^-$  ( $3 \text{ пмоль} \cdot \text{см}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ ).

Таким образом, в основе ионного механизма генерации ПД в возбудимых паренхимных клетках проводящих тканей высшего растения, как и в возбудимых клетках харовых водорослей, лежит резкое увеличение пассивного выходящего потока анионов  $Cl^-$  через активируемые при возбуждении катионами  $Ca^{2+}$  возбудимые хлорные каналы.

## Особенности ионного механизма генерации потенциала действия у высших растений

Итак, существует определенное сходство в характере ПД-образующих ионных потоков в проводящих тканях высших растений и в других возбудимых системах (нерве и клетке хвостовой водоросли). Все они имеют примерно одинаковую плотность, что может свидетельствовать о близкой пропускной способности соответствующих ионных каналов (особенно калиевых). Это весьма интересный для сравнительной физиологии факт, который наряду с другими общими чертами ПД (см. раздел 12) указывает на единство ионных механизмов распространяющегося возбуждения у животных и растений. Одновременно ионный механизм генерации ПД у растений обладает и рядом характерных особенностей. Количество ионов ( $N_j$ ), переносимых при генерации ПД через поверхность клетки харовой водоросли или клетки проводящих тканей стебля тыквы, как отмечалось, в сотни—тысячи раз больше, чем переносится ионов при генерации ПД в аксоне. Это количество (см. табл. 6) также примерно в тысячи раз больше, чем нужно для перезарядки мембраны:

$$\bar{N} = J_{dep} \Delta t / F = J_{rep} \Delta t / F = C_m \Delta U / F = 10^{-12} \text{ моль} \cdot \text{см}^{-2} \cdot \text{имп}^{-1}, \quad (22)$$

где  $\bar{N}$  — количество одновалентных ионов, необходимых для перезарядки мембраны;  $\Delta U$  — средняя амплитуда любого ПД ( $\sim 0,1$  В);  $C_m$  — средняя емкость любых биомембран ( $\sim 1 \text{ мкФ} \cdot \text{см}^{-2}$ ).

Во время ПД из нервного волокна выходит ионов  $K^+$  несколько больше, чем следует из такого расчета ( $N_j > \bar{N}$ ). Однако это различие всего лишь 3—4-кратное, а не  $10^3$ — $10^4$ -кратное, как при генерации ПД в проводящих тканях стебля тыквы или у харофитов.

В чем причина этой общей особенности ПД растений? Очевидно, что главным образом не в большей емкости мембран, хотя есть недавние данные [307], что кажущаяся емкость растительных мембран, в отличие от мембран животных, может в 10 раз превышать обычную геометрическую емкость ( $\sim 1 \text{ мкФ}$ ) за счет содержащихся в ней подвижных зарядов. Большая емкость  $C_m$  действительно может увеличить количество переносимых ионов  $N$  и длительность процесса  $\Delta t$  (см. левую часть уравнения 22). Но ПД растений (и водорослей, и высших) в тысячи раз, а не на порядок превышают по длительности нервный импульс. Очевидно, что у клеток растений большая часть парциальных ионных токов  $J_j$ , имеющих примерно ту же плотность, что и у животных, не участвует в создании суммарного электрического тока  $J_{dep}$  и  $J_{rep}$ , перезаряжающего емкость мембраны. Это, по-видимому, связано с тем, что противоположно направленные токи взаимно перекрывают и нейтрализуют друг друга.

Таким образом, большая длительность ПД и большая величина ионных токов (потоков), обеспечивающих его генерацию у высших растений, как и у хорошо изученных харовых водорослей, — неиз-

бежное следствие недостаточной разобщенности во времени потоков ПД-образующих ионов.

Отмеченные черты сходства ионных механизмов генерации ПД в клетках проводящих тканей высшего растения и клетках харовых водорослей говорят о том, что использование последних в качестве экспериментальной модельной системы для изучения явлений возбудимости и ионного транспорта в мембранах "растительной клетки вообще" целесообразно не только из соображений удобства, но и ввиду объективного подобия исследуемых явлений.

Вместе с тем ионные механизмы генерации ПД у харофитов и в проводящих тканях высших растений наряду со сходством имеют существенные различия. У харовых водорослей одиночный ПД относительно мало нарушает ионный гомеостаз клетки [52], а у высших растений значительная часть потенциалопределяющих ионов выходит при распространении электрического импульса из возбудимых клеток проводящих тканей в апопласт и прилегающие ситовидные трубки, вызывая существенное нарушение ионного гомеостаза в проводящих тканях. Это объясняется тем, что мелкие паренхимные клетки проводящих тканей имеют в десятки раз большую поверхность (площадь возбудимой мембраны), приходящуюся на единицу объема ионной среды, чем возбудимые клетки харовых водорослей.

Такая отличительная особенность возбудимых структур высших растений находит свое отражение в больших ионных сдвигах, наблюдаемых при распространении ПД в эксудате ситовидных трубок стебля тыквы (исследования нашей лаборатории), в пасоке, вытекающей из сосудов ксилемы декапитированных стеблей подсолнечника [69], в межклетниках, сосудах ксилемы и ситовидных трубках листового черешка мимозы [666]. Пока, к сожалению, не удастся зарегистрировать ионные потоки, возникающие при генерации ПД непосредственно в возбудимых клетках, однако анализ электрохимических градиентов, приведенный в этом разделе, убедительно свидетельствует о том, что в основе всех экспериментально обнаруживаемых сдвигов (кроме  $\text{Ca}^{2+}$ ) должны лежать пассивные ионные потоки, берущие свое начало из паренхимных клеток проводящих тканей.

## 15. СОПРЯЖЕНИЕ ГЕНЕРАЦИИ ПОТЕНЦИАЛА ДЕЙСТВИЯ У ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ С РАБОТОЙ ЭЛЕКТРОГЕННОГО ИОННОГО НАСОСА ВОЗБУДИМОЙ МЕМБРАНЫ

Выше (см. раздел 14) было показано, что генерация ПД в клетках возбудимых тканей высших растений, так же как и в нервных волокнах животных, связана с пассивным транспортом ПД-образующих ионов, который осуществляется за счет свободной энергии созданных на возбудимых мембранах электрохимических градиентов [195, 222, 541]. Восстановление ионного гомеостаза нервных волокон после прохождения импульса обеспечивается электрогенным ионным

насосом —  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазой. Однако, поскольку в генерации одиночного ПД нервными волокнами участвует очень небольшое количество  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$  (около  $10^{-6}$  М), они оказываются способными генерировать и проводить значительное число импульсов даже в присутствии ингибиторов, подавляющих активность насоса, т.е. за счет созданных ранее электрохимических градиентов этих ионов [94]. У высших растений, в отличие от животных, генерация одиночного электрического импульса возбуждения сопряжена со значительным изменением электрохимических градиентов основных ПД-образующих ионов  $\text{Cl}^-$  и  $\text{K}^+$  [195, 222]. В частности, по данным для тыквы [195, 222], из паренхимных клеток проводящих тканей стебля при генерации одиночного ПД выходит около 30 мМ  $\text{K}^+$  и 5 мМ  $\text{Cl}^-$ . Это связано не с высокой интенсивностью ионных потоков, которая имеет ту же величину, что и в нервных проводниках, а с большой длительностью ПД возбудимых клеток высших растений, превышающей на 3—4 порядка длительность ПД нервных волокон [94, 192, 195, 222, 541]. Тем не менее, несмотря на большие ионные сдвиги в ходе ПД, возбудимые клетки высших растений способны генерировать не только одиночные, но и ритмически повторяющиеся импульсы возбуждения с интервалами времени около 1,5—2 мин и менее (см. рис. 30). Это наводит на мысль о том, что генерация ПД у высших растений должна быть резко сопряжена с работой электрогенного ионного насоса возбудимой мембраны. Впервые концепция о наличии сопряжения генерации ПД у высших растений с работой электрогенного  $\text{H}^+$ -насоса возбудимой плазматической мембраны была предложена и обоснована В.А. Опритовым с соавторами [187, 189, 213, 214, 546—548]. Эта концепция включает в себя следующие аспекты.

### Участие электрогенного насоса в создании электрохимических градиентов основных ПД-образующих ионов

Очень высокая величина  $E_m^r$  клеток пучковой паренхимы и других тканей, способных у высших растений генерировать и проводить ПД, давно обращала на себя внимание исследователей [239, 282, 630, 631]. Причина этого феномена, однако, оставалась для них неизвестной. В этой связи мы [187, 213, 546—548] предположили, что высокий  $E_m^r$  возбудимых клеток, точнее, его значительная метаболическая компонента  $E_p$ , возникающая при участии электрогенного  $\text{H}^+$ -насоса плазмалеммы, играет важную роль в создании необходимых для генерации ПД у высших растений больших электрохимических градиентов основных ПД-образующих ионов ( $\text{Cl}^-$  и  $\text{K}^+$ ) и их оперативном восстановлении после появления импульса.

Если это предположение справедливо, то осуществление способности возбудимой клетки высшего растения генерировать ПД должно находиться в прямой зависимости от величины метаболической

компоненты  $E_m^r$ . Уникальную возможность для анализа такой зависимости дает исследование генерации ритмически повторяющихся импульсов возбуждения в условиях направленного снижения  $E_p$ . Фактором, обеспечивающим направленное снижение  $E_p$ , может быть, например, постепенное охлаждение с заданной скоростью [213, 548]. При этом об уровне способности возбудимой клетки генерировать ПД можно судить по таким параметрам, как амплитуда и количество возникающих ритмически повторяющихся импульсов.

На рис. 30 показано, как постепенное охлаждение возбудимой клетки (пучковая паренхима) стебля тыквы от 34 до 11° приводит к сигмоидному снижению  $E_m^r$  (пунктирная линия), на фоне которого возникают ритмически повторяющиеся ПД (в количестве 5). Стационарный уровень  $E_m^r$  при 11°, достигаемый в результате охлаждения, сходен по величине с таковым при действии на клетку 3 мМ азида [548]. Поскольку азид в этой концентрации полностью подавляет  $E_p$  клетки [211], можно считать, что уровень  $E_m^r$  при 11° определяется главным образом диффузионными механизмами и вызванное охлаждением сигмоидное снижение  $E_m^r$  опосредовано снижением  $E_p$ .

Амплитуда ритмически повторяющихся ПД, возникающих на фоне снижающегося  $E_p$ , закономерно уменьшается (см. рис. 30). Это позволяет думать, что именно величина  $E_p$  в момент генерации ПД определяет в решающей степени амплитуду импульса. Действительно, как видно из рис. 37, построенного по данным рис. 30, между величиной  $E_p$  в момент возбуждения и амплитудой возникающих импульсов имеет место линейная зависимость. Линейно зависит от величины  $E_p$  (в момент начала раздражения клеток охлаждением) и количество генерируемых ритмически повторяющихся ПД [213]. Снижение  $E_m^r$  до уровня  $E_p$  сопровождается подавлением процесса генерации ПД. Таким образом, напрашивается вывод, что наличие в составе  $E_m^r$  высокого  $E_p$ , обеспечивающего создание больших электрохимических градиентов ПД-образующих ионов, является необходимым условием для осуществления возбудимой клеткой высшего растения способности генерировать ПД.

Следует, однако, учитывать, что, поскольку ритмически повторяющиеся ПД возникали в пределах серии, показанной на рис. 30, при различных температурах, изменение их амплитуды могло быть результатом не столько снижения  $E_p$ , сколько влияния охлаждения на ионный транспорт через каналы мембраны при возбуждении [311, 454]. Существенное значение в этой связи приобретает анализ зависимости амплитуды ПД от величины  $E_p$  при генерации импульсов в сходных температурных условиях. Такой анализ был выполнен, когда в возбудимых клетках стебля тыквы с помощью постепенного

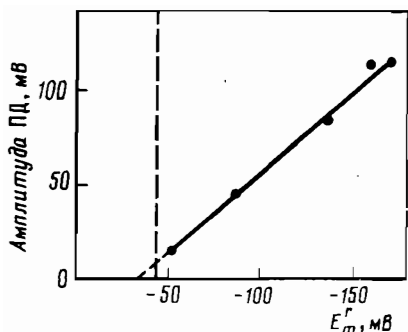


Рис. 37. Зависимость амплитуды ритмически повторяющихся ПД от величины  $E_m^r$  в момент возбуждения клетки пучковой паренхимы стебля тыквы [548]

Пунктирной линией показан уровень  $E_m^r$ , соответствующий  $E_D$

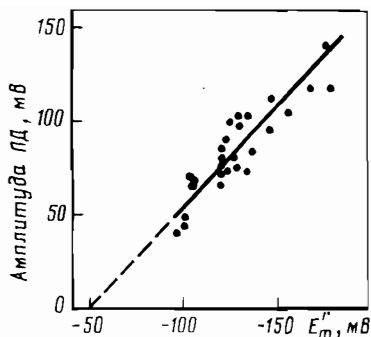


Рис. 38. Зависимость амплитуды одиночных ПД от величины  $E_m^r$  клеток стебля тыквы в момент возбуждения в сходных температурных условиях [548]

Уровень  $E_m^r$  клеток, соответствующий  $E_D$ , варьирует от -50 до -80 мВ

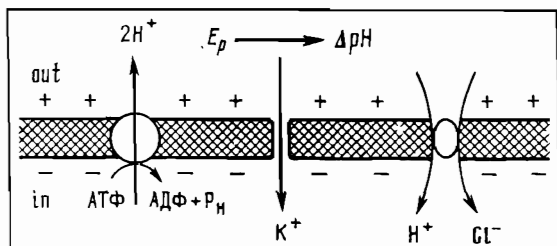


Рис. 39. Предполагаемая схема транспорта ионов через плазматическую мембрану возбудимой клетки высшего растения в состоянии покоя [548]

охлаждения от  $23^\circ$  индуцировали одиночные ПД, возникающие приблизительно при одной и той же температуре ( $\sim 18^\circ$ ) [548]. Их амплитуда, так же как и амплитуда импульсов внутри серии в описанных выше опытах (см. рис. 30), оказалась пропорциональной величине  $E_p$  в момент генерации ПД (рис. 38). Следовательно, амплитуда ритмически повторяющихся импульсов, возникающих в условиях снижающейся температуры, была детерминирована прежде всего величиной  $E_p$ .

Таким образом, у высших растений, в отличие от животных объектов, способность генерировать ПД находится в прямой зависимости от величины метаболической компоненты  $E_m^r$ . Эта зависимость становится понятной, если учесть особенности генерации ПД у высших растений, связанные с необходимостью формирования высоких электрохимических градиентов основных ПД-образующих ионов ( $\text{Cl}^-$  и  $\text{K}^+$ ) для возникновения даже одиночных импульсов. Согласно

представленной на рис.39 схеме транспорта ионов через плазматическую мембрану возбудимой клетки, находящейся в состоянии покоя, высокий  $E_p$ , генерируемый протонным насосом, с одной стороны, благодаря конверсии может трансформироваться в  $\Delta pH$ , с другой — обеспечивает значительную электрическую составляющую электрохимического градиента основного деполяризующего иона, каким является  $Cl^-$ . При этом направленная наружу большая концентрационная составляющая электрохимического градиента этого иона создается, по-видимому, активным поступлением  $Cl^-$  внутрь клетки в симпорте с  $H^+$  за счет работы переносчика при наличии низкой хлорной проницаемости плазмалеммы [507, 652]. Высокий потенциал  $E_p$  обеспечивает также условия для появления направленного из клетки в среду значительного концентрационного градиента основного реполяризующего иона, каким является  $K^+$ .

Изложенное выше показывает, что без участия электрогенного  $H^+$ -насоса возбудимой мембраны и потенциала  $E_p$  значительные электрохимические градиенты ПД-образующих ионов у высших растений сформироваться, очевидно, не могут, и, следовательно, не могут возникнуть при возбуждении клеток и потоки этих ионов, достаточные для формирования как одиночных, так и ритмически повторяющихся импульсов. На основе этой точки зрения легко объяснить отдельные сведения о том, что физиологически активные соединения, угнетающие или стимулирующие активность электрогенного протонного насоса плазматических мембран растений, аналогичным образом влияют и на процесс генерации ПД [564, 641, 650].

### Участие электрогенного насоса в формировании фазы реполяризации потенциала действия

Значительный выход ПД-образующих ионов из возбудимых клеток высшего растения при генерации ПД предполагает участие электрогенного насоса возбудимой мембраны не только в создании электрохимических градиентов ПД-образующих ионов и их восстановлении после генерации импульса, но и в формировании кинетики самого ПД.

Для анализа этого аспекта обратимся вновь к рис.30, где представлена серия ритмически повторяющихся ПД, возникающих в возбудимой клетке стебля тыквы на фоне направленного снижения электрогенной компоненты  $E_m^r$  при постепенном охлаждении.

Привлекает внимание то обстоятельство, что первые два импульса серии, возникающие в условиях, когда снижение температуры среды незначительно сказывается на величине  $E_p$ , почти совпадают по форме и имеют одинаковую величину амплитуд фаз деполяризации ( $A_d$ ) и реполяризации ( $A_r$ ). Однако при дальнейшем понижении температуры, приводящей к заметному уменьшению  $E_p$ , появляются импульсы, у которых  $A_d > A_r$ , причем по мере охлаждения эта разница

все более увеличивается (рис. 40). При  $13-12^\circ$ , когда  $E_p$  почти полностью исчезает, величина  $(A_d - A_r)$  достигает наибольшего значения и составляет 15—17 мВ. Если учесть, что фаза реполяризации формируется выходом из клеток ионов  $K^+$ , то этот результат указывает на то, что в ходе генерации импульса электрохимический градиент  $K^+$  при  $13-12^\circ$  уменьшается на ~17 мВ и реполяризующий поток этих ионов не может скомпенсировать сдвиг  $E_m^r$ , вызванный деполяризующим выходом  $Cl^-$  и, вероятно, других анионов.

Действительно, если в соответствии с данными об ионном транспорте при возбуждении у тыквы [192, 195, 222] полагать, что за время одиночного ПД из клеток пучковой паренхимы выходит около 30 мМ  $K^+$  (при исходной концентрации этого иона 165 мМ), а концентрация  $K^+$  в клеточных стенках соответствует его концентрации в омывающем растворе (1 мМ) и не изменяется, то реполяризующий поток  $K^+$  при  $13-12^\circ$  не "дотянет" до уровня  $E_m^r$ , с которого возник ПД, примерно 5 мВ:

$$A_d - A_r = \Delta E_K = \frac{RT}{F} \lg \frac{[K^+]_1}{[K^+]_2} = 57 \lg \frac{165}{135} \approx 5 \text{ мВ}, \quad (23)$$

где  $A_d$  и  $A_r$  — амплитуда фаз де- и реполяризации импульса,  $[K^+]_1$  и  $[K^+]_2$  — исходная и конечная концентрации  $K^+$  в клетке,  $\Delta E_K$  — изменение  $K^+$ -диффузионного потенциала во время ПД. Вычисленная величина  $(A_d - A_r)$  меньше, чем величина  $(A_d - A_r)$  в эксперименте. Однако, поскольку при расчете не учитывается увеличение концентрации  $K^+$  в примембранном слое снаружи возбудимых клеток во время генерации ПД, вычисленная величина  $(A_d - A_r)$  представляется явно заниженной.

То, что в условиях комнатной температуры  $23-26^\circ$ , когда активность электрогенного насоса плазмалеммы стебля тыквы высока [215], фаза реполяризации ПД полностью восстанавливает исходный уровень  $E_m^r$ , может быть связано, очевидно, только с тем, что электрогенный насос "подключается" к процессу реполяризации и "устраняет" различие между  $A_d$  и  $A_r$  импульсов. Упрощенная схема формирования ПД, учитывающая "подключение" электрогенного насоса возбудимой мембраны к процессу реполяризации, показана на рис. 41. В соответствии с этой схемой процесс формирования ПД у высшего растения может быть разделен на три стадии [214].

На стадии I выходящий из возбудимой клетки поток ионов  $Cl^-$  (и, вероятно, других анионов) формирует фазу деполяризации импульса.  $E_m$  клетки (со знаком "минус" внутри) при этом изменяется в соответствии с уравнением

$$E_m^* = E_m^0 + A_d, \quad (24)$$

где  $E_m^*$  — уровень  $E_m$  в максимуме ПД;  $E_m^0$  — уровень  $E_m$ , с которого возник ПД.

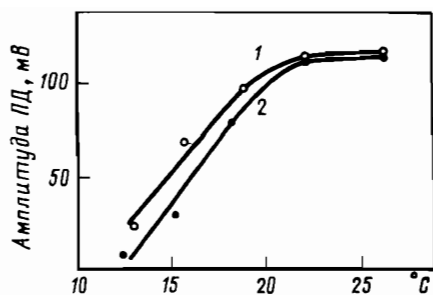


Рис. 40

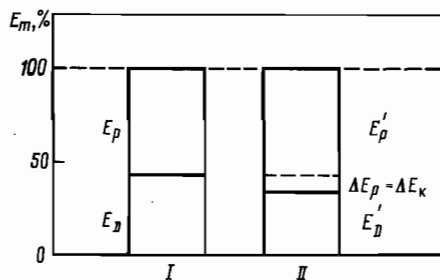


Рис. 42

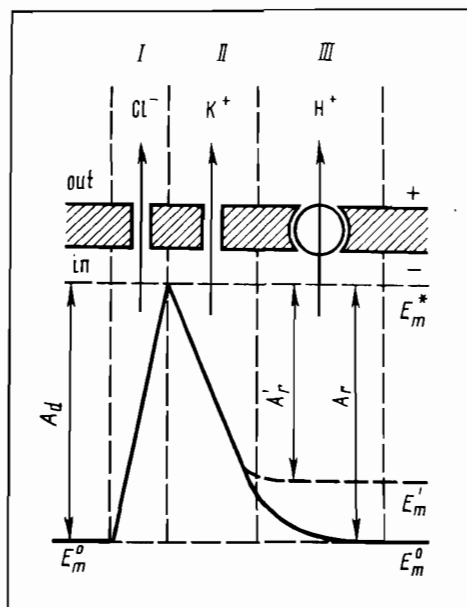


Рис. 41

Рис. 40. Температурная зависимость  $A_d$  (1) и  $A_r$  (2) ПД [189]

Построена для серии ритмически повторяющихся ПД, представленной на рис. 30

Рис. 41. Схема формирования ПД на плазматической мембране возбудимой клетки высшего растения, учитывающая участие электрогенного  $H^+$ -насоса в этом процессе [214]

$E_m^0$  — уровень  $E_m$ , с которого возникает ПД;  $E_m^*$  — уровень  $E_m$  в максимуме ПД;  $E_m'$  — уровень  $E_m$  после генерации ПД при отсутствии вклада  $H^+$ -насоса в формирование фазы реполяризации импульса;  $A_d$  — амплитуда фазы деполяризации ПД;  $A_r, A_r'$  — амплитуды фазы реполяризации ПД при наличии и отсутствии вклада электрогенного насоса соответственно; I, II, III — стадии формирования ПД

Рис. 42. Предполагаемый вклад диффузионной и электрогенной компонент в  $E_m$  возбудимой клетки высшего растения до возникновения ПД (I) и по завершении реполяризации ПД (II) [214]

$E_p, E_p'$  — электрогенные потенциалы до и после генерации ПД соответственно;  $E_D, E_D'$  — диффузионные потенциалы до и после генерации ПД соответственно;  $\Delta E_K$  — уменьшение  $E_D$  по завершении ПД;  $\Delta E_p$  — увеличение  $E_p$  по завершении ПД

Стадия II охватывает процесс формирования фазы реполяризации ПД выходящим из клетки пассивным потоком ионов  $K^+$ . Изменение  $E_m$  на этой стадии может быть описано уравнением

$$E'_m = E_m^* - A_r', \quad (25)$$

где  $E'_m$  — уровень  $E_m$ , достигаемый в ходе реполяризации в условиях уменьшения при генерации ПД электрохимического градиента  $K^+$ ,  $A_r'$  — амплитуда фазы реполяризации ПД, формируемая выходящим потоком  $K^+$ .

Стадия III соответствует заключительному участку фазы реполяризации ПД, формируемому "подключением" к процессу генерации ПД электрогенного  $H^+$ -насоса. Механизм "подключения" состоит, на наш взгляд, в том, что в момент времени, когда завершается процесс реполяризации возбудимой мембраны, обусловленный выходом из клетки ионов  $K^+$ ,  $E_m$  стремится принять значение в соответствии с генерируемым протонным насосом потенциалом. При этом  $E_r$  после импульса должен превышать исходный  $E_r$  до возникновения импульса на  $\Delta E_r$  (рис.42), компенсирующую убыль диффузионной компоненты  $E_m$  на  $\Delta E_k$  (согласно уравнению 23). Это представляется возможным лишь в условиях активации электрогенного насоса, природа которой остается пока неизвестной и требует специального исследования. Можно тем не менее полагать, что эта активация имеет место под влиянием снижения  $E_m$  на стадии I процесса формирования ПД. В пользу такого предположения свидетельствуют недавно полученные данные о том, что деполяризация плазматической мембраны клеток высшего растения способна приводить к активации АТФ-зависимого  $H^+$ -насоса [509]. Изменение  $E_m$  во время стадии III, с учетом изложенного выше, может быть описано уравнением

$$E_m^0 = E'_m - (A_d - A_r') = E'_m - \Delta E_r, \quad (26)$$

где  $\Delta E_r = \Delta E_k$ . Предполагаемая активация электрогенного  $H^+$ -насоса в фазу деполяризации ПД имеет, очевидно, временный характер и устраняется повышением  $E_m$  в фазу реполяризации импульса. Однако переход насоса к нормальному режиму работы и соответствующее этому снижение  $E_r$  на величину  $\Delta E_r$  совершаются, по-видимому, не сразу, а по мере восстановления исходного электрохимического градиента  $K^+$  за счет повышенной величины  $E_r$ . В целом кинетика изменения  $E_m$  на стадии III имеет экспоненциальную форму (см. рис. 41), что свойственно для ферментативных процессов.

## Роль электрогенного насоса в достижении порога возбуждения

Представляется очевидным еще один аспект участия электрогенного ионного насоса возбудимой мембраны в генерации ПД у высших растений, который состоит в том, что снижение его активности и как следствие  $E_r$ , обусловленное влиянием фактора, не

оказывающего существенного модифицирующего действия на  $E_D$ , является решающим (или даже единственно возможным) условием достижения уровня порога возбуждения.

Характерным примером, иллюстрирующим это, может служить генерация светостимулированных ПД в клетках мха коноцефалума [669]. В ее основе лежит пороговая деполяризация возбудимой мембраны, вызванная изменением активности насоса в ответ на освещение.

Другим убедительным примером роли насоса в достижении уровня порога возбуждения является генерация ПД возбудимыми клетками стебля тыквы в ответ на постепенное охлаждение в интервале  $11-23^\circ$  [185, 190, 211]. Это весьма умеренное температурное воздействие, фактически не влиявшее на  $E_D$  возбудимых клеток [185, 211], приводило к снижению  $E_p$ , которое развивалось быстро и нелинейно.  $E_m$  при этом достигал уровня  $E_m^c$ . Причиной быстрого

нелинейного снижения  $E_p$  являлась температурно-зависимая структурная перестройка, протекавшая в липидном матриксе плазматической мембраны при  $18-20^\circ$  и охватывавшая своим влиянием электрогенный насос [190, 211, 215]. Последовательность изменений в возбудимой плазматической мембране при этом имела вид: структурная перестройка в липидах — снижение активности электрогенного насоса — деполяризация до порогового уровня — активация ионных каналов — ПД [190].

Изменения, объединенные в рамках данной последовательности, весьма неодинаковы по той роли, которую они играют в процессе генерации ПД. Так, термотропная структурная перестройка в липидном матриксе возбудимой мембраны выполняет, по-видимому, роль триггера последующей цепи изменений. В то же время электрогенный насос, представленный  $H^+$ -АТФазой [215], можно рассматривать как преобразователь энергии термотропных структурных изменений липидов мембраны в электрическую форму — сдвиг  $E_m$  до уровня порога возбуждения. Таким образом, благодаря именно электрогенному насосу осуществляется в данном случае этап пороговой деполяризации.

Итак, материал, изложенный в настоящей главе, позволяет с определенностью считать, что у высших растений электрогенный ионный насос ( $H^+$ -насос) возбудимой мембраны играет важную роль в генерации ПД. Тесное сопряжение генерации ПД с работой электрогенного насоса и величиной опосредованного им потенциала  $E_p$  является, судя по всему, особенностью процесса возбуждения у высших растений в отличие, например, от животных. В частности, у такого классического в электрофизиологических исследованиях объекта, как аксон кальмара, метаболическая "надстройка" над  $E_D$  очень невелика (1,4 мВ) [367] и, следовательно, роли в генерации ПД, аналогичной описанной выше, играть не может.

Роль насоса и  $E_p$  в генерации ПД у высших растений принципиально отличается также от таковой у ряда низших растений, например у

ацетабулярии и нейроспоры, ПД которых являются в основном результатом кратковременного "выключения" электрогенного насоса и в силу этого считаются "метаболическими" [408, 640].

В этой связи можно предполагать, что по уровню сопряжения с работой электрогенного ионного насоса возбудимой мембраны процесс генерации ПД у высших растений с эволюционной точки зрения занимает промежуточное положение между "метаболическим" типом генерации ПД у ряда водорослей и грибов, как, например, у ацетабулярии [408], и "пассивным" типом генерации ПД, свойственным для возбудимых клеток животных, например аксона кальмара [541].

## 16. СТРУКТУРНАЯ ЛАБИЛЬНОСТЬ ВОЗБУДИМОЙ МЕМБРАНЫ И ГЕНЕРАЦИЯ ПОТЕНЦИАЛОВ ДЕЙСТВИЯ

В разделе 7 было показано, что электрогенез клеток высших растений в покое обнаруживает тесную связь со структурной лабильностью клеточных мембран. На наш взгляд, есть все основания считать, что аналогичное утверждение является справедливым и по отношению к генерации ПД. В частности, представляются достаточно очевидными следующие основные аспекты связи генерации ПД со структурной лабильностью возбудимой мембраны.

### Роль структурных перестроек в возбудимой мембране в достижении порога возбуждения

Как уже отмечалось выше (см. раздел 12), основным условием возникновения ПД под влиянием раздражителя любой природы является снижение  $E_m$  возбудимой клетки до уровня критической деполяризации  $E_m^c$  (или уровня порога возбуждения). Для того чтобы процесс пороговой деполяризации мог осуществиться, в возбудимой мембране при действии раздражителя должны произойти определенные изменения. Эти изменения, приводящие к деполяризации мембраны до порогового уровня, принято классифицировать как подпороговые. Несмотря на большую важность их изучения для понимания того, каким образом происходит трансформация энергии раздражающего стимула в энергию распространяющегося электрического ответа, в электрофизиологии животных этот вопрос до сих пор, по существу, остается открытым. В немалой степени, на наш взгляд, это объясняется методическими трудностями изучения подпороговых изменений у животных объектов, поскольку процесс генерации ПД у них весьма скоротечен. Напротив, у высших растений временные параметры процесса возбуждения на 3—4 порядка выше, чем у животных [175, 560, 570], и это обстоятельство, безусловно, открывает хорошие перспективы для анализа природы подпороговых изменений в возбудимых мембранах растительного происхождения.

Впервые попытка такого анализа была предпринята при исследовании генерации ПД в возбудимых клетках стебля тыквы в ответ на постепенное охлаждение ( $1,3^\circ/\text{мин}$ ) от  $20$  до  $11^\circ$  [190]. Кинетика изменения  $E_m$  возбудимой клетки в этих условиях показана на рис. 43. Она имеет сложный характер, который может быть объяснен взаимодействием двух процессов. Первый из них представляет собой начинавшуюся при  $18,8 \pm 0,3^\circ$  быструю нелинейную деполяризацию, в результате которой  $E_m$  переходил с исходного стационарного уровня  $E_m^0 = -160 \pm 2$  мВ на новый стационарный уровень  $E_m^1 = -49 \pm 2$  мВ при

$13,8 \pm 0,2^\circ$ . Дальнейшее снижение температуры до  $11^\circ$  на  $E_m$  не влияло. Второй процесс — возникновение одиночного ПД по достижении  $E_m$  величины, равной  $-101 \pm 3$  мВ ( $15,6 \pm 0,3^\circ$ ) и соответствовавшей, очевидно, значению  $E_m^c$  при данной скорости действия раздражителя.

Таким образом, к возникновению ПД при постепенном охлаждении приводила быстрая, нелинейно развивавшаяся деполяризация возбудимой мембраны. Для ее начала оказался достаточным перепад температуры от  $20$  до  $18,8 \pm 0,3^\circ$ , т.е. на  $\sim 1^\circ$ .

Поскольку у высших растений  $E_m$  включает в себя  $E_D$  и  $E_p$  (см. раздел 3), естественно было предположить, что вызванное охлаждением снижение  $E_m$  на этапе  $E_m^0 \rightarrow E_m^c$  обусловлено влиянием температуры на

каждый из этих потенциалов. Однако в соответствии с уравнением Гольдмана (4) зависимость  $E_D$  от температуры не является сильной и при изменении температуры даже на  $10^\circ$  соответствующее изменение  $E_D$  не должно превышать нескольких милливольт. Следовательно, наблюдаемая при постепенном охлаждении подпороговая деполяризация ( $E_m^0 \rightarrow E_m^c$ ), характеризующаяся значительным

коэффициентом крутизны и амплитудой, связана преимущественно с уменьшением активности электрогенного насоса, а не со снижением  $E_D$ . Последующие опыты с азидом [185, 211] подтвердили это.

С учетом того что процесс нелинейной деполяризации возбудимой мембраны начинался в области физиологически умеренных температур и при весьма незначительном охлаждении, круг предполагаемых причин столь резкого уменьшения активности электрогенного насоса мог быть значительно сужен. В частности, в этих условиях не представлялись вероятными существенное лимитирование скорости биохимических реакций, идущих с образованием АТФ [319], и разупорядочивание, денатурация белковой структуры электрогенного насоса [116, 118]. В то же время известно, что при  $18-20^\circ$  имеет место структурная перестройка в липидной области плазматических мембран животного происхождения, протекающая, как полагают, по типу обратимого фазового перехода жидкий кристалл—квазикристалл и затрагивающая скорее всего отдельные группы доменов [113, 315, 311, 445].

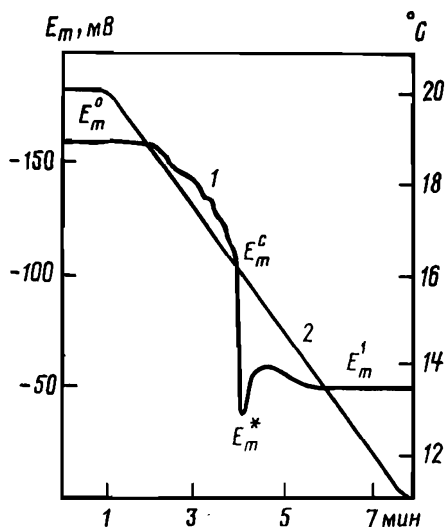


Рис. 43

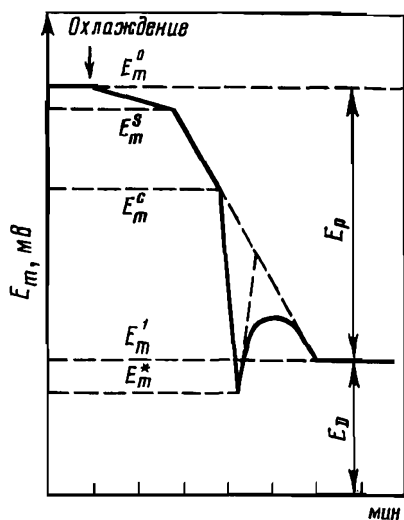


Рис. 45

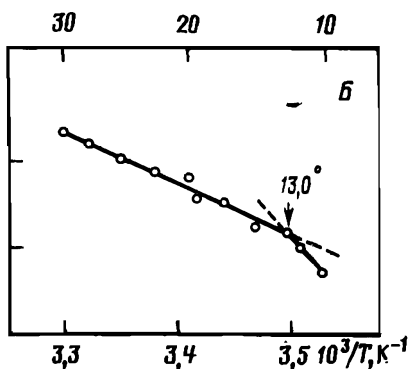
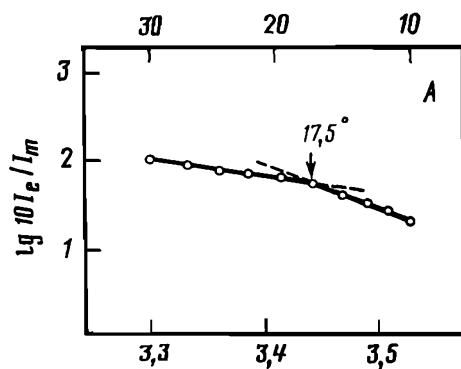


Рис. 44

Рис. 43. Влияние постепенного умеренного охлаждения на  $E_m$  возбудимой клетки стебля тыквы [190]

$E_m^0, E_m^1$  — стационарные уровни  $E_m$  при различных температурах;  $E_m^c$  — критический уровень деполяризации,  $E_m^*$  — уровень  $E_m$  в максимуме ПД. 1 — изменение  $E_m$  2 — изменение температуры

Рис. 44. Аррениусовские кривые  $I_e/I_m$  пирена, связанного с изолированными плазматическими мембранами стебля незакаленных (А) и закаленных (Б) проростков [В.А. Худяков, С.С. Пятыйгин — неопубликованные данные]

$I_e, I_m$  — интенсивности флуоресценции эксимерной и мономерной форм пирена

Рис. 45. Схема этапов изменения  $E_m$  возбудимой клетки холодочувствительного высшего растения при постепенном умеренном охлаждении [207]

$E_m^s$  — уровень  $E_m$  при температуре структурной перестройки в липидном окружении электрогенных насосов;  $E_p, E_D$  — электрогенная и диффузионная компоненты  $E_m$  соответственно. Остальные обозначения те же, что и на рис. 43

Исходя из этого, можно было полагать, что наблюдаемое при действии постепенного охлаждения резкое нелинейное снижение активности электрогенного насоса возбудимых мембран тыквы, начинавшееся в области  $18,8 \pm 0,3^\circ$ , было связано с изменением условий функционирования насоса, вызванным температурно-зависимой структурной перестройкой липидного окружения.

Проведенные на изолированных мембранных везикулах с помощью гидрофобного флуоресцентного зонда МБА исследования показали, что в липидной области плазматических мембран действительно имеет место структурная перестройка вблизи  $18^\circ$  [190]. Позднее эта структурная перестройка была зарегистрирована также в опытах с липофильным зондом пиреном [215] (см. раздел 7).

Таким образом, термотропная структурная перестройка в липидном окружении электрогенного насоса должна играть важную роль в цепи событий, протекающих в возбудимых мембранах высшего растения при действии постепенного умеренного охлаждения и приводящих к возникновению ПД.

Значимость этой роли отчетливо показали опыты по искусственному исключению термотропной структурной перестройки липидов из цепи подпороговых изменений, развивающихся в плазматических мембранах возбудимых клеток проростков тыквы при действии постепенного охлаждения. Для этого с помощью процедуры умеренного холодового закаливания проростков, описанной нами ранее в работе [216], смещали протекание структурной перестройки в липидном матриксе плазматических мембран в более низкотемпературную область. О наличии смещения интервала перестройки судили по эксимеризации пирена, связанного с изолированными мембранными везикулами. Было установлено, что у закаленных проростков данная структурная перестройка протекала при  $13-14^\circ$ , в то время как у контрольных незакаленных — при  $17-18^\circ$  (рис. 44). Столь небольшое различие в термотропных свойствах липидного матрикса плазматических мембран существенным образом сказывалось на кинетике подпорогового изменения  $E_m^*$  возбудимых клеток при постепенном охлаждении от  $\sim 23^\circ$ . Если подпороговая деполяризация клеток контрольных проростков имела характерный нелинейный вид с перегибом в области  $18^\circ$ , то у большинства закаленных проростков деполяризация развивалась почти линейно, со сравнительно невысоким коэффициентом крутизны (см. рис. 28). Медленное развитие подпороговой деполяризации, обусловленное исключением резкой термотропной структурной перестройки липидов из механизма подпороговых изменений, способствовало тому, что генерация ПД у возбудимых клеток закаленных проростков имела место лишь при весьма значительном температурном перепаде.

Отсюда следует, что участие в цепи подпороговых изменений термотропной структурной перестройки липидов, модифицирующей активность электрогенного насоса возбудимой мембраны, существенным образом сказывается на характере подпороговой деполяризации путем резкого ускорения последней. Благодаря именно такому

участию у тиквы становится возможной генерация ПД в ответ на весьма умеренное постепенное охлаждение от 23—20° [190, 216]. В этой связи указанная перестройка может рассматриваться как триггер подпороговых изменений, приводящих к генерации ПД у высшего растения в ответ на умеренное охлаждение.

С учетом изложенного выше может быть предложена схема этапов изменения  $E_m$  возбудимой клетки высшего растения (на примере тиквы) при действии постепенного охлаждения (рис. 45), на которой этап деполяризации до уровня порога возбуждения упрощенно представлен состоящим из двух линейных участков:  $E_m^0 \rightarrow E_m^s$  и  $E_m^s \rightarrow E_m^c$ , где  $E_m^s$  — гипотетический уровень  $E_m$  при температуре структурной перестройки в липидном окружении электрогенного насоса.

В пределах участка  $E_m^0 \rightarrow E_m^s$  снижение  $E_p$  протекает со сравнительно невысоким коэффициентом крутизны и несущественно по величине. Причин изменения  $E_p$  на этом участке, очевидно, может быть несколько [207, 212]. В их число входят, вероятно, градуальное уменьшение лабильности белковой структуры электрогенного насоса, градуальное увеличение вязкости липидного матрикса мембраны, уменьшение активности дыхания. Во многом сходны с ними причины, обуславливающие уменьшение величины  $E_p$  на участке  $E_m^s \rightarrow E_m^c$ . Однако крутизна процесса здесь очень значительна и определяется она главным образом тем, что под влиянием температурно-зависимой структурной перестройки липидного окружения электрогенный насос, создающий  $E_p$ , совершил предположительно конформационный переход в состояние с низкой каталитической активностью, и в результате чувствительность  $E_p$  к действию охлаждения резко возросла (ниже уровня  $E_m^s$ ).

Изложенный выше материал, иллюстрирующий роль структурных изменений в возбудимой мембране в достижении уровня порога возбуждения при действии температурного раздражителя, на наш взгляд, на частном примере позволяет достаточно определенно судить о состоянии вопроса в целом. Как показано ранее (см. раздел 7), механизм действия самых различных экзогенных и эндогенных факторов на  $E_m^r$  клеток высших растений тесно связан с теми или иными модификациями мембранной структуры. Исходя из этого, универсальность роли структурных перестроек в возбудимой мембране в осуществлении процесса подпороговой деполяризации, как фрагмента изменения  $E_m^r$  возбудимой клетки представляется вполне очевидной.

## Роль структурных перестроек в возбудимой мембране в генерации пика потенциала действия

Наряду с участием в подпороговых изменениях структурные перестройки в возбудимых мембранах играют, судя по всему, существенную роль в генерации собственно пика ПД, т.е. на стадии возбуждения мембран, когда уровень порога уже достигнут. Убедительным аргументом в пользу изменения структуры возбудимой мембраны при генерации пика ПД может служить известный феномен скачкообразного уменьшения  $R_m$  в фазу деполяризации импульса, обнаруженный и на клетках высших растений [283, 610]. При этом возникновение ПД по принципу "все или ничего" может рассматриваться как критерий кооперативного характера лежащего в основе этого процесса предполагаемого структурного "возмущения" [116].

Следует отметить, что проблема связи генерации пика ПД со структурными перестройками в возбудимой мембране давно привлекает внимание исследователей. В частности, представления о том, что возникновение трансмембранных ионных потоков, формирующих ПД, есть результат конформационных изменений макромолекул возбудимой мембраны, были изложены в работах Тасаки и сотрудников уже с конца 1960-х годов [254, 448, 660, 661]. Согласно их концепции, при раздражении нервной ткани животных двухвалентные ионы ( $\text{Ca}^{2+}$ ) в возбудимой мембране заменяются на одновалентные ( $\text{K}^+$ ). Этот ионообменный процесс вызывает изменение конформации мембранных макромолекул, набухание мембраны и как следствие увеличение проводимости для  $\text{K}^+$  и  $\text{Na}^+$ . В пользу реальности протекания конформационных изменений в мембране при возбуждении свидетельствовали результаты опы. дв, проведенных с использованием флуоресцентных зондов АНС и акридиноранджа [658, 659, 662]. В этих опытах в ходе параллельной регистрации ПД и интенсивности флуоресценции связанных с поверхностью мембраны зондов было показано, что электрические и оптические параметры нервной ткани изменяются синхронно.

Сходные результаты были получены при исследовании сорбции анионного красителя бирюзового прямого светопрочного мембраной аксона краба при возбуждении [138—140]. В числе других свидетельств наличия конформационных изменений в возбудимой мембране, связанных с генерацией одиночного ПД, следует упомянуть изменение светорассеивающих свойств и уменьшение двойного лучепреломления при возбуждении аксонов ряда животных объектов [24, 25, 357].

Накопленный экспериментальный материал дал весомые основания рассматривать генерацию ПД как кооперативный процесс, в ходе которого липопротеидные комплексы возбудимой мембраны претерпевают обратимые и генерализованные конформационные перестройки. В оформленном виде подобный подход впервые наметился в работах С.В.Конева и соавторов [117—119]. По их мнению,

процесс генерации ПД сопровождается последовательной сменой трех различных конформационных состояний мембраны: покоящегося, возбужденного и рефрактерного. Мембрана становится вновь "полноценно" возбудимой после восстановления не только исходных ионных градиентов, но и исходных структурных параметров. Важно при этом отметить, что в рамках своих представлений С.В. Конев и соавторы [118] учли, что наряду с ионообменным процессом смещение  $E_m$  может "самостоятельно" инициировать конформационные изменения в мембране при возбуждении.

Определенная сложность при анализе экспериментального материала по участию структурных "возмущений" возбудимой мембраны в генерации пика ПД состоит в том, чтобы идентифицировать, какие из зарегистрированных при возбуждении структурных изменений действительно принимают непосредственное участие в процессе генерации ПД, а какие являются лишь следствием данного процесса. С учетом этого в настоящее время под структурными изменениями в возбудимой мембране при генерации пика ПД подразумевают прежде всего конформационный переход ионных каналов в активированное состояние в результате смещения  $E_m$  в сторону деполяризации до порогового уровня [22, 309, 614]. Механизм инициации конформационного перехода ионных каналов в активированное состояние под влиянием электрического поля мембраны при этом широко обсуждается. В частности, представляется вполне вероятным, что изменение электрического поля может влиять на белковую структуру ионных каналов как непосредственно, так и опосредованно, через инициацию фазово-структурного перехода в их липидном окружении. На последнюю возможность указывают, в частности, Бхаумик и соавторы [309].

Итак, рассмотренный выше материал показывает, что структурные изменения, протекающие в возбудимых мембранах, способны приводить к генерации ПД и даже составлять неотъемлемую часть этого процесса. Следует, однако, учитывать, что связь генерации ПД со структурной лабильностью возбудимых мембран проявляется также в том, что данный процесс обнаруживает сильную зависимость от состояния мембранной структуры непосредственно перед возбуждением.

### Влияние структурного состояния возбудимой мембраны на генерацию потенциала действия

Тот факт, что структурное состояние возбудимой мембраны непосредственно перед возбуждением оказывает значительное влияние на процесс генерации ПД, экспериментально продемонстрирован к настоящему времени многими авторами. В число достаточно простых и убедительных доказательств наличия такого влияния, на наш взгляд, входит описанный в монографии С.В. Конева и соавторов [118] феномен изменения электрофизиологических свойств аксо-

нальной мембраны вследствие ее механической деформации при растяжении.

Наиболее многочисленные свидетельства зависимости генерации ПД от исходного структурного состояния возбудимой мембраны можно найти в работах, основной задачей которых являлось исследование влияния температуры на возникновение и распространение электрических импульсов возбуждения. Для нас эти работы представляют особый интерес, поскольку значительная их часть выполнена на растительных объектах [79, 210, 213, 278, 299, 311, 454, 469].

Результаты этих работ показывают, что структурные изменения в возбудимых мембранах, индуцированные влиянием температуры, во многом определяют характер температурной зависимости таких параметров электрической волны возбуждения, как ее амплитуда  $A_{пд}$ , длительность  $\tau$  и пороговый потенциал  $V_{th}$ . Интерпретация особенностей температурной зависимости перечисленных параметров с позиций фазово-структурного состояния возбудимых мембран непосредственно перед возбуждением может быть следующей.

Постепенное понижение температуры в пределах физиологического диапазона, осуществляемое в ходе эксперимента дискретно или непрерывно, оказывает на фазово-структурное состояние липидного и белкового компонентов возбудимой мембраны влияние, которое в целом может быть охарактеризовано как стабилизирующее. Мембрана становится все более упорядоченной, "плотной", растет ее  $R_m$  [260, 278, 311], а проводимость ионных каналов падает [297, 432, 469]. В результате скорость диффузии ПД-образующих ионов через мембрану при возбуждении снижается, что приводит к росту продолжительности фаз де- и реполяризации ПД и т импульса в целом [210, 213, 278, 297, 311]. При этом потенциальный энергетический барьер для проникновения ионов через мембрану может весьма существенно меняться по достижении определенных "критических" температур. Например, у хары [297] энтальпия активации ( $\Delta H^*$ ) проникновения ионов через мембрану при возбуждении варьировала в пределах диапазона 3,5—40° от 7 кДж/моль при температурах выше 20° до 350 кДж/моль при температурах ниже 7°. Между 7 и 20° величина  $\Delta H^*$  составила 24 кДж/моль. Изменения  $\tau$  ПД при этом были очень значительны — от 1 с при 40° до 30 с при 3,5°. Показательно также, что  $\Delta H^*$  транспорта ионов по возбудимым каналам у хары при низких температурах (менее 7°) была сопоставима по величине с  $\Delta H^*$  дегидратации таких ПД-образующих ионов как  $Cl^-$  и  $K^+$ , а при высоких температурах (более 35°) — с  $\Delta H^*$  диффузии ионов в свободном растворе [297]. Это наводит на мысль о том, что прохождение ПД-образующих ионов по возбудимым каналам при низких температурах, очевидно, настолько затруднено, что оказывается возможным лишь при освобождении ионов от гидратных оболочек.

Помимо  $\tau$ , существенные изменения под влиянием температуры претерпевают  $V_{th}$  и  $A_{пд}$ :  $A_{пд}$  при охлаждении уменьшается, а  $V_{th}$  увеличивается [79, 210, 213, 311, 469]. Если уменьшение  $A_{пд}$ , как и рост

т, в значительной мере, по-видимому, связано с угнетением транспорта ионов через возбудимую мембрану, то увеличение  $V_{ih}$  показывает, что понижение температуры, изменяя состояние мембранной структуры, модифицирует активационные свойства возбудимых каналов. В частности, судя по данным для ханы [299], с понижением температуры заметно удлиняется время трансформации возбудимых каналов, таких как  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{Cl}^-$ -каналы, из состояния покоя в активированное состояние. Это время характеризует так называемую задержку возбуждения и соответствует пребыванию канала в промежуточном, предшествующем активированному состоянию. Можно отсюда полагать, что рост  $V_{ih}$  с понижением температуры обеспечивает необходимость компенсации ухудшения активационных свойств потенциалзависимых возбудимых каналов при охлаждении вследствие снижения конформационной подвижности образующих каналы липопротеидов.

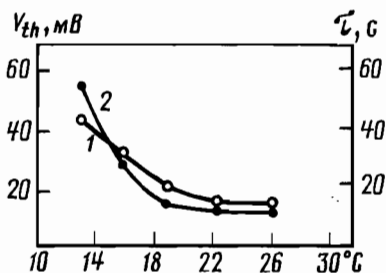
Важно далее отметить, что различные по характеру термотропные "возмущения" мембранной структуры — резкие (по типу кооперативной перестройки) и градуальные — оказывают разное модифицирующее действие на генерацию ПД. В первом случае изменения в процессе генерации сопровождаются изломами на температурных кривых параметров ПД по достижении "критических" температур, соответствующих интервалам структурных перестроек, во втором — нарастают постепенно, пропорционально росту величины температурного воздействия. Это было отчетливо показано в опытах на тыкке [213]. Термотропная структурная перестройка при  $\sim 18^\circ$  в липидном матриксе плазматических мембран, зарегистрированная методом флуоресцентных зондов [190, 215], оказалась причастной к появлению перегиба на температурных кривых ряда параметров ( $V_{ih}$ ,  $\tau$ ) ПД, возникавших в диапазоне от  $26$  до  $13^\circ$  в возбудимых клетках стебля растения в условиях постепенного охлаждения. В свою очередь, градуальное изменение вязкости липидного матрикса мембран в интервалах  $13-18$  и  $18-26^\circ$  [190, 215] было, судя по всему, реальной причиной формирования более или менее линейных участков кривых анализируемых параметров ПД ниже и выше температуры перегиба (рис. 46). При этом генерализация термотропных структурных изменений, начинавшихся в липидном матриксе и охватывавших сферой своего влияния липопротеиды ионных каналов, осуществлялась, очевидно, по липид-белковому типу.

Основное отличие влияния на генерацию ПД резкой структурной перестройки кооперативного типа, происходящей в возбудимой мембране по принципу "все или ничего", от влияния градуального структурного изменения состоит, по-видимому, в том, что перестройка скачкообразно "переключает" возбудимые ионные каналы на новый режим функционирования. Такое "переключение" под влиянием термотропной перестройки сопровождается усилением зависимости генерации ПД от температуры. Именно это, на наш взгляд, может являться основной причиной того, что у таких

холодочувствительных растительных объектов, как биофитум и тыква, генерация и распространение ПД полностью блокируются охлаждением при еще сравнительно высоких физиологических температурах — 12—14° [213, 454].

Следует также обратить внимание на то, что температурная зависимость генерации ПД у объектов растительного и животного происхождения обнаруживает, судя по некоторым данным, определенные различия, которые, в свою очередь, могут быть связаны с

Рис. 46. Температурная зависимость  $V_{th}$  (1) и  $\tau$  (2) ПД возбудимой клетки стебля тыквы [213]



различиями в термотропных свойствах структуры их возбудимых мембран. Например, если у растений уменьшение  $A_{пд}$  отмечается обычно в ответ на охлаждение [210, 311], то у аксона кальмара [428] уменьшение  $A_{пд}$  происходило по мере повышения температуры. В интервале 2—20° оно было весьма незначительным — от 85 до 80 мВ, однако затем ускорялось, становясь очень быстрым при 35°. Обратимый "тепловой блок" генерации ПД в аксоне имел место между 35 и 40°.

## 17. ОСОБЕННОСТИ ВОССТАНОВИТЕЛЬНОГО ПЕРИОДА У ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ

Как и в любой другой "функциональной системе" [11], в возбудимых клетках и тканях высших растений отклонение от константного уровня жизненных параметров служит толчком к мобилизации аппаратов, вновь восстанавливающих их постоянный уровень. Это касается всего комплекса явлений, сопровождающих процесс возбуждения: электрических, электрохимических, метаболических, функциональных.

### Рефрактерность проводящих тканей

Рефрактерность, или пониженная способность реагировать генерацией электрических импульсов на повторные внешние воздействия, характерна для возбудимых систем. В период абсолютной рефрактерности генерация и распространение ПД отсутствуют, а в период относительной рефрактерности способность к их осуществлению понижена, что выражается в уменьшении  $A_{пд}$  или увеличении порога его возникновения [135, 262].

Длительности абсолютного и относительного рефрактерных периодов для возбудимых клеток и тканей некоторых локомоторных высших растений установлены сравнительно давно. У венериной мухоловки они составляют соответственно 0,6 и 30 с [338], у биофитума — 20—30 и 30—70 с [633], у мимозы — 75—90 с и несколько минут [648]. Отсюда видно, что особенностью высших растений на этом заключительном этапе цикла возбуждения, как и на этапе генерации самого ПД, является значительная длительность временных характеристик процесса, причем чем продолжительнее сам пик ПД у данного растения (см. раздел 12), тем дольше длится рефрактерное состояние после его генерации.

Несмотря на значительную вариабельность, общей чертой относительных рефрактерных периодов указанных растительных объектов является то, что их длительность, как правило, значительно превышает длительность самого ПД. Особенно четко это выражено у мимозы. Данное обстоятельство позволяет вполне обоснованно считать, что у высших растений рефрактерное состояние может играть не только специализированную роль, приводящую к восстановлению исходной возбудимости, но способно оказывать значимое влияние на метаболическую и функциональную активность всего растительного организма. Это важно, по-видимому, как для растений с быстрыми двигательными реакциями, так и для обычных высших растений. Однако у последних рефрактерность проводящих тканей, являющихся преимущественным каналом генерации и распространения ПД, изучена недостаточно. Специальные исследования в этом направлении носят пока фрагментарный характер и выполнены лишь на двух видах растений: тыкве и люпине.

Используя в качестве раздражителя электрическую стимуляцию, Пашевски и соавторы [558, 560] обнаружили, что после прохождения первого ПД в стебле люпина при повторной стимуляции любой силы зарегистрировать распространяющийся ПД на расстоянии от зоны раздражения (1—1,5 см) не удастся в течение ~12 мин. Этот интервал времени обозначен авторами как период абсолютной рефрактерности (хотя неизвестно, возникает или нет при этом электрический импульс возбуждения в зоне раздражения). Затем в течение еще более значительного интервала времени (80—90 мин) отмечается постепенное восстановление исходной способности проводить ПД. Время от 12-й до 90-й минуты обозначено как относительный рефрактерный период. Различны начальная и конечная фазы этого периода. Сначала наблюдаются импульсы, исчезающие на расстоянии нескольких сантиметров от места стимуляции. Через ~60 мин способность ПД распространяться вдоль всего стебля восстанавливается. В это же время в основном восстанавливается и исходная  $A_{пд}$ . В среднем восстановление способности проводить ПД происходит при восстановлении амплитуды второго спайка на 70—90%. Однако скорость распространения второго ПД при этом остается меньшей и составляет около 65% от скорости первого ПД. Еще через 20—30 мин скорость распространения и амплитуда второго ПД достигают

исходного значения. Когда в качестве раздражителя используют более сильный электрический стимул, АПД и способность к распространению восстанавливаются быстрее, а когда более слабый — медленнее.

Таким образом, в исследованиях на люпине выявлены весьма важные характеристики процесса восстановления способности к проведению ПД у высшего растения. Однако остается совершенно неясным вопрос о восстановлении способности к генерации электрического импульса возбуждения непосредственно в зоне раздражения. Применяемый авторами способ стимуляции не дает возможности изучить электрический ответ в этой зоне, по-видимому, из-за наводки, возникающей между отводящими и стимулирующими электродами. Между тем для высших растений выяснение этого вопроса представляется особенно актуальным. Способность к распространению ПД у них — это свойство всей совокупности клеток проводящих тканей. Оно зависит, в частности, от состояния межклеточной проводимости (см. раздел 13). В то же время способность к генерации ПД (местных ПД) — это свойство отдельных клеток, от состояния межклеточных контактов, очевидно, не зависящее.

Оценить рефрактерность проводящих тканей стебля высшего растения по отношению как к местному, так и распространяющемуся возбуждению позволили наши исследования на примере гипокотилей проростков тыквы [104, 188, 208, 226] с использованием раздражителя неэлектрической природы — кратковременного умеренного локального охлаждения (см. раздел 11).

При определении длительности рефрактерных состояний у проростков тыквы анализировали макроэлектродным способом следующие параметры: 1) величину температурного порога возникновения БЭР<sub>0</sub>, т.е. фронта ПД в зоне раздражения; 2) амплитуду БЭР<sub>1</sub>, т.е. распространяющегося ПД на расстоянии  $l$  от этой зоны; 3) скорость распространения ПД  $v=l/\Delta t$  (рис. 47). Расстояние  $l \geq 20$  мм составляло около  $6\lambda$ , где  $\lambda$  — кабельная константа проводящих тканей стебля тыквы (см. раздел 13). Это обеспечивало фактически полное (не менее 400-кратного) затухание электротонического потенциала, поэтому БЭР<sub>1</sub> действительно отражала только активно распространяющуюся волну возбуждения, т.е. ПД.

Установлено, что рефрактерный период для генерации фронта ПД в зоне раздражения, или промежуток времени между первым и вторым воздействием, за пределами которого пороговый перепад температур  $\Delta t_{\text{кр}}^{\circ}$  для повторной БЭР<sub>0</sub> не возрастал, составлял от 5 до 12 мин. Примерно в этом же интервале времени происходило восстановление исходной амплитуды повторной БЭР<sub>1</sub> вне зоны раздражения. Это говорит о том, что способность к распространению ПД к этому времени также восстанавливается.

Вместе с тем оценка рефрактерного периода при генерации ритмически повторяющихся ПД в паренхимных клетках проводящего пучка стебля тыквы показала, что его продолжительность может

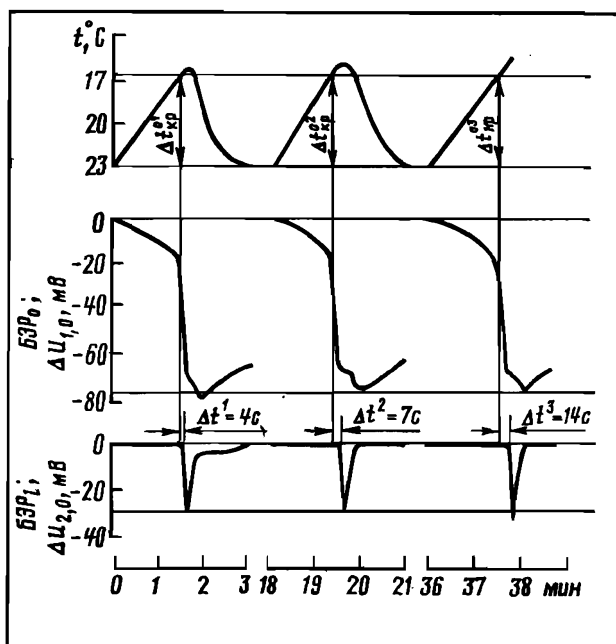


Рис. 47. Биоэлектрические реакции в стебле проводка тыквы, зарегистрированные в зоне раздражения (БЭР<sub>0</sub>) и на расстоянии  $l$  от нее (БЭР<sub>l</sub>) при раздражении участка стебля охлаждением в указанном режиме ( $t^{\circ}, C$ ) [220]

$\Delta t_{кр}$  — перепад температур, вызывающий генерацию ПД;  $\Delta t$  — время прохождения фронтом ПД расстояния  $l = 30$  мм. Индексы 1, 2 и 3 соответствуют номеру импульса

быть менее 5 мин и составлять в ряде случаев около 1,5 мин [226]. Это дает основание считать, что длительность рефрактерного периода в значительной мере, вероятно, детерминирована физиологическим состоянием объекта. Особое положение с этой точки зрения занимают, по-видимому, генеративные органы растений, имеющие весьма интенсивный обмен веществ и значительно меньшую амплитуду спайка, чем в вегетативных органах (см. раздел 12). Периодичность следования приблизительно одинаковых по амплитуде импульсов может составлять в пестике кукурузы, например, всего несколько секунд, что сопоставимо с длительностью самого ПД [82].

Однако характеристика периода рефрактерности у высших растений не исчерпывается только оценкой порога возбуждения в месте раздражения и  $A_{пд}$  на удалении от этого места. Если обратиться к рис. 47, то заслуживает внимания тот факт, что, как и в описанных выше экспериментах на люпине [558], при интервалах между раздражениями, обеспечивающими восстановление способности генерировать фронт ПД в зоне раздражения и восстановление  $A_{пд}$  вне ее, скорость распространения повторного импульса была все же значительно меньше, чем предыдущего. Она составляла 7,5; 4,3 и

2,1 мм·с<sup>-1</sup> для первого, второго и третьего импульсов соответственно (интервал между воздействиями 18 мин).

Это говорит о том, что если для генерации ПД в месте раздражения рефрактерный период уже закончился, то для распространения импульсов по проводящим тканям он еще имеет место. Определение продолжительности последнего показало, что он составляет 26—40 мин.

Основываясь на этих данных, можно заключить, что по крайней мере у некоторых высших растений для характеристики рефрактерности проводящих тканей целесообразно указывать не один, а два периода рефрактерности: период рефрактерности для генерации фронта ПД в ответ на надпороговое раздражение (5—12 мин для стебля тыквы) и период рефрактерности для распространения ПД (26—40 мин для этого же объекта и, очевидно, ~90 мин для стебля люпина).

Если оценивать рефрактерность проводящих тканей длительностью ее абсолютного и относительного периодов по отдельности, то для процесса генерации ПД сделать это на основании имеющихся данных затруднительно. Можно лишь предположить, что, как и в животных клетках, длительность абсолютного рефрактерного периода для генерации ПД в клетках проводящих тканей соответствует длительности самого ПД. Для процесса проведения ПД такая оценка, очевидно, более определена. Период полного непроведения возникающего фронта одиночного ПД в стебле тыквы длится от 2 до 6 мин. Именно в этом интервале времени повторные БЭР<sub>1</sub> иногда не регистрируются вовсе, хотя БЭР<sub>0</sub> и возникают. Для люпина этот период равен примерно 12 мин.

Встает вопрос о причинах существования различных рефрактерных состояний высших растений.

Для способности генерировать фронт ПД в зоне раздражения абсолютный рефрактерный период связан в первую очередь с инактивацией ионных каналов. Начальная фаза относительной рефрактерности обусловлена возвращением каналов в покоящееся, готовое к активации состояние. Последующую роль в окончательном восстановлении способности генерировать фронт ПД в клетках проводящих тканей должен играть, по нашему мнению, активный ионный транспорт, восстанавливающий после генерации ПД исходный ионный гомеостаз. Что касается рефрактерного периода для проведения ПД, то на разных его этапах также, по-видимому, действуют разные причины. В абсолютный рефрактерный период возникающее местное возбуждение из-за низкой величины и скорости нарастания деполяризации в зоне раздражения не может переходить на соседние нераздражаемые внешним воздействием клетки, поскольку локальные токи, замыкающиеся в них, вероятно, не обеспечивают пороговую деполяризацию.

В период относительной рефрактерности для проведения ПД скорость распространения импульса возбуждения по проводящим пучкам определяется  $dV/dt$  и  $\Delta U^*$ , т.е. параметрами ПД (уравнение 13),

входящими в уравнение, применяемое для расчета скорости нервного импульса [155] и использованное также для расчета скорости распространения ВП [265]. Пока эти параметры повторного ПД не восстановят своего исходного значения, на способность к передаче возбуждения влияет пониженная способность клеток пучка к быстрой деполяризации, т.е. их собственная низкая возбудимость.

В заключительную фазу периода относительной рефрактерности для проведения ПД параметры повторного импульса становятся примерно такими же, что и предыдущего, и уменьшение скорости распространения повторного импульса при этом уже нельзя объяснить изменением  $dV/dt$  и  $\Delta U^*$ , а только весьма значительным увеличением  $(R_0 + R_i)$ , так как в уравнении 13 суммарное сопротивление  $(R_0 + R_i)$  находится под знаком корня. Такое увеличение суммы сопротивлений апопласта и симпласта может быть обусловлено, очевидно, лишь увеличением симпластного межклеточного сопротивления, может быть, за счет закрывания плазмодесм [53] или же за счет выхода участвующих в генерации ПД ионов  $K^+$  и  $Cl^-$  из цитоплазмы плазмодесм. Известно, что концентрация  $Cl^-$  в плазмодесмах очень велика [681].

## Восстановление ионного гомеостаза

Большие ионные потоки, возникающие при генерации ПД, и отражающие эти потоки ионные сдвиги (см. раздел 14) однозначно свидетельствуют о том, что импульсное возбуждение требует восстановления нарушенного ионного гомеостаза в проводящих тканях после генерации ПД.

Содержание основных участвующих в возникновении ПД ионов  $K^+$ ,  $Cl^-$  и  $Ca^{2+}$  во флоэмном эксудате проростков тыквы, увеличивающееся во время ПД, через 3—5 мин после импульса уменьшается и в дальнейшем не отличается от уровня покоя [176, 192, 225]. Вероятно, выход ионов из ситовидных трубок связан с восстановлением исходного уровня этих ионов во всем континууме проводящих тканей и в первую очередь в возбудимых паренхимных клетках. На это косвенно указывает тот факт, что минимальное время восстановления исходного порога возбуждения у проводящих тканей проростков тыквы и период полного непроведения возникающего фронта ПД у них не превышают время восстановления исходных ионных концентраций в эксудате.

Для восстановления ионного гомеостаза после генерации ПД необходима дополнительная энергия. То, что генерация одиночного ПД у высших растений сопровождается интенсификацией энергетических процессов в проводящих тканях, было впервые установлено в исследованиях на черешках мимозы и свеклы [102, 103, 176] путем анализа процессов радикалообразования. Концентрация свободных радикалов в клетках связана, как известно, с протеканием энергетических процессов, в частности с гидролизом АТФ, являющейся основным

энергетическим источником для работы систем активного транспорта. Было показано, что волна усиления радикалообразования, сопутствующая распространению ПД, совпадает по времени с рефрактерным состоянием, в основном приходясь на абсолютный рефрактерный период.

Впоследствии в экспериментах на тыкке удалось установить, что содержание АТФ в проводящих тканях при прохождении по ним ПД уменьшается, достигая минимума через 1 мин после спайка и восстанавливаясь до исходного уровня через 6 мин после него [177]. Как и усиление радикалообразования, эти изменения также совпадают по времени с длительностью абсолютного рефрактерного периода для распространяющихся ПД в стебле тыквы (2—6 мин).

Сопоставимые изменения наблюдаются и при измерении рН флоэмного эксудата стебля тыквы [219]. Его значение также через 1 мин после ПД достигает минимума ( $7,75 \pm 0,05$ ), а через 6 мин становится даже несколько выше, чем в покое ( $8,08 \pm 0,03$ ). Динамика изменения рН искусственного апопластного раствора, перфузированного в воздушную полость стебля, почти зеркально отражает изменения рН эксудата [218]. Очевидно, примерно в течение 1 мин после ПД  $H^+$  пассивно поступают в щелочную среду ситовидных трубок из апопласта, а затем активно удаляются против градиента  $\Delta pH^+$  в течение примерно 5 мин. Это свидетельствует о том, что распространение возбуждения в проводящем пучке сопровождается значительными изменениями протонной проводимости и активности  $H^+$ -насосов, которые захватывают своим влиянием и канал передвижения органических веществ. Последовательность смены преобладающих ионных потоков, возникающих после генерации ПД в ходе восстановительных процессов между возбудимыми паренхимными клетками и прилегающими ситовидными элементами, можно предположительно представить, как это сделано на рис. 48.

В данной схеме предполагается, что насосы, восстанавливающие исходный ионный гомеостаз в проводящих тканях после ПД, являются в основном  $H^+$ -АТФазами паренхимных клеток проводящих тканей. Это подтверждает в определенной степени установленный факт увеличения общей АТФазной активности гомогената проводящих тканей стебля тыквы через 1—3 мин после генерации ПД [177]. Такой эффект известен и для ритмически возбуждаемых животных тканей (мышца, нерв). Он может быть связан с биосинтезом новых молекул фермента под влиянием возбуждения или переходом неактивных форм фермента в активные [148].

Возможно, что одним из путей стойкого увеличения АТФазной активности в проводящих тканях при генерации ПД является известное явление активации мембраносвязанных АТФаз высших растений комплексом  $Ca^{2+}$  с кальмодулином [369, 504]. Этот комплекс может возникать в результате отмечаемого входа  $Ca^{2+}$  из апопласта по возбудимым кальциевым каналам (см. раздел 14).

Итак, восстановление исходного ионного равновесия после ПД в проводящих тканях сопровождается существенными метаболи-

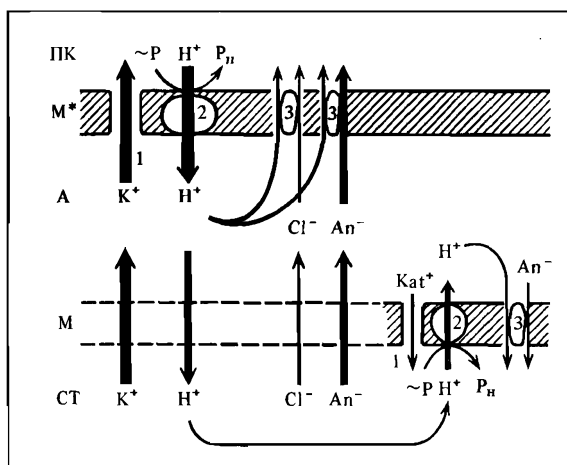


Рис. 48. Гипотетическая схема возникновения основных ионных потоков в межклеточном пространстве (А) между возбудимыми паренхимными клетками (ПК) и прилегающими ситовидными трубками (СТ) в проводящих тканях в восстановительный период после генерации ПД

1 — катионный (калиевый) канал; 2 — ионная (протонная) помпа; 3 — анионный (хлорный) переносчик. М\* — возбудимая мембрана ПК, М — плазматическая мембрана СТ. Пунктиром изображено неспецифическое увеличение ионной проницаемости М после ПД

ческими сдвигами (интенсивность радикалообразования, уровень АТФ, АТФазная активность, рН) и длится значительный промежуток времени. В этом же интервале времени повторно вызвать распространяющийся ПД нельзя (абсолютный рефрактерный период для проведения ПД). В близком интервале времени происходит восстановление способности клеток генерировать ПД в зоне раздражения, обозначенное выше как относительный рефрактерный период для генерации ПД. Шлейф ионных и метаболических изменений после одиночного ПД, как видим, существует достаточно длительное время. Это еще одно принципиальное отличие ПД проводящих тканей высших растений от других возбудимых образований.

## 18. РОЛЬ ПОТЕНЦИАЛОВ ДЕЙСТВИЯ В ФУНКЦИОНИРОВАНИИ ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ

### Постановка вопроса

Вопрос о функциональной роли ПД является одним из наиболее важных в проблеме импульсной электрической активности высших растений. В зависимости от ответа на него исследования ПД у этих организмов приобретают разное значение. Если ПД у большинства высших растений не несут какой-либо функциональной нагрузки и являются свойством плазматических мембран, не реализованным в 178

ходе эволюции, то их следует рассматривать как интересный биологический феномен, который необходимо изучать в сравнительно-физиологическом плане с целью анализа основных особенностей и механизмов процесса распространяющегося возбуждения. Плодотворный пример такого подхода дает исследование ПД у харовых водорослей, для которых функциональное значение этих потенциалов до сих пор не установлено. Если же ПД играют определенную роль в процессах жизнедеятельности высших растений, то способность к их генерации следует рассматривать как важное физиологическое отправление наряду с дыханием, фотосинтезом, ростом и т.д., а исследование ПД у высших растений приобретает характер самостоятельной и весьма важной научной проблемы.

Совокупность данных, полученных к настоящему времени, позволяет склониться в пользу второй точки зрения.

Принципиальная возможность функциональной роли ПД у высших растений прежде всего подтверждается существованием группы так называемых "двигательных" растений: мимозы, росянки, венериной мухоловки, кислицы, альдрованды и других, у которых значение ПД в осуществлении жизненных отправлений проявляется вполне отчетливо. У этих организмов под влиянием механического, а иногда также температурного, светового и других воздействий возникают распространяющиеся ПД, которые, достигая моторных клеток, вызывают у них комплекс изменений, приводящих к моторному акту и осуществлению соответствующей функции. Для мимозы стыдливой и некоторых других видов, происходящих из южных районов, где нередко бывают сильные ливни и ураганные ветры, моторный акт обеспечивает своего рода защиту нежных листьев от повреждающего влияния неблагоприятных механических воздействий [167]. Предполагается также, что у мимозы он служит для отпугивания вредных насекомых [570]. Для насекомоядных растений, таких, как венерина мухоловка, росянка, альдрованда, двигательный акт важен в качестве основы процесса ловли насекомого.

Причастность распространяющихся ПД к указанным быстрым двигательным реакциям хорошо установлена. У мимозы, например, вслед за механическим раздражением листа возникает ПД, который перемещается базипетально по черешку и достигает листовой подушечки. В ней через определенный латентный период (0, 2 с), в свою очередь, генерируется распространяющийся ПД, имеющий несколько иные параметры [628, 631, 674]. При этом происходит уменьшение сопротивления клеточных мембран подушечки [282, 610], возникновение ионных потоков [280, 281, 609], выход воды и уменьшение тургорного давления ткани [667]. В результате спустя 0,1 с после возникновения в подушечке ПД наступает механический ответ [372, 631].

Аналогичный анализ последовательности событий имеется и для насекомоядных растений. Так, у венериной мухоловки после механического, химического или электрического раздражения одного из шести чувствительных волосков, расположенных на верхней поверхности ловушки, в нем происходит изменение электрического потен-

циала, напоминающее отчасти рецепторный потенциал механорецепторов животных [449]. Если это изменение достигает определенного уровня, то возникает ПД, который распространяется во всех направлениях, но обычно не приводит к наступлению механической реакции [340, 370, 631, 651]. Для ее возникновения нужен второй стимул, нанесенный на тот же или другой волосок не позднее чем через 20 с после первого [370, 631]. При этом генерируется второй ПД с несколько большей скоростью распространения и меньшей длительностью, вслед за которым через  $0,6 \pm 0,05$  с наступает захлопывание ловушки [370]. Только при достаточно высокой температуре (38—40°) механический ответ происходит после однократного воздействия [493].

Механизм моторной реакции у венеиной мухоловки пока не совсем ясен. Полагают, что в его основе лежат изменения тургорного давления в клетках [293], хотя существуют и иные точки зрения [430]. Во время переваривания насекомого в ловушке длительно генерируются спонтанные ПД, что, по-видимому, поддерживает ее в закрытом состоянии. Примечательно, что механический ответ всегда наступает лишь после возникновения ПД [293], в то время как ПД может и не привести к двигательному акту [651].

Имеются работы, показывающие причастность ПД к движениям волосков насекомоядного растения росянки. Здесь, так же как и у венеиной мухоловки, при раздражении головки чувствительного волоска происходит изменение рецепторного потенциала, который после достижения определенной величины вызывает генерацию базально распространяющегося ПД. Сгибание волоска наблюдается в результате возникновения двух последовательных ПД с интервалом не более 1,5—2,0 мин [690, 691].

Наконец, весьма четко показана роль ПД в движении лопастей ловушки насекомоядного растения альдрованды. Здесь при механическом раздражении также возникает ПД, распространяющийся в лопастях и приводящий к их закрыванию [440, 441]. Показательно, что, как и у венеиной мухоловки, механический ответ у альдрованды наступает после возникновения ПД, тогда как при определенных условиях (например, в 20-молярном маннитоле) ПД может и не привести к двигательному акту [442].

Таким образом, функциональная роль ПД у "двигательных" растений не вызывает сомнений. Это обстоятельство имеет важное значение. Оно свидетельствует о возможности участия ПД в процессах жизнедеятельности других высших растений.

Действительно, между "двигательными" и обычными растениями нет принципиальных различий ни в анатомическом, ни в физиологическом плане, поэтому функциональную значимость ПД у мимозы, росянки и других нельзя считать особым качеством, свойственным только этой группе растительных объектов. Нередко функциональная роль ПД рассматривалась как специфическая особенность "двигательных" растений на том основании, что она связана у них с быстрыми моторными реакциями, которые отсутствуют у остальных выс-

ших растений. Однако при ближайшем рассмотрении этот аргумент нельзя признать достаточно убедительным. Между "двигательными" и обычными растениями нет резкой границы. Имеется ряд видов, которые по моторной активности занимают промежуточное положение. Кроме того, возникновение двигательного акта под влиянием ПД включает ряд биофизических процессов, которые с таким же успехом могут опосредовать действие ПД на жизненные функции обычных растений.

Существенным моментом, подкрепляющим возможность функциональной роли ПД у растений, не обладающих быстрыми двигательными реакциями, является установление к настоящему времени у них четко выраженной способности к генерации ПД. Поскольку эта способность представлена у видов, принадлежащих к самым разным семействам, то все более утверждается точка зрения о генерации ПД как универсальном свойстве всех или по крайней мере большинства высших растений. Вместе с тем генерация и распространение ПД являются весьма специализированными процессами, требующими для своего осуществления соответствующего структурного и функционального обеспечения (наличие кабельных свойств, ионных каналов, подключение метаболизма и др.). Трудно допустить, чтобы такие процессы могли сохраниться в ходе эволюции и приобрести черты универсальности, не имея функциональной значимости.

Следует, наконец, отметить, что электрохимические исследования позволяют достаточно определенно представить, каким образом может осуществляться влияние ПД на протекание различных жизненных функций (см. раздел 13). Основной канал этого влияния связан с их электротоническим действием, а также с изменением ионных соотношений в тканях, по которым распространяются ПД или которых они достигают. Возникший в клетках каскад процессов может привести в конечном итоге к изменению физиологических функций. Схема такого влияния ПД весьма детально проработана Дэвисом [363, 364].

Получен значительный экспериментальный материал, свидетельствующий о возможности влияния ПД на протекание различных физиологических процессов у высших растений. Особенно отчетливо такое влияние обнаруживается при сильных повреждающих воздействиях. В этом случае в листьях мимозы, например, возникают ПД, которые, достигнув листовых подушечек, вызывают спадание листочков и подчерешков [29, 30]. Раздражение корневой системы растений 1 М NaCl, 0,5 М KNO<sub>3</sub>, 0,5 М KCl, высокой температурой и другими агентами приводит к быстрому изменению фотосинтеза [18, 19]. Электрофизиологические исследования выявили, что в основе этого явления лежит генерация ПД, которые, распространяясь акропетально, достигают листа и через определенный латентный период вызывают в нем сначала изменение метаболического потенциала, а затем интенсивности газообмена [74, 244].

При достаточно сильных и резких воздействиях на верхушку растения в проводящих пучках возникает базипетально распространяющийся ПД, который вызывает временное усиление энергетического

обмена проводящих тканей (увеличение радикалообразования, повышение активности АТФаз) и интенсификацию акропетального и базипетального транспорта веществ [176, 178, 179]. Достигнув корней, ПД влияет на их способность поглощать ионы ортофосфата [182]. Этот эффект в значительной степени связан с изменением состояния поверхностных мембран корней, в частности их АТФазных белков [181].

Вполне четко проявляется действие ПД на функциональную активность органов растений при действии умеренных раздражителей, которые постоянно встречаются в естественной и искусственной обстановке. Сюда следует отнести такие факторы, как свет, относительно небольшие перепады температуры, слабые механические раздражения, действие минеральных солей и т.д. Например, хорошо известны связанные с генерацией и распространением ПД приспособительные моторные ответы мимозы и кислицы под влиянием света разного спектрального состава, слабых механических стимулов и температурных воздействий [29, 30, 398, 602]. Насекомоядные растения осуществляют двигательный акт, которому предшествует возникновение ПД, при незначительном механическом раздражении насекомым чувствительных волосков [370, 690]. Механическое раздражение волосков нектарников у липы, имитирующее действие насекомого, вызывает немедленную генерацию ПД, которые, распространяясь от места раздражения по железистым клеткам и тяжам протоплазмы во флоэму проводящих пучков, стимулируют нектарообразование и нектаровыделение. Увеличение нектаровыделения происходит примерно на пике ПД и продолжается некоторое время после него [164].

У встречающихся среди густых зарослей кустарников растений мимолуса при легком механическом раздражении закрываются лопасти рыльца, образуя влажную камеру, благоприятную для прорастания пыльцевых зерен, принесенных насекомыми [55]. Опыты, проведенные на обладающих такими же свойствами рыльцах инкарвиллеи, показали, что в основе этой реакции лежит генерирование ПД, который распространяясь к месту сочленения лопастей, вызывает двигательный акт [242]. Умеренное механическое воздействие на эпикотиль гороха приводит к возникновению ПД, которые могут служить стимулом для выделения этилена, контролирующего рост органа в толщину. Данная реакция, вероятно, происходит в почве под влиянием механического давления частиц на растущий эпикотиль [569]. При действии света на гаметофиты папоротников возникают распространяющиеся ПД, которые вызывают гуттацию, необходимую для процесса оплодотворения [241]. Умеренное охлаждение верхушки проростков тыквы приводит к генерации базипетально распространяющихся ПД, которые, достигая корней, способствуют усилению поглощения  $\text{K}\text{H}_2\text{PO}_4$  [263]. Под влиянием слабого электрического тока в верхнем междоузлии люффы генерируется ПД, после чего наблюдается временное (в течение 5 мин) уменьшение скорости роста стебля в длину [625]. Показано также, что ПД, возникающий под влиянием электрического и механического стимулов, может вызывать усиление дыхания в таломе коноцефалума [703].

Существенное место следует отвести функциональному влиянию ПД, возникающих в ходе естественных физиологических процессов. Наиболее изучена в этом отношении репродуктивная система растений. Установлено, что попадание пыльцы на рыльце цветка индуцирует возникновение ПД, перемещающихся по направлению к завязи [82]. Достигнув завязи, ПД временно усиливают ее дыхание, что, по-видимому, связано с подготовкой генеративного органа к восприятию пыльцы [242, 639].

Изложенный материал позволяет весьма определенно полагать, что ПД, генерируемые в высшем растении под влиянием раздражителей самой разной природы, могут влиять на протекание различных физиологических процессов. Поскольку это влияние неспецифично, т.е. одиночный ПД, генерируемый под влиянием разных факторов, может действовать в разных органах растения на самые разные физиологические процессы, и поскольку это влияние кратковременно, то возникает вопрос о том, какую роль играет ПД во всех этих ответных реакциях. Анализ имеющихся результатов позволяет с достаточной долей уверенности считать, что эта роль является сигнальной.

### Сигнальная роль потенциалов действия у высших растений

Можно полагать, что свойство генерировать и проводить ПД претерпело в биосистемах определенные изменения в ходе эволюции не только в отношении механизмов, лежащих в его основе, но и в отношении его функциональной значимости. Высказываются предположения [406], что наиболее древней функцией ПД в животном и растительном мире была его защитная роль при действии различных повреждающих факторов, состоящая в кратковременном сбросе мембранного потенциала. Это способствовало ускорению репарации поврежденных мембранных структур.

В дальнейшем возникла сигнальная роль ПД, которая состояла в передаче сообщения о действии внешнего или внутреннего фактора на биологическую систему от одной ее части к другой. Поскольку генерация ПД происходит по принципу "все или ничего", то ПД с одинаковыми параметрами возникали в такой системе под влиянием самых разных факторов. Поэтому сигналы в виде ПД не могли нести информации о качестве воздействия и вызывать специфический функциональный ответ. Однако они осуществляли экстренную сигнальную связь, которая имела большое значение в быстрых приспособительных реакциях биологической системы на действие внезапно изменяющихся условий.

Наконец, на более поздних этапах эволюции передача ПД от одной части биологической системы к другой начинает нести определенный запас информации, которая, как известно, у высших животных закодирована в частотных характеристиках ПД, возникающих при участии специфических рецепторов.

Если говорить о функциональной значимости ПД у высших растений, то, не отрицая возможности их защитного действия, следует на основе имеющегося экспериментального материала признать, что они выполняют в основном сигнальную роль. Целесообразность наличия экстренной сигнальной связи у высших растений с участием ПД проступает со всей очевидностью.

Высшие растения — сложная, тонко дифференцированная система. Ее существование как целого при постоянно меняющихся внешних условиях возможно лишь благодаря строгой координации функций всех органов. На организменном уровне эта координация осуществляется с помощью дальних связей, основным каналом которых служит проводящая система. Один тип дальней связи создается перемещением фитогормонов, другой — транспортом различных метаболитов. Однако эти типы связи не могут обеспечить быстрой координации функций растений. Поток ассимилятов перемещается по флоэме со средней скоростью 100 см/ч [132, 499] и в состоянии осуществить передачу информации о внешнем воздействии сравнительно медленно. Так, для растений высотой 2 м она займет около 2 ч. Правда, в литературе имеются указания на возможность "бросков" ассимилятов в проводящей системе со скоростью 50—70 м/ч [163, 387, 535]. Однако их природа, значение и универсальность распространения остаются неясными. Не быстрее должна работать связь, основанная на транспорте фитогормонов. Это тем более справедливо, что некоторые из них, например ауксин, могут двигаться базипетально со скоростью 11—17 мм/ч [200].

Волна возбуждения, распространяющаяся по проводящим тканям с высокой скоростью (до 4000—6000 см/ч), в состоянии вполне обеспечить быструю первоначальную связь между органами. Таким образом, распространение ПД можно рассматривать как тип специальной экстренной сигнальной связи в растительном организме.

Физиологическое значение этой связи было установлено в опытах по изучению кинетики функционального ответа под влиянием ПД [182]. Было показано, что внешний фактор ( $4 \cdot 10^{-5}$  М 2,4-Д), нанесенный на верхушку проростков вики, вызывает в надземной части появление базипетально распространяющегося ПД. Вслед за поступлением ПД в корни, что контролировалось по смещению их электрического потенциала, наблюдалось быстрое изменение поглощения  $\text{KN}_2^{32}\text{PO}_4$  из питательного раствора. Изменение поглотительной функции корней носило колебательный характер и при кратковременном (1 мин) действии раздражителя на верхушку проростков затухало к 8—10-й минуте опыта (рис. 49, А). Причастность ПД к обнаруженным явлениям доказывалась неспецифичностью и быстротой ответа. Аналогичные колебания поглощения  $\text{KN}_2^{32}\text{PO}_4$  корнями наблюдались при действии  $4 \cdot 10^{-5}$  М 2, 4, 5-Т, 1 М КСl и других факторов, а быстрота наступления ответа коррелировала только со скоростью распространения ПД и не могла быть объяснена перемещением какого-либо химического фактора, в том числе и самого раздражителя. Важно отметить, что аналогичный колебательный характер изменений наблюдался под влия-

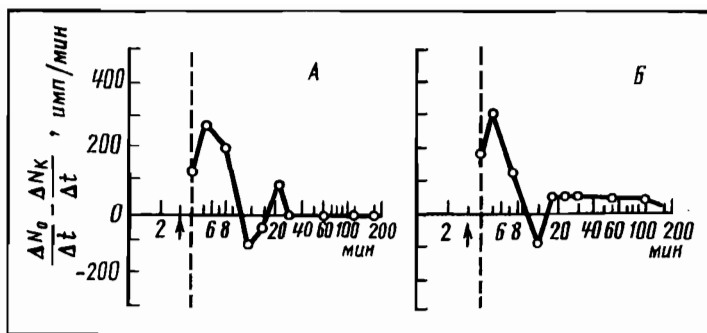


Рис. 49. Изменение скорости поглощения  $\text{H}_2^{32}\text{PO}_4^-$  корнями проростков вики при кратковременном (1 мин) (А) и постепенном (Б) действии на верхушки  $4 \cdot 10^{-5} \text{ М}$  2,4-Д [182]

нием ПД и для других физиологических функций, например фотосинтеза, при действии раздражителя на корни [174].

Быстрые колебательные процессы при действии возмущающего фактора характерны, как известно, для саморегуляторных систем. Поэтому функциональные изменения органа растения, возникающие под влиянием пришедшего ПД, следует рассматривать как неспецифическую саморегуляторную ответную реакцию. Ее значение, по-видимому, состоит в том, чтобы быстро перевести данный орган в состояние повышенной физиологической активности и подготовить его к возможным последующим функциональным перестройкам, если действие внешнего раздражителя будет продолжено.

Действительно, при непрерывном действии внешнего фактора (рис. 49, Б) начальные функциональные сдвиги носят такой же колебательный характер, как и при кратковременном воздействии (рис. 49, А). Это еще раз подтверждает неспецифичность данного этапа ответной реакции. Однако в дальнейшем (после 10 мин) функциональная активность (в частности, поглощение  $\text{KN}_2^{32}\text{PO}_4$  корнями) выходит на определенный уровень и приобретает весьма устойчивый характер. Расчеты показывают, что именно с этого момента у опытных растений может вступить в действие химическая связь (при средней скорости 100 см/ч).

Таким образом, одиночный ПД, возникший под влиянием внешнего раздражителя и выполняющий роль сигнала, достигнув того или иного органа, может вызвать кратковременные колебательные изменения той или иной функции, носящие подготовительный характер. Механизм трансформации ПД в функциональный ответ является, по-видимому, многоступенчатым (рис. 50). В тех органах, по которым ПД распространяется и которых он достигает, он электротонически вызывает изменение мембранного потенциала клеток. Это, в свою очередь, непосредственно влияет на структурное состояние мембранных систем, ответственных за пассивный и активный мембранный транспорт (каналы, транспортные АТФазы). В результате меняются



Рис. 50. Схема возможных неспецифических подготовительных реакций, возникающих в органах "обычных" высших растений под влиянием ПД [188]

ионные соотношения в клетках, что приводит к изменению активности ряда ферментных систем и интенсивности протекания физиологических процессов. Следует также отметить, что генерация и распространение ПД у высших растений непосредственно связаны с возникновением весьма существенных ионных потоков, которые в состоянии вызвать заметные сдвиги обменных процессов в клетках, непосредственно примыкающих к каналу проведения возбуждения. Эта возможность детально анализируется в работе [364].

Кратковременные функциональные сдвиги, вызванные ПД, могут, однако, дать начало более устойчивым изменениям, если влияние раздражающего фактора будет продолжено. Механизм такого пролонгированного действия внешнего фактора, по-видимому, различен в зависимости от его природы. При сильных повреждающих воздействиях (поранение, ожог, действие некоторых химических соединений) вслед за первоначальной колебательной реакцией, вызванной ПД, включается химическая связь. Природа этой связи окончательно не выяснена, но полагают, что в ее основе может лежать перемещение от места повреждения особых веществ [678]. Кроме того, при некоторых видах повреждающих воздействий (например, 1 М KCl) место раздражения становится генератором серий ПД, т.е. ПД, спонтанно повторяющихся с определенной частотой. В этом случае переход физиологической функции данного органа на новый стационарный уровень можно отчасти связать с продолжающимся воздействием поступающих в орган ПД.

В случае действия умеренных раздражителей (свет, небольшой перепад температуры в физиологическом интервале, механические стимулы и т.д.), а также при естественных процессах (например, при попадании пыльцы на рыльце пестика) возникновение вслед за начальными колебательными изменениями весьма устойчивого перехода физиологической функции на новый уровень, вероятно, обусловлено как генерацией серий ПД, так и включением химической связи, основанной на транспорте фитогормонов и метаболитов.

Понимание сигнальной роли ПД у высших растений будет, по-видимому, не полным, если не учесть еще один аспект. Установлено, что у некоторых растений (например, тыквы) ПД могут появляться в ответ на действие очень слабых внешних раздражителей. Так, ПД, имеющие обычную форму и нормальные параметры, возникали в стеблях проростков тыквы при локальном снижении температуры около верхушки лишь на несколько градусов (в ряде случаев на  $1-2^{\circ}$ ) [188]. Столь незначительный перепад температур для растения не является, очевидно, функционально значимым. Поэтому возникает вопрос, как объяснить целесообразность генерации ПД в этом случае с точки зрения выполнения им сигнальной роли. Анализ данного вопроса [188] позволил выявить новую, ранее неизвестную сторону сигнального значения ПД в жизнедеятельности высших растений.

Известно, что у высших животных генерация ПД в ответ на слабые и функционально незначимые внешние стимулы (шорох и т.д.) составляет звено процесса опережающего отражения внешнего мира в форме чувствительности. Под последней мы понимаем раздражимость более высокого порядка по сравнению с элементарной раздражимостью, т.е. "...реакцию организма на такие воздействия внешнего мира, которые становятся сигналами возможности наступления других воздействий, имеющих непосредственное биологическое значение" [249. С. 96]. Благодаря чувствительности животный организм в состоянии быстро и адекватно реагировать на внешние раздражители, что обеспечивает его приспособляемость к изменению условий природной среды.

В отношении высших растений полагали, что у них, как и у простейших, опережающее отражение протекает в форме элементарной раздражимости, материальную основу которой составляют внутренние биохимические реакции, непосредственно связанные с процессом взаимодействия организма с объектами внешнего мира [54]. Представленные выше результаты позволяют усомниться в правильности этой точки зрения. В свете принятых представлений [249] генерация ПД у обычных высших растений в ответ на очень небольшие и жизненно незначимые температурные перепады имеет только одно разумное толкование: она является звеном целесообразной биологической реакции, заключающейся в неспецифической перестройке организма и его подготовке к возможному последующему жизненно важному воздействию. Следовательно, мы можем говорить о принципиальной возможности наличия у обычных высших растений более высокой формы опережающего отражения, которую целесообразно обозначить как простейшая недифференцированная чувствительность. Роль ПД в

осуществлении такой чувствительности вполне однозначна. Он осуществляет передачу сигнала о внешнем воздействии тем или иным органам растения. В результате возникают колебательные изменения их функций и обеспечивается подготовка к восприятию возможного жизненно значимого фактора, в первую очередь в смысле повышения функциональной лабильности.

Формирование чувствительности в ходе эволюции связано с возникновением специализированных структурных элементов. Можно полагать, что в их число у высших растений входят паренхимные клетки флоэмы и протоксилемы проводящих пучков, участвующие в распространении ПД. Однако почти ничего неизвестно о рецепторных механизмах, ответственных за восприятие слабых внешних стимулов. Если говорить о температурном факторе, то вполне вероятно, что в его восприятии решающую роль должны играть фазовые изменения в липидном матриксе. Они могут протекать при весьма высоких положительных температурах в физиологически значимом диапазоне [212]. При температуре ниже фазового изменения в липидном окружении электрогенных насосов зависимость их активности от температуры резко возрастает. В результате даже небольшой перепад температур, затрагивающий эту область, может привести к резкому ослаблению электрогенных свойств мембраны, снижению  $E_m$  до критического уровня и генерации ПД.

Не подлежит сомнению, что анализ быстрых сигнальных связей, осуществляемых в высших растениях с помощью ПД, представляет собой весьма перспективную область физиологии и биофизики растений, которая может дать существенный вклад не только в понимание функционирования растительного организма, но и в разработку практических приемов диагностики и регулирования процессов его жизнедеятельности.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Вся совокупность имеющихся в настоящее время данных убеждает в том, что биоэлектrogenез у высших растений является столь же важным физиологическим отпавлением, как и у животных. Чем глубже мы познаем особенности генерации потенциалов покоя и потенциалов действия в растительном организме, тем яснее становится их значительная роль в осуществлении многих процессов, протекающих на мембранном, клеточном и тканевом уровнях, — работе мембрано-связанных ферментов, ионном и молекулярном мембранном транспорте, осуществлении регуляторных связей и др. Поэтому раскрытие механизмов биоэлектrogenеза несомненно существенно для познания таких важных комплексных физиологических свойств высших растений, как устойчивость к неблагоприятным внешним факторам, адаптация к меняющимся условиям среды, способность ассимилировать питательные вещества и т.д.

Проведенный в настоящей работе анализ механизмов биоэлектrogenеза у высших растений приводит к принципиально важному заключению о том, что эти механизмы имеют большое сходство с таковыми у других биологических систем. Генерация  $E_m^r$  на мембранах клеток

высших растений, как и на мембранах клеток животных и харофитов, включает формирование диффузионной компоненты, связанной с электрохимическими градиентами потенциалобразующих ионов и ионной проницаемостью биомембран, а также метаболической составляющей, которая создается работой ионных насосов. Генерация ПД у этих объектов обусловлена резким изменением ионной проницаемости возбудимых мембран, в основе которого лежит работа регулируемых электрическим полем ионных каналов.

Такое сходство представляется важным в сравнительно эволюционном плане, поскольку свидетельствует обобщности процессов биоэлектrogenеза у биологических объектов, находящихся на разных этапах эволюционного развития.

Однако наиболее существенным представляется выявление особенностей биоэлектrogenеза у высших растений по сравнению с другими организмами, что необходимо для понимания специфики их функционирования.

В этом плане наиболее существенной чертой генерации  $E_m^r$  у высших растений следует признать формирование очень значительной метаболической компоненты  $E_p$ . Данная особенность связана, по-видимому, с наличием достаточно мощных ионных насосов, осуществля-

ющих электрогенный транспорт  $H^+$ . При этом весьма характерным является принцип их комбинирования. Так, на плазмалемме наряду с плазмалеммой  $H^+$ -АТФазой определен вклад в транспорт протона и генерацию  $E_p$  вносит ЭТЦ, а на вакуолярной мембране функционируют вакуолярная  $H^+$ -АТФаза и  $H^+$ -пирофосфатаза. При этом следует иметь в виду, что генерации высокого  $E_p$  способствует также, по видимому, малая проницаемость мембран высших растений для протона.

Высокая величина  $E_p$  у высших растений имеет, очевидно, вполне определенное значение для их функционирования. Несомненно, что в отличие от  $E_D$ , потенциал  $E_p$  более лабилен и отзывчив на действие различных внешних (а также внутренних) факторов. Этому способствует наличие в мембране механизмов, выполняющих триггерную роль по отношению к  $H^+$ -насосам. В результате  $E_m^r$  клетки высшего растения

может весьма тонко реагировать на изменение условий и тем самым выполнять роль одного из первичных звеньев в ответных реакциях растений на внешние воздействия. Такая особая роль  $E_p$  у высших растений вполне целесообразна, поскольку значительная часть их органов находится в воздушной среде и подвержена действию разнообразных природных условий.

Значительная связь с метаболизмом обнаруживается у высших растений при генерации не только  $E_m^r$ , но и ПД. В данном случае эта связь

является двойкой. С одной стороны, она выражается в подключении ионных насосов, работа которых необходима для создания условий генерации ПД (возникновение высоких электрохимических градиентов ПД-образующих ионов, достижение порога) и обеспечения формирования самого импульса. С другой стороны, значительные ионные сдвиги, происходящие даже при генерации одиночного ПД, могут оказывать существенное влияние на метаболизм тех тканей, по которым ПД распространяется и которых он достигает.

Четкое установление особенностей связи генерации ПД с метаболизмом у высших растений позволяет достаточно определенно представить их место в общей системе эволюции возбуждения животных и растительных объектов.

По-видимому, первоначальной и наиболее элементарной реакцией клетки на внешние воздействия являлось обратимое изменение ее мембранного потенциала, связанное с изменением режима работы ионных насосов. Оно могло происходить в сторону как деполяризации, так и гиперполяризации в зависимости от особенностей внешнего фактора. Однако в качестве неспецифической ответной реакции закрепилась, очевидно, реакция деполяризации, в основе которой лежит сброс  $E_m$  в результате уменьшения работы помпы. Такой тип реагирования для клетки более выгоден, т.к. связан с повышением ее устойчивости к внешним воздействиям благодаря переводу поверхностной мембраны в менее энергизованное состояние. Временная

деполяризация носила вначале в основном местный характер, однако по мере совершенствования кабельных свойств ряда клеток и тканей она приобрела способность распространяться на расстояние и взяла на себя таким образом роль сигнала о внешнем воздействии. Такой "метаболический" тип генерации возбуждения, хотя и не в "чистом" виде, сохранился до настоящего времени у некоторых объектов. У растений к числу последних можно отнести водоросль ацетабулярию.

Несомненным шагом вперед явилось возникновение в ходе эволюции специфических канальных систем, работа которых управлялась полем на мембране. Это позволило генерацию ПД "перевести" с преимущественно метаболического типа на тип "комбинированный", когда кроме метаболической помпы в генерации электрического импульса важную роль играют и диффузионные процессы, связанные с резким увеличением проницаемости мембран для ПД-образующих ионов. Процесс деполяризации при генерации ПД становится более совершенным, обусловленным резким увеличением канальной ионной проводимости. Это обеспечивает четкость и быстроту деполяризационного ответа и его большую надежность. Входящий электрический ток при деполяризации шунтирует ток, генерируемый помпой, и на этой стадии играет определяющую роль в изменении потенциала на мембране.

Однако несовершенство работы канальных систем, проявляющееся прежде всего в отсутствии четкой дифференциации "деполяризующих" и "реполяризующих" каналов по отношению к полю на мембране, создавало большое перекрытие входящего и выходящего электрического тока. Это неизбежно сопровождалось большой длительностью деполяризующего и реполяризующего ионных потоков и как следствие большой длительностью ПД. В результате возбудимая система даже на генерацию одиночного ПД затрачивала значительные электрохимические градиенты соответствующих ионов. В силу этого канальный выходящий реполяризующий ток не мог "вытянуть" мембранный потенциал до исходного уровня и на завершающем этапе реполяризации по мере ослабления диффузионного выходящего тока все большую роль начинает играть ток помпы, которая своей работой "подтягивает"  $E_m$  до уровня  $E_m^r$ . Сохраняется полностью и важная роль пом-

пы в деполяризации мембраны до уровня порога возбуждения. Именно такой "комбинированный" тип генерации ПД, согласно представленным в данной работе результатам, имеет место в возбудимых клетках высших растений.

Наконец, совершенствование механизмов генерации ПД привело к достаточно четкому разделению потенциалзависимости каналов входящего и выходящего ионных токов и к практически полному разрыву непосредственной связи с работой помпы. Формирование ПД стало осуществляться полностью по диффузионному механизму и энергетически экономно (очень незначительная разрядка электрохимических градиентов). Роль помпы приобретает характер не "непос-

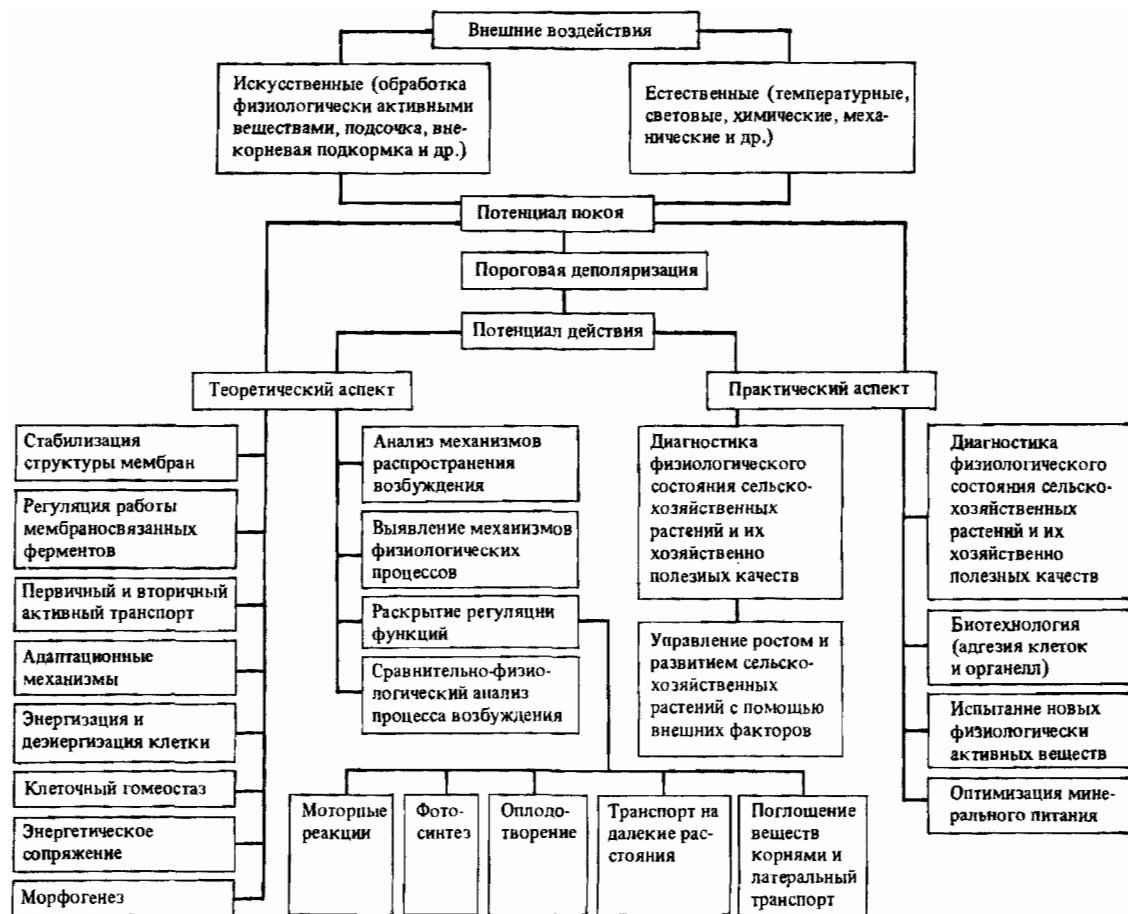


Рис. 51. Схема, иллюстрирующая значение изучения  $E_m$  и ПД у высших растений

редственного участника событий", а лишь средства восстановления в период покоя частично нарушенных ионных градиентов. В наиболее совершенном виде такой тип генерации ПД проявляется в нервах животных.

Итак, подводя общий итог, можно отметить, что наиболее отличительной особенностью биоэлектrogenеза высших растений является его весьма тесная связь с метаболизмом, а точнее, с работой электрогенной ионной помпы. Конечно, можно (и достаточно обоснованно) считать эту особенность как проявление определенного несовершенства электрогенных систем данных организмов. Вместе с тем если принять во внимание специфику функционирования высших растений, и прежде всего необходимость постоянно адаптироваться к весьма резким перепадам условий окружающей среды, и в то же время учесть, что: 1) изменение электрического состояния поверхностных мембран является наиболее ранней и существенной ответной реакцией растительных клеток на внешние воздействия и 2) метаболическая компонента биоэлектrogenеза наиболее лабильна и подвержена весьма тонкой регулировке с помощью ряда триггерных механизмов, то возникает мысль о большой целесообразности значительной связи биоэлектrogenеза у высших растений с метаболизмом.

В заключение приведем схему (рис. 51), которая иллюстрирует важность поставленной в данной работе проблемы и как нам кажется, в общей форме намечает перспективные пути ее дальнейшего изучения.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Абуталыбов М.Г., Али-заде В.М., Ганиев В.М. // Докл. АН СССР. 1982. Т. 256, №4. С. 1020—1022.
2. Абуталыбов М.Г., Мельников П.В., Ахундова Т.С. // Физиология растений. 1979. Т. 26, №3. С. 568—578.
3. Адыгезалов В.Ф., Гусейн-заде Ф.Р. // Изв. АН АЗССР. Сер. биол. наук. 1986. №3. С. 109—112.
4. Азимов Р.Р., Гелетюк В.И., Берестовский Г.Н. // Биофизика. 1987. Т. 32, №1. С. 79—84.
5. Александров А.А., Александрова Л.А., Берестовский Г.Н. // Одиночные ионные каналы в биологических мембранах: Всесоюз. симпоз.: Тез. докл. Пушино, 1989. С. 3.
6. Александров А.А., Берестовский Г.Н., Волкова С.П. и др. // Докл. АН СССР. 1976. Т. 227, №3. С. 723—726.
7. Александров В.Я. Реактивность клеток и белки. Л.: Наука, 1985. 318 с.
8. Алиев Д.А., Адыгезалов В.Ф., Магеррамов М.Г. // Докл. АН АЗССР. 1982. Т. 38, №9. С. 39—42.
9. Али-заде В.М., Ахундова Т.С., Алиева Ф.К. // Физиология растений. 1988. Т. 35, №4. С. 653—664.
10. Андреев И.М., Кореньков В.Д., Молотковский Ю.Г. // Биол. мембраны. 1989. Т. 6, №2. С. 153—158.
11. Анохин П.К. Узловые вопросы теории функциональной системы. М.: Наука, 1980. 197 с.
12. Антоненко Ю.М. // Биол. мембраны. 1989. Т. 6, №1. С. 85—89.
13. Антонов В.Ф. Липиды и ионная проницаемость мембран. М.: Наука, 1982. 151 с.
14. Антонов В.Ф., Смирнова Е.Ю., Шевченко Е.В. // Биофизика. 1989. Т. 34, №4. С. 584—588.
15. Ахмедов Н.И., Ахмедов И.С., Лялин О.О., Алиев Д.А. // Физиология растений. 1986. Т. 33, №6. С. 1045—1049.
16. Ахмедов Н.И., Лялин О.О. // Изв. АН АЗССР. Сер. биол. наук. 1987. №2. С. 128—132.
17. Бабаков А.В., Билуши С.В., Абрамычева Н.Ю., Муромцев Г.С. // Биол. мембраны. 1987. Т. 4, №3. С. 238—242.
18. Беликов П.С., Моторина М.В., Куркова Е.В. // Изв. Тимирязев. с.-х. акад. 1962. Вып. 1. С. 47—60.
19. Беликов П.С., Моторина М.В., Невская Р.И. // Там же. 1964. Вып. 6. С. 28—38.
20. Берестовский Г.Н., Александров А.А. // Биофизика. 1983. Т. 28, №5. С. 816—820.
21. Берестовский Г.Н., Востриков И.Я., Жерелова О.М., Луневский В.З. // Ионный транспорт в растениях: Тр. II Всесоюз. симпоз. Киев: Наук. думка, 1979. С. 8—10.
22. Берестовский Г.Н., Жерелова О.М., Катаев А.А. // Биофизика. 1987. Т. 32, №6. С. 1011—1027.
23. Берестовский Г.Н., Жерелова О.М., Луневский В.З. // Харовые водоросли и их использование в исследовании биологических процессов клетки. Вильнюс, 1973. С. 260—293.
24. Берестовский Г.Н., Либерман Е.А., Луневский В.З., Франк Г.М. // Биофизика. 1970. Т. 15, №1. С. 62—68.
25. Берестовский Г.Н., Луневский В.З., Ражин В.Д., Мусиенко В.С. // Докл. АН СССР. 1969. Т. 189, №1. С. 203—206.
26. Беррайярс Р., Синюхин А.М. // Там же. 1966. Т. 169, №1. С. 219—222.
27. Болдырев А.А. // Биол. науки. 1979. №3. С. 5—17.
28. Болдырев А.А. Биологические мембраны и транспорт ионов. М.: Изд-во МГУ, 1985. 208 с.

29. Бос Д.Ч. Избранные произведения по раздражимости растений. М.: Наука, 1964. Т. 1. 427 с.
30. Бос Д.Ч. Избранные произведения по раздражимости растений. М.: Наука, 1964. Т. 2. 395 с.
31. Браун Г., Уолкен Д. Жидкие кристаллы и биологические структуры. М.: Мир, 1982. 200 с.
32. Булычев А.А. //Ионный транспорт в растениях. Итоги науки и техники. Физиология растений. М.: ВИНТИ, 1980. Т. 4. С. 126—174.
33. Булычев А.А., Андрианов В.К., Курелла Г.А., Литвин Ф.Ф. //Физиология растений. 1971. Т. 18, №2. С. 248—256.
34. Булычев А.А., Курелла Г.А., Туровецкий В.Б. //Докл. АН СССР. 1983. Т. 271, №5. С. 1277—1280.
35. Вайнар Р. Движения у растений. М.: Знание, 1987. 174 с.
36. Вахмистров Д.Б., Воробьев Л.Н., Мельников П.В. //Докл. АН СССР 1974. Т. 215, №6. С. 1501—1504.
37. Вахмистров Д.Б., Куркова Е.Б., Злотникова И.Ф. //Физиология растений. 1981. Т. 28, №6. С. 1142—1150.
38. Владимиров Ю.А., Добрецов Г.Е. Флуоресцентные зонды в исследовании биологических мембран. М.: Наука, 1980. 320 с.
39. Волков Г.А., Платонова Л.В., Скобелева О.В. //Харовые водоросли и их использование в исследовании биологических процессов клетки. Вильнюс, 1973. С. 225—228.
40. Волков Г.А., Платонова Л.В., Скобелева О.В. //Докл. АН СССР. 1979. Т. 245, №4. С. 984—987.
41. Волкова С.П., Луневский В.З., Спиридонов Н.А. и др. //Биофизика. 1980. Т. 25, №3. С. 537—542.
42. Воробьев Л.Н. //Тр. МОИП. 1970. Т. 45. С. 30—38.
43. Воробьев Л.Н. //Приборы и методы для микроэлектродного исследования клеток. Пушино, 1975. С. 171—184.
44. Воробьев Л.Н. //Ионный транспорт в растениях. Итоги науки и техники. Физиология растений. М.: ВИНТИ, 1980. Т. 4. С. 5—77.
45. Воробьев Л.Н. Регулирование ионного транспорта: Теоретические и практические аспекты минерального питания растений. Итоги науки и техники. Физиология растений. М.: ВИНТИ, 1988. Т. 5, 179 с.
46. Воробьев Л.Н., Раденович Ч.Н., Хитров Ю.А., Яглова Л.Г. //Биофизика. 1967. Т. 12, №6. С. 1016—1021.
47. Воробьев Л.Н., Рогатых Н.П., Ясиновский В.Г. //Цитология. 1975. Т. 17, №7. С. 768—775.
48. Выхребенцева Э.И., Красавина М.С. //Механизмы поглощения веществ растительной клетки. Иркутск, 1971. С. 35—39.
49. Выхребенцева Э.И., Синюхин А.М. //Физиология растений. 1967. Т. 14, №5. С. 823—832.
50. Выхребенцева Э.И., Синюхин А.М., Красавина М.С. //Там же. 1970. Т. 17, №5. С. 1612—1619.
51. Гайворонская Л.М., Трофимова М.С., Молотковский Ю.Г. //Докл. АН СССР. 1987. Т. 292, №3. С. 759—762.
52. Галактионов С.Г., Юрин В.М., Иванченко В.М. Регуляция функций мембран растительных клеток. Минск: Наука и техника, 1979. 199 с.
53. Гамалей Ю.В. //Физиология растений. 1985. Т. 32, №1. С. 176—190.
54. Георгиевский А.Б., Петленко В.П., Сахно А.В., Царегородцев Г.И. Философские проблемы теории адаптации. М.: Мысль, 1975. 277 с.
55. Гизе А. Физиология клетки. М.: Изд-во иностр. лит., 1959. 455 с.
56. Гладышева Т.Б., Ходжаев Е.Ю., Черняк Б.В. //Биол. мембраны. 1989. Т. 6, №2. С. 159—166.
57. Голубев В.Н., Контуш А.С. //С.-х. биология. 1989. №3. С. 18—24.
58. Гордон Л.Х., Бичурина А.А. //Докл. АН СССР. 1971. Т. 197, №6. С. 1438—1440.
59. Горчаков В.В. //Докл. Тимирязев. с.-х. акад. 1961. Вып. 70. С. 101—105.
60. Горчаков В.В. //Физико-химические основы происхождения биопотенциалов. М.: Наука, 1964. С. 155—158.

61. Горчаков В.В. //Тр. Ун-та дружбы народов им. П. Лумумбы. 1968. Т. 35, №2. С. 127—138.
62. Горчаков В.В. //Вопросы тропического и субтропического сельского хозяйства. М., 1971. С. 14—22.
63. Гродзинский Д.М., Адыгезалов В.Ф. //Физиология и биохимия культ. растений. 1977. Т. 9, №1. С. 26—31.
64. Гунар И.И., Злотникова И.Ф., Паничкин Л.А. //Физиология растений. 1975. Т. 22, №4. С. 810—813.
65. Гунар И.И., Каменская К.И., Паничкин Л.А. //Изв. Тимирязев. с.-х. акад. 1977. Вып. 4. С. 10—13.
66. Гунар И.И., Каменская К.И., Паничкин Л.А., Соколова Н.П. //Там же. 1977. Вып. 2. С. 209—213.
67. Гунар И.И., Крастина Е.Е., Петров-Спиридонов А.В. //Там же. 1959. Вып. 1. С. 15—35.
68. Гунар И.И., Паничкин Л.А. //там же. 1967. Вып. 1. С. 15—31.
69. Гунар И.И., Паничкин Л.А. //Там же. 1969. Вып. 4. С. 3—13.
70. Гунар И.И., Паничкин Л.А. //Там же. 1970. Вып. 5. С. 3—9.
71. Гунар И.И., Паничкин Л.А. //Там же. 1975. Вып. 2. С. 3—6.
72. Гунар И.И., Синюхин А.М. //Там же. 1959. Вып. 4. С. 7—22.
73. Гунар И.И., Синюхин А.М. //Докл. АН СССР. 1962. Т. 142, №4. С. 954—956.
74. Гунар И.И., Синюхин А.М. //Физиология растений. 1963. Т. 10, №3. С. 256—274.
75. Гунар И.И., Синюхин А.М., Сална Л.Я., Царева Л.А. //Изв. Тимирязев. с.-х. акад. 1961. Вып. 2. С. 7—19.
76. Гунар И.И., Синюхин А.М., Царева Л.А. //Там же. 1967. Вып. 2. С. 19—28.
77. Гэлстон А., Девис П., Сэттер Р. Жизнь зеленого растения. М.: Мир, 1983. 552 с.
78. Дарвин Ч. Насекомоядные растения //Собр. соч. М; Л.: Изд-во АН СССР, 1948. Т. 7. С. 305—586.
79. Денеш М., Курелла Г.А. //Физиология растений. 1978. Т. 25, №2. С. 307—314.
80. Денеш М., Саксена Р. //Биофизика. 1985. Т. 30, №5. С. 828—832.
81. Дергунов А.Д., Капрельянц А.С., Островский Д.Н. //Успехи биол. химии. 1984. Т. 25. С. 89—109.
82. Духовный А.И. Электрофизиология опыления у высших растений (на примере кукурузы). Кишинев: Штиинца, 1973. 100 с.
83. Жерелова О.М. //Физиология растений. 1988. Т. 35, №4. С. 641—647.
84. Жерелова О.М., Грищенко В.М. //Внутриклеточная сигнализация. М., 1988. С. 71—76.
85. Жерелова О.М., Катаев А.А., Берестовский Г.Н. //Биофизика. 1987. Т. 32, №2. С. 248—350.
86. Заалишвили Г.В., Буадзе О.А., Белицер Н.В. //Цитология и генетика. 1986. Т. 20, №4. С. 243—246.
87. Зацепина Г.Н., Коломиец А.А. //Биофизика. 1988. Т. 33, №1. С. 155—157.
88. Зацепина Г.Н., Цаплев Ю.Б. //Там же. 1980. Т. 25, №1. С. 144—147.
89. Злотникова И.Ф., Гунар И.И., Паничкин Л.А. //Изв. Тимирязев. с.-х. акад. 1977. Вып. 2. С. 10—16.
90. Злотникова И.Ф., Гунар И.И., Паничкин Л.А. //Там же. 1977. Вып. 3. С. 10—14.
91. Ивков В.Г., Берестовский Г.Н. Динамическая структура липидного бислоя. М.: Наука, 1981. 293 с.
92. Ивков В.Г., Берестовский Г.Н. Липидный бислой биологических мембран. М.: Наука, 1982. 224 с.
93. Инге-Вечтомова Н.И., Верзилин Н.Н., Юсиков В.М. и др. //Биоэлектрогенез и транспорт веществ у растений. Горький: Горьк. ун-т, 1986. С. 69—75.
94. Иост Х. Физиология клетки. М.: Мир, 1975. 864 с.
95. Кагава Я. Биомембраны. М.: Высш. шк., 1985. 303 с.
96. Казарян Г.Т., Арцруни И.Г., Паносян Г.А. //Физиология растений. 1981. Т. 28, №6. С. 1174—1180.
97. Казарян Г.Т., Микаелян Л.Г., Хачатрян Г.Н. и др. //Докл. АН СССР. 1988. Т. 300, №4. С. 1021—1023.
98. Казарян Г.Т., Хачатрян Г.Н. //Физиология растений. 1986. Т. 33, №6. С. 1050—1055.
99. Казарян Г.Т., Хачатрян Г.Н. //Биол. журн. Армении. 1986. Т. 39, №6. С. 497—502.

100. Калинин В.А., Опритов В.А. //Биофизика. 1985. Т. 30, №1. С. 76—78.
101. Калинин В.А., Опритов В.А. //Физиология растений. 1989. Т. 36, №5. С. 901—909.
102. Калинин В.А., Опритов В.А., Ерофеева Н.Н. //Докл. АН СССР. 1972. Т. 206, №4. С. 1010—1013.
103. Калинин В.А., Опритов В.А., Худяков В.А. //Физиология растений. 1970. Т. 17, №2. С. 309—313.
104. Калинин В.А., Опритов В.А., Шагарова Н.С. //Передвижение веществ у растений в связи с метаболизмом и биофизическими процессами. Горький: Горьк. Ун-т, 1976. Вып. 7. С. 3—8.
105. Калинин В.А., Опритов В.А., Швец И.М. //Биофизика. 1982. Т. 27, №1. С. 58—61.
106. Калинин В.А., Опритов В.А., Швец И.М., Ищенко Г.А. //Докл. АН СССР. 1979. Т. 249, №4. С. 1022—1024.
107. Калинин В.А., Опритов В.А., Швец И.М. и др. //Там же. 1979. Т. 248, №6. С. 1510—1513.
108. Каменская К.И. //Изв. Тимирязев. с.-х. акад. 1982. Вып. 1. С. 11—15.
109. Карманов В.Г., Лялин О.О., Мамулашвили Г.Г. //Физиология растений. 1972. Т. 19, №2. С. 424—430.
110. Катаев А.А., Жерелова О.М., Берестовский Г.Н. //Биофизика. 1988. Т. 33, №6. С. 1006—1112.
111. Квасов Д.Г. //Учен. зап. ЛГУ. Сер. биол. 1949. Вып. 16, №99. С. 258—275.
112. Кларксон Д. Транспорт ионов и структура растительной клетки. М.: Мир, 1978. 368 с.
113. Клебанов Г.И., Таршис М.А. //Тр. 2-го Моск. мед. ин-та. Сер. биофиз. 1977. Т. 72, №1. С. 92—129.
114. Коган А.Б. Электрофизиология. М.: Высш. шк., 1969. 368 с.
115. Компанец А.С., Гурович В.Ц. //Биофизика. 1966. Т. 11, №5. С. 913—916.
116. Конев С.В. Структурная лабильность биологических мембран и регуляторные процессы. Минск: Наука и техника, 1987. 240 с.
117. Конев С.В., Аксенцев С.Л. //Биохимия. 1977. Т. 42, №2. С. 187—197.
118. Конев С.В., Аксенцев С.Л., Черницкий Е.А. Кооперативные переходы белков в клетке. Минск: Наука и техника, 1970. 202 с.
119. Конев С.В., Волоотовский И.Д. //Биомембраны: Структура, функции, методы исследования. Рига: Зинатне, 1977. С. 42—76.
120. Конев С.В., Калер Г.В. //Биофизика. 1988. Т. 33, №6. С. 1018—1022.
121. Конев С.В., Мажуль В.М. Межклеточные контакты. Минск: Наука и техника, 1977. 312 с.
122. Корзун А.М., Саляев Р.К. //Докл. АН СССР. 1984. Т. 277, №4. С. 1020—1024.
123. Корзун А.М., Саляев Р.К., Кузеванов В.Я. //Физиология растений. 1984. Т. 31, №2. С. 213—220.
124. Костюк П.Г. //Физиол. журн. СССР им. И.М. Сеченова. 1984. Т. 70, №8. С. 1080—1091.
125. Котик А. //Тр. XVI конф. ФЕБО. М., 1987. Т. 2. С. 207—109.
126. Коштыянец Х.С. Основы сравнительной физиологии. М.: Изд-во АН СССР, 1958. Т. 2. 636 с.
127. Крауз В.О. //Биохимия и биофизика транспорта веществ у растений. Горький: Горьк. ун-т, 1979. С. 62—68.
128. Ктиторова И.Н. //Науч.-тех. бюл. по агроном. физике. Л.: Агрофиз. НИИ ВАСХНИЛ, 1974. №21. С. 26—30.
129. Ктиторова И.Н., Лялин О.О., Хабарова А.Л. //Физиология растений. 1974. Т. 21, №6. С. 1194—1196.
130. Курелла Г.А. //Методы изучения мембран растительных клеток. Л.: Изд-во ЛГУ, 1986. С. 78—96.
131. Куркова Е.Б., Верховская М.Л. //Физиология растений. 1984. Т. 31, №3. С. 496—501.
132. Курсанов А.Л. Транспорт ассимилятов в растении. М.: Наука, 1976. 646 с.
133. Ладыженская Э.П., Кораблева Н.П. //Успехи соврем. биологии. 1985. Т. 99, №2. С. 226—241.
134. Ладыженская Э.П., Сухова Л.С., Кораблева Н.П. //Физиология и биохимия культ. растений. 1987. Т. 19, №6. С. 567—573.

135. Латманизова Л.В. Очерк физиологии возбуждения. М.: Высш. шк., 1972. 272 с.
136. Лев А.А. Ионная избирательность клеточных мембран. Л.: Наука, 1975. 323 с.
137. Леваковский Н. О движении раздражимых растений. Харьков, 1867.
138. Левин С.В. Структурные изменения клеточных мембран. Л.: Наука, 1976. 224 с.
139. Левин С.В., Розенталь Д.Л., Гольфан К.А., Комиссарчик Я.Ю. //Цитология. 1968. Т. 10, №3. С. 312—321.
140. Левин С.В., Розенталь Д.Л., Комиссарчик Я.Ю. //Биофизика. 1968. Т. 13, №1. С. 180—182.
141. Либерман Е.А. Живая клетка. М.: Наука, 1982. 160 с.
142. Литвинов А.И., Воробьев Л.Н., Вахмистров Д.Б. //Физиология растений. 1975. Т. 22, №3. С. 576—582.
143. Лоу-Чень-Хо //Журн. общ. биологии. 1958. Т. 19, №5. С. 329—337.
144. Луневский В.З., Жерелова О.М., Александров А.А. и др. //Биофизика. 1980. Т. 25, №4. С. 685—691.
145. Лялин О.О., Ахмедов И.С., Ктиторова И.Н. //Физиология растений. 1977. Т. 24, №1. С. 70—74.
146. Максимов А.П., Мумладзе Р.К. //Приборы и методы для микроэлектродного исследования клеток. Пушино, 1975. С. 103—115.
147. Максимов Г.Б. АТФ—зависимый мембранный транспорт катионов и роль цитохининов в его регуляции у растений: Дис. ... д-ра биол. наук в форме науч. докл. М., 1989. 47 с.
148. Максимов Г.В., Станкова И.С., Кольс О.Р. //Биофизика. 1981. Т. 26, №6. С. 1073—1076.
149. Малек-Мансур М., Никольс Г., Пригожин И. //Термодинамика и кинетика биологических процессов. М.: Наука, 1980. С. 59—83.
150. Мамулашвили Г.Г., Красавина М.С., Лялин О.О. //Физиология растений. 1972. Т. 19, №3. С. 551—557.
151. Мамулашвили Г.Г., Красавина М.С., Лялин О.О. //Там же. 1973. Т. 20, №3. С. 442—450.
152. Маркин В.С. //Биофизика. 1970. Т. 15, №1. С. 120—128.
153. Маркин В.С. //Там же. 1970. Т. 15, №4. С. 681—689.
154. Маркин В.С. //Там же. 1973. Т. 18, №2. С. 314—321.
155. Маркин В.С., Пастушенко В.Ф., Чизмаджев Ю.А. Теория возбудимых сред. М.: Наука, 1981. 276 с.
156. Маслоброд С. Н. Электрофизиологическая полярность растений. Кишинев: Штиинца, 1973. 172 с.
157. Мацуока Х. //Кагацу то сэйбуцу. 1987. Т. 25, №6. С. 377—378 (на яп. яз.).
158. Мелехов Е.И., Анев В.Н. //Докл. АН СССР. 1985. Т. 283, №1. С. 249—252.
159. Мелехов Е.И., Анев В.Н. //Физиология растений. 1986. Т. 33, №1. С. 142—149.
160. Мельников П.В., Воробьев Л.Н., Вахмистров Д.Б., Хитров Ю.А. //Там же. 1974. Т. 21, №1. С. 45—52.
161. Микаелян Л.Г., Казарян Г.Т. //Докл. АН СССР. 1982. Т. 265, №4. С. 1022—1024.
162. Мишустина Н.Е., Тихая Н.И., Чаплыгина Н.С. //Физиология растений. 1979. Т. 26, №3. С. 541—547.
163. Мокроносов А.Т., Бубенщикова Н.К. //Там же. 1961. Т. 8, №5. С. 560—568.
164. Молоток Г.П., Бритиков Е.А., Синюхин А.М. //Докл. АН СССР. 1968. Т. 181, №3. С. 750—753.
165. Муромцев Г.С., Вобликова В.Д., Кобрин Н.С. и др. //Физиология растений. 1987. Т. 34, №5. С. 980—987.
166. Мусаев Н.А., Воробьев Л.Н. //Там же. 1981. Т. 28, №1. С. 86—93.
167. Назаров Е.Г. //Там же. 1962. Т. 9, №5. С. 551—559.
168. Ниязова М.М., Бульчев А.А. //Биофизика. 1989. Т. 34, №2. С. 272—274.
169. Новак В.А., Иванкина Н.Г. //Физиология растений. 1975. Т. 22, №1. С. 49—54.
170. Новак В.А., Иванкина Н.Г. //Цитология. 1977. Т. 19, №5. С. 508—513.
171. Новак В.А., Иванкина Н.Г. //Докл. АН СССР. 1978. Т. 242, №5. С. 1229—1232.
172. Новак В.А., Иванкина Н.Г., Гладкова С.Е. //Биоэлектрические явления и мембранный транспорт у растений. Горький: Горьк. ун-т, 1985. С. 52—57.
173. Новак В.А., Якимов Ю.Е. //Докл. АН СССР. 1987. Т. 292, №2. С. 508—512.

174. **Опритов В.А.** Распространяющееся возбуждение и функциональная активность проводящих тканей растений: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. М., 1976. 36 с.
175. **Опритов В.А.** //Успехи соврем. биологии. 1977. Т. 83, №3. С. 442—458.
176. **Опритов В.А.** //Физиология растений. 1978. Т. 25, №5. С. 1042—1054.
177. **Опритов В.А., Абрамова Н.Н., Ретивин В.Г., Павлова О.М.** //Передвижение веществ у растений в связи с метаболизмом и биофизическими процессами. Горький: Горьк. ун-т, 1976. Вып. 7. С. 17—26.
178. **Опритов В.А., Калинин В.А.** //Физиология растений. 1970. Т. 17, №4. С. 769—774.
179. **Опритов В.А., Калинин В.А., Крауз В.О.** //Механизмы поглощения веществ растительной клеткой. Иркутск, 1971. С. 90—96.
180. **Опритов В.А., Калинин В.А., Ретивин В.Г.** Теоретические основы и методы изучения биофизических процессов у растений. Горький: Горьк. ун-т, 1979. 54 с.
181. **Опритов В.А., Крауз В.О.** //Докл. АН СССР. 1974. Т. 216, №6. С. 1419—1422.
182. **Опритов В.А., Крауз В.О., Треушников В.М.** //Физиология растений. 1972. Т. 19, №5. С. 961—967.
183. **Опритов В.А., Мичурин С.В.** //Там же. 1973. Т. 20, №3. С. 451—461.
184. **Опритов В.А., Орлова О.В., Калинин В.А.** //Там же. 1984. Т. 31, №4. С. 704—711.
185. **Опритов В.А., Пятюгин С.С.** //Ферменты, ионы и биоэлектrogenез у растений. Горький: Горьк. ун-т, 1984. С. 51—54.
186. **Опритов В.А., Пятюгин С.С.** //Биоэлектрические явления и мембранный транспорт у растений. Горький: Горьк. ун-т, 1985. С. 3—7.
187. **Опритов В.А., Пятюгин С.С.** //Изв. АН СССР. Сер. биол. 1989. №5. С. 739—744.
188. **Опритов В.А., Пятюгин С.С., Ретивин В.Г.** //Физиология растений. 1982. Т. 29, №2. С. 338—344.
189. **Опритов В.А., Пятюгин С.С., Ретивин В.Г.** //Докл. АН СССР. 1988. Т. 300, №2. С. 466—468.
190. **Опритов В.А., Пятюгин С.С., Худяков В.А.** //Биофизика. 1984. Т. 29, №3. С. 415—418.
191. **Опритов В.А., Ретивин В.Г.** //Биохимия и биофизика транспорта веществ у растений. Горький: Горьк. ун-т, 1981. С. 3—9.
192. **Опритов В.А., Ретивин В.Г.** //Физиология растений. 1982. Т. 29, №5. С. 915—924.
193. **Опритов В.А., Ретивин В.Г.** //Методы изучения мембран растительных клеток. Л.: Изд-во ЛГУ, 1986. С. 96—110.
194. **Опритов В.А., Ретивин В.Г., Мельникова О.Б., Федосеев В.В.** //Биоэлектrogenез и транспорт веществ у растений. Горький: Горьк. ун-т, 1986. С. 3—10.
195. **Опритов В.А., Ретивин В.Г., Пятюгин С.С.** //Электрофизиологические методы в изучении функционального состояния растений. М.: Тимирязев с.-х. акад., 1988. С. 14—22.
196. **Палладина Т.А.** //Успехи соврем. биологии. 1983. Т. 96, №3(6). С. 394—408.
197. **Пасечник В.И.** //Биофизика. 1982. Т. 27, №4. С. 726—727.
198. **Педченко В.К., Палладина Т.А.** //Докл. АН УССР. В. 1986. №4. С. 73—76.
199. **Петров И.Ю., Бецкий О.В.** //Докл. АН СССР. 1989. Т. 305, №2. С. 474—476.
200. **Полевой В.В.** Фитогормоны. Л.: Изд-во ЛГУ, 1982. 249 с.
201. **Полевой В.В.** //Методы изучения мембран растительных клеток. Л.: Изд-во ЛГУ, 1986. С. 72—78.
202. **Полевой В.В., Саламатова Т.С.** //Ионный транспорт в растениях. Итоги науки и техники. Физиология растений. М.: ВИНТИ, 1980. Т. 4. С. 78—125.
203. **Потоссин И.И., Берестовский Г.Н.** //Одинокные ионные каналы в биологических мембранах: Всесоюз. симпозиум. Тез. докл. Пущино, 1989. С. 78.
204. **Протасов В.Р., Сердюк О.А.** //Успехи соврем. биологии. 1982. Т. 93, №2. С. 270—286.
205. **Прохоров М.Н.** Электрические потенциалы совместно прорастающих семян некоторых растений: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Минск, 1970. 19 с.
206. **Пятюгин С.С.** //Ферменты, ионы и биоэлектrogenез у растений. Горький: Горьк. ун-т, 1982. С. 98—106.
207. **Пятюгин С.С.** Биоэлектrogenез клеток стебля тыквы при умеренном охлаждении: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Минск, 1986. 23 с.
208. **Пятюгин С.С., Гулякин А.Н.** //Биохимия и биофизика транспорта веществ у растений. Горький: Горьк. ун-т, 1981. С. 133—138.

209. Пятюгин С.С., Опритов В.А. //Докл. АН СССР. 1982. Т. 265, №6. С. 1510—1512.
210. Пятюгин С.С., Опритов В.А. //Биоэлектрогенез и транспорт веществ у растений. Горький: Горьк. ун-т, 1986. С. 22—28.
211. Пятюгин С.С., Опритов В.А. //Биофизика. 1987. Т. 32, №4. С. 656—659.
212. Пятюгин С.С., Опритов В.А. //Успехи соврем. биологии. 1987. Т. 104, №3(6). С. 426—442.
213. Пятюгин С.С., Опритов В.А. //Биоэлектрическая активность и мембранный транспорт у растений. Горький: Горьк. ун-т, 1988. С. 5—12.
214. Пятюгин С.С., Опритов В.А. //Мембранный транспорт и биологическая активность растений. Горький: Горьк. ун-т, 1990. С. 5—9.
215. Пятюгин С.С., Опритов В.А., Худяков В.А., Гнездилов А.В. //Физиология растений. 1989. Т. 36, №1. С. 118—125.
216. Пятюгин С.С., Соловьева Н.А. //Биоэлектрогенез и мембранный транспорт у растений. Горький: Горьк. ун-т, 1989. С. 37—42.
217. Ретивин В.Г. Ионный механизм генерации потенциала действия в проводящих тканях стебля высшего растения: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 1988. 23 с.
218. Ретивин В.Г., Викулов С.В. //Ферменты, ионы и биоэлектрогенез у растений. Горький: Горьк. ун-т, 1980. С. 118—121.
219. Ретивин В.Г., Опритов В.А. //Динамика биологических систем. Горький: Горьк. ун-т, 1978. С. 89—94.
220. Ретивин В.Г., Опритов В.А. //Теоретические и экспериментальные вопросы процессов переноса в сложных молекулярных и биологических системах: Всесоюз. совещ.: Тез. докл. Минск: Наука и техника, 1981. С. 49—50.
221. Ретивин В.Г., Опритов В.А. //Биоэлектрические явления и мембранный транспорт у растений. Горький: Горьк. ун-т, 1985. С. 34—39.
222. Ретивин В.Г., Опритов В.А. //Физиология растений. 1986. Т. 33, №3. С. 447—459.
223. Ретивин В.Г., Опритов В.А. //Там же. 1987. Т. 34, №1. С. 5—12.
224. Ретивин В.Г., Опритов В.А., Мельникова О.Б. //Ферменты, ионы и биоэлектрогенез у растений. Горький: Горьк. ун-т, 1984. С. 13—19.
225. Ретивин В.Г., Опритов В.А., Павлова О.М. //Транспорт веществ у растений в связи с метаболизмом и биофизическими процессами. Горький: Горьк. ун-т, 1977. Вып. 8. С. 11—18.
226. Ретивин В.Г., Пятюгин С.С., Опритов В.А. //Физиология растений. 1988. Т. 35, №3. С. 486—494.
227. Ретивин В.Г., Федосеев В.В. //Мембранный транспорт и биоэлектрогенез у растений. Горький: Горьк. ун-т, 1987. С. 55—63.
228. Рогатых Н.П., Ясиновский В.Г., Зубарев Т.Н. //Биофизика. 1976. Т. 21, №4. С. 656—660.
229. Романов Г.А. //Физиология растений. 1989. Т. 36, №1. С. 166—177.
230. Рощина В.В., Мухин Е.Н. //Успехи соврем. биологии. 1986. Т. 101, №2. С. 265—274.
231. Рубин А.Б. Биофизика. М.: Высш. шк., 1987. Кн. 2. 303 с.
232. Сабинин Д.А. Физиологические основы питания растений. М.: Изд-во АН СССР, 1955. 512 с.
233. Саламатова Т.С. Физиология растительной клетки. Л.: Изд-во ЛГУ, 1983. 232 с.
234. Саламатова Т.С., Стороженко Н.Ю., Полевой В.В. //Физиология растений. 1989. Т. 36, №5. С. 910—918.
235. Салеев Р.К., Каменкова Л.Д., Подолякина Л.А. //Информ. бюл. Сиб. ин-та физиологии и биохимии растений СО АН СССР. 1970. Вып. 6. С. 50—51.
236. Семенов А.Д. //Докл. АН СССР. 1968. Т. 183, №2. С. 476—478.
237. Семенов А.Д., Хведелидзе М.А., Семенов А.Д. //Там же. 1962. Т. 147, №3. С. 727—730.
238. Семенов А.Д., Хведелидзе М.А., Семенов А.Д. //Там же. 1963. Т. 151, №5. С. 1215—1218.
239. Синюхин А.М. //Изв. Тимирязев. с.-х. акад. 1964. Вып. 3. С. 59—70.
240. Синюхин А.М. //Природа. 1972. №11. С. 40—47.
241. Синюхин А.М. //Биофизика. 1973. Т. 18, №3. С. 477—482.
242. Синюхин А.М., Бритиков Е.А. //Физиология растений. 1967. Т. 14, №3. С. 463—475.
243. Синюхин А.М., Выхребенцева Э.И. //Там же. 1967. Т. 14, №4. С. 652—658.

244. Синюхин А.М., Горчаков В.В. //Докл. Тимирязев. с.-х. акад. 1963. Вып. 89. С. 275—282.
245. Синюхин А.М., Горчаков В.В. //Биофизика. 1966. Т. 11, №5. С. 840—846.
246. Синюхин А.М., Горчаков В.В. //Физиология растений. 1968. Т. 15, №3. С. 477—487.
247. Скулачев В.П. Энергетика биологических мембран. М.: Наука, 1989. 564 с.
248. Скульский И.А., Малов А.М., Глазунов В.В. //Докл. АН СССР. 1976. Т. 231, №4. С. 1014—1017.
249. Смирнов С.Н. Диалектика отражения и взаимодействия в эволюции материи. М.: Наука, 1974. 382 с.
250. Соколик А.И., Юрин В.М. //Физиология растений. 1981. Т. 28, №2. С. 294—301.
251. Соколова С.В., Красавина М.С., Бурмистрова Н.А. //Там же. 1982. Т. 29, №5. С. 846—854.
252. Стеханова Т.Н., Федоровская М.Д., Тихая Н.И., Вахмистров Д.Б. //Там же. 1989. Т. 36, №5. С. 926—932.
253. Тарханов К.А., Воробьев Л.Н., Козорезов В.П. //Там же. 1985. Т. 32, №2. С. 410—415.
254. Тасаки И. Нервное возбуждение. М.: Мир, 1971. 222 с.
255. Тимирязев К.А. Жизнь растения: Десять общедоступных лекций. М.: Изд-во АН СССР, 1962. 290 с.
256. Тимофеев А.А., Глебов Р.Н. //Бюл. эксперим. биологии и медицины. 1989. Т. 107, №1. С. 24—27.
257. Тихая Н.И., Максимов Г.Б., Мишустина Н.Е. и др. //Физиология растений. 1984. Т. 31, №2. С. 221—228.
258. Тихая Н.И., Тазабаева К.А., Вахмистров Д.Б. //Там же. 1985. Т. 32, №6. С. 1079—1089.
259. Треушников В.М., Телепнева Т.В., Семчиков Ю.Д. и др. //Докл. АН СССР. 1986. Т. 287, №3. С. 685—689.
260. Федулов Ю.П., Воробьев Л.Н. //Физиология растений. 1974. Т. 21, №4. С. 867—869.
261. Халилов Р.И., Ахмедов И.С. //Физиолого-генетические эффекты действия различных факторов на живые организмы. Баку: Азерб. ун-т, 1987. С. 71—81.
262. Ходоров Б.И. Общая физиология возбудимых мембран. М.: Наука, 1975. 406 с.
263. Худяков В.А., Абрамова О.В. //Биохимия и биофизика транспорта веществ у растений. Горький: Горьк. ун-т, 1979. С. 69—72.
264. Цаллев Ю.Б. Постоянное электрическое поле и распространяющиеся электрические сигналы у высших растений: Автореф. дис. ... канд. физ.-мат. наук. М., 1980. 20 с.
265. Цаллев Ю.Б., Зацепина Г.Н. //Биофизика. 1980. Т. 25, №4. С. 708—712.
266. Чантурия А.Н., Лишко В.К. //Докл. АН УССР. Б. 1988. №4. С. 79—82.
267. Чизмаджев Ю.А., Пастушенко В.Ф. Электрохимия нервного импульса. Итоги науки и техники. Биофизика мембран. М.: ВИНТИ, 1987. Т. 4. 88 с.
268. Чистяков И.Г., Усольцева В.А., Селезнев С.А. //Успехи соврем. биологии. 1976. Т. 82, №1. С. 89—102.
269. Шабала С.Н., Гэйнз А.В., Маслоброд С.Н. //Изв. АН МССР. Сер. биол. и хим. наук. 1987. №1. С. 61—63.
270. Шабала С.Н., Маслоброд С.Н., Жакотэ А.Г. //Докл. АН СССР. 1988. Т. 299, №3. С. 766—768.
271. Шахбазов В.Г., Шкорбатов Ю.Г., Шенхайт К. //Молекуляр. генетика и биофизика. Киев, 1988. №13. С. 40—45.
272. Швец И.М., Опритов В.А., Калинин В.А. //Докл. АН СССР. 1989. Т. 306, №1. С. 253—255.
273. Швец И.М., Орлова О.В., Молокеедова С.В. //Биоэлектрическая активность и мембранный транспорт у растений. Горький: Горьк. ун-т, 1988. С. 56—61.
274. Шеперд Г. Нейробиология. М.: Мнр, 1987. Т. 1. 454 с.
275. Шлиппенбах Н.Я. //Вестн. ЛГУ. Биология. 1980. №9. С. 79—84.
276. Штальберг Р., Полевая В.В. //Докл. АН СССР. 1979. Т. 247, №4. С. 1022—1024.
277. Юрин В.М., Гончарик М.Н., Галактионов С.Г. Перенос ионов через мембраны растительных клеток. Минск: Наука и техника, 1977. 166 с.
278. Юрин В.М., Кудряшов А.П., Соколик А.И. //Физиология растений. 1977. Т. 24, №5. С. 913—918.

279. Abe T. // Bot. Mag. Tokyo. 1980. Vol. 93, №1031. P. 247—251.
280. Abe T. // Ibid. 1981. Vol. 94, №1036. P. 379—383.
281. Abe T. // Ibid. 1985. Vol. 98, №1052. P. 439—447.
282. Abe T., Oda K. // Plant and Cell Physiol. 1976. Vol. 17, №6. 1343—1346.
283. Abe T., Oda K. // Sci. Rep. Fukushima Univ. 1982. Vol. 32. P. 43—48.
284. Abutalybov M., Melnikov P., Mardanov A. et al. // Biochem. und Physiol. Pflanz. 1980. Bd. 175, H. 6. S. 529—536.
285. Al-Awqati Q. // Annu. Rev. Cell Biol. 1986. Vol. 2. P. 179—199.
286. Alexandre J., Lassales J.-P., Thellier M. // Plant Physiol. 1986. Vol. 81, №4. P. 1147—1150.
287. Andjus P.R., Radenović C., Vucelić D. // Period. Biol. 1985. Vol. 87, №2. P. 187—190.
288. Andjus P.R., Srejić R., Vucelić D. // Structure, dynamics and function of biomolecules. B. etc.: Springer. 1987. P. 299—302.
289. Andrejauskas E., Hartel R., Marmé D. // J. Biol. Chem. 1985. Vol. 260, №5. P. 5411—5414.
290. Astumian d.R., Chock B.P., Tsong T.Y. // Biophys. J. 1987. Vol. 51, №2, pt 2. P. 244.
291. Auffret C.A., Hanke D.E. // Biochim. et biophys. acta. 1981. Vol. 648, №2. P. 186—191.
292. Bacic A., Delmer D.P. // Planta. 1981. Vol. 152, №4. P. 346—351.
293. Balotin N.M., Di Palma J.R. // Science. 1962. Vol. 138, №3547. P. 1338—1339.
294. Basso B., Ullrich-Eberius C.J. // Plant Physiol. 1987. Vol. 85, №3. P. 674—678.
295. Bates G.W., Goldsmith M.H.M. // Planta. 1983. Vol. 159, №3. P. 231—237.
296. Bates G.W., Goldsmith M.H.M., Goldsmith T.H. // J. Membrane Biol. 1982. Vol. 66, №1. P. 15—23.
296. Behrens H.M., Gradmann D., Sievers A. // Planta. 1985. Vol. 163, №4. P. 463—472.
297. Beilby M.J., Coster H.G.L. // Austral. J. Plant Physiol. 1976. Vol. 3. P. 275—289.
298. Beilby M.J., Coster H.G.L. // Ibid. 1976. Vol. 3. P. 819—826.
299. Beilby M.J., Coster H.G.L. // Ibid. 1979. Vol. 6. P. 355—365.
300. Beilby M.J., Coster H.G.L. // Ibid. 1980. Vol. 7. P. 595—608.
301. Beilby M.J., Coster H.G.L. // Plant Membrane Transp.: Curr. Concept. Issues: Proc. Intern. Workshop. Amsterdam etc., 1980. P. 613—614.
302. Bennet A.B. // Biochemistry and function of vacuolar adenosinetriphosphatase of fungi and plants. B. etc.: Springer, 1985. P. 175—183.
303. Bennet A.B., Spanswick R.M. // J. Membrane Biol. 1983. Vol. 71, №1/2. P. 95—107.
304. Bentrup F.-W. // Physiology of movements. B. etc.: Springer, 1979. P. 42—70.
305. Bentrup F.-W. // Progr. Bot. 1982. Vol. 44. P. 57—63.
306. Bentrup F.-W. // Naturwissenschaften. 1985. Bd. 72, H. 4. S. 169—179.
307. Benz R., Büchner K.-H., Zimmerman U. // Planta. 1988. Vol. 174. P. 479—487.
308. Bertl A., Gradmann D. // J. Membrane Biol. 1987. Vol. 99, №1. P. 41—49.
309. Bhaumik D., Dutta-Roy B., Chaki T.K., Lahiri A. // Bull. Math. Biol. 1983. Vol. 45, №1. P. 91—101.
310. Black C., Xu D.-P., Sung S.S. // Plant Physiol. Suppl. 1987. Vol. 83, №4. P. 1.
311. Blatt F.J. // Biochim. et biophys. acta. 1974. Vol. 339, №3. P. 382—389.
312. Blatt M.R. // Planta. 1987. Vol. 170, №2. P. 272—287.
313. Blatt M.R. // Ibid. 1988. Vol. 174, №2. P. 187—200.
314. Blum W., Key G., Weiler E.W. // Physiol. plant. 1988. Vol. 72, №2. P. 279—287.
315. Boldyrev A., Ruuge E., Smirnova I., Tabak M. // FEBS Lett. 1977. Vol. 80, №2. P. 303—307.
316. Bong-Heyg Cho, Komor E. // Plant Sci. Lett. 1980. Vol. 17. P. 425—435.
317. Bowling D.J.F. // Biochim. et biophys. acta. 1969. Vol. 183, №1. P. 230—232.
318. Braun Y., Hassidim M., Larner H.R., Reinhold L. // Plant Physiol. 1988. Vol. 87, №1. P. 104—108.
319. Bravo F.P., Uribe E.G. // Ibid. 1981. Vol. 67, №4. P. 809—814.
320. Bremberger C., Haschke H.P., Lüttge U. // Planta. 1988. Vol. 175, №4. P. 465—470.
321. Brightman A.O., Barr R., Crane F.L., Morre D.J. // Plant Physiol. 1988. Vol. 86, №4. P. 1264—1269.
322. Briskin D.P., Leonard R.T. // Ibid. 1979. Vol. 64, №6. P. 959—962.
323. Briskin D.P., Thornley W.R., Wyse R.E. // Ibid. 1985. Vol. 78, №4. P. 865—870.
324. Briskin D.P., Thornley W.R., Wyse R.E. // Ibid. 1985. Vol. 78, №4. P. 871—875.
325. Brummer B., Bertl A., Potrykus I. et al. // FEBS Lett. 1985. Vol. 189, №2. P. 109—114.
326. Brummer B., Parish R.W. // Ibid. 1983. Vol. 161, №1. P. 9—13.

337. Bulychhev A.A., Andrianov V.K., Kurella G.A., Litvin F.F. // *Nature*. 1972. Vol. 236. P. 175—177.
338. Bünning E. *Entwicklungs- und Bewegungsphysiologie der Pflanzen*. B. etc.: Springer, 1953. 270 S.
339. Burdon-Sanderson J. // *Proc. Roy. Soc.* 1873. Vol. 21. P. 495—496.
340. Burdon-Sanderson J. // *Philos. Trans. Roy. Soc.* 1888. Vol. 179. P. 417—449.
341. Caffrey M., Lew R.R. // *Plant and Cell Physiol.* 1986. Vol. 27, №6. 1091—1100.
342. Caldwell C.R., Whitman C.E. // *Plant Physiol.* 1987. Vol. 84, №3. P. 918—923.
343. Chanson A., Fichmann J., Spear D., Taiz L. // *Ibid.* 1985. Vol. 79, №1. P. 159—164.
344. Chanson A., Pilet P.R. // *Ibid.* 1988. Vol. 74, №4. P. 643—650.
345. Chapman J.B. // *J. Theor. Biol.* 1982. Vol. 95, №4. P. 665—678.
346. Chedhomme F., Rona J.P. // *J. Plant Physiol.* 1988. Vol. 133, №1. P. 89—95.
347. Cheeseman J.M., Hanson J.B. // *Plant Physiol.* 1979. Vol. 63, №1. P. 1—4.
348. Cheeseman J.M., LaFayette P.R., Gronewald J.W., Hanson J.B. // *Ibid.* 1980. Vol. 65, №6 P. 1139—1145.
349. Cheeseman J.M., Pickard B.G. // *Canad. J. Bot.* 1977. Vol. 55, №5. P. 497—510.
350. Cheeseman J.M., Pickard B.G. // *Ibid.* 1977. Vol. 55, №5. P. 511—519.
351. Churchill K.A., Sze H. // *Plant Physiol.* 1983. Vol. 71, №3. P. 610—617.
352. Clarkson D.T., Hanson J.B. // *Annu. Rev. Plant Physiol.* 1980. Vol. 31. P. 239—298.
353. Cleland R.E., Prins H.B.A., Harper J.R., Higinbotham N. // *Plant Physiol.* 1977. Vol. 59. P. 395—397.
354. Cocucci M., Ballarin-Denti A., Marré M.T. // *Plant Sci. Lett.* 1980. Vol. 17, №4. P. 391—400.
355. Cocucci M.C., Marré E. // *Biochim. et biophys. acta.* 1984. Vol. 771, №1. P. 42—52.
356. Cocucci M.C., Marré E. // *Plant, Cell and Environ.* 1986. Vol. 9, №8. P. 677—679.
357. Cohen L.B., Keynes R.D., Hille B. // *Nature*. 1968. Vol. 218, №5140. P. 438—441.
358. Cole K.S., Curtis H.J. // *J. Gen. Physiol.* 1938. Vol. 22, №1. P. 37—64.
359. Cramer G.R., Läuchli A. // *J. Exp. Bot.* 1986. Vol. 37, №176. P. 321—330.
360. Cramer G.R., Läuchli A., Polito V.S. // *Plant Physiol.* 1985. Vol. 79, №1. P. 207—211.
361. Dahse I., Linsel G., Müller E. et al. // *Biochem. und Physiol. Pflanz.* 1987. Bd. 182, H. 2. S. 117—128.
362. Dahse I., Müller E., Libermann B., Eichhorn M. // *Ibid.* 1988. Bd. 183, H. 1. S. 59—66.
363. Davies E. // *The biochemistry of plants*. N.Y.: Acad. press, 1987. Vol. 12. P. 243—264.
364. Chedhomme F., Rona J.P. // *J. Plant Physiol.* 1988. Vol. 133, №1. P. 89—95.
365. De Boer A.H., Katou K., Mizuno A. et al. // *Ibid.* 1985. Vol. 8, №8. P. 579—586.
366. Delrot S. // *Plant Physiol.* 1981. Vol. 68, №3. P. 706—711.
367. De Weer P., Gadsby D.C., Rakowski R.F. // *Annu. Rev. Physiol.* 1988. Vol. 50. P. 225—241.
368. De Weer P., Geduldig D. // *Science*. 1973. Vol. 179, №4080. P. 1326—1328.
369. Dieter P. // *Plant, Cell and Environ.* 1984. Vol. 7, №6. P. 371—380.
370. Di Palma J.R., Mohl R., Best W.J. // *Science*. 1961. Vol. 133, №3456. P. 878—879.
371. Dunlop J. // *J. Exp. Bot.* 1982. Vol. 33, №136. P. 910—918.
372. Dutt B.R., Guhathakurta A. // *Trans. Bose Res. Inst. Calcutta*. 1962. Vol. 25. P. 181—198.
373. Edwards A., Bowling D.J.F. // *J. Exp. Bot.* 1984. Vol. 35, №153. P. 562—567.
374. Elzenga J.T.M., Prins H.B.A. // *Plant Physiol.* 1987. Vol. 85, №1. P. 239—242.
375. Ephritikhine G., Barbier-Brygoo H., Muller J., Guern J. // *Ibid.* 1987. Vol. 83, №4. P. 801—804.
376. Ersek T., Novacky A., Pueppke S.G. // *Ibid.* 1986. Vol. 82, N 4. P. 1115—1118.
377. Esch H., Miltenburger H., Hug O. // *Biophysik*. 1964. Bd. 1. H. 4. P. 380—388.
378. Eschrich W., Evert R.F., Heyser V. // *Planta*. 1971. Vol. 100, N 3. P. 208—221.
379. Etherton B., Higinbotham N. // *Science*. 1960. Vol. 131. P. 409—410.
380. Etherton B., Keifer D.W., Spanswick R.M. // *Plant Physiol.* 1977. Vol. 60, N 5. P. 684—688.
381. Felle H. // *Biochim. et biophys. acta.* 1981. Vol. 646, N 1. P. 151—160.
382. Felle H. // *Planta*. 1981. Vol. 152, N 6. P. 505—512.
383. Felle H. // *J. Exp. Bot.* 1987. Vol. 38, N 187. P. 340—354.
384. Felle H. // *Plant Sci.* 1989. Vol. 61, N 1. P. 9—15.
385. Felle H., Beril A. // *Coll. Pflanzenphysiol.* 1985. Bd. 9. S. 101—102.
386. Felle H., Beril A. // *Biochim. et biophys. acta.* 1986. Vol. 848. P. 176—182.

387. Fensom D.C. // *Canad. J. Bot.* 1972. Vol. 50, N 3. P. 479—497.
388. Findlay G.P. // *Austral. J. Biol. Sci.* 1962. Vol. 15, N 1. P. 69—82.
389. Findlay G.P., Hope A.B. // *Encyclopedia of plant physiology*. N.S.B. etc.: Springer, 1976. Vol. 2A. P. 53—92.
390. Fisahn J., Hansen U.-P. // *J. Exp. Bot.* 1986. Vol. 37, N 177. P. 440—460.
391. Fondeville J.-C. // *C.r. 93<sup>e</sup> Congr. nat. Soc. savantes. Sec. sci. P.*, 1972. Vol. 3. P. 381—397.
392. Fork D.C., van Ginkel G., Harvey G. // *Plant and Cell Physiol.* 1981. Vol. 22, N 6. P. 1035—1042.
393. Francoise B. // *J. Plant Physiol.* 1985. Vol. 121, N 5. P. 441—451.
394. Freudling C., Gradmann D. // *Biochim. et biophys. acta.* 1979. Vol. 552, N 2. P. 358—365.
395. Gabathuler R., Cleland R.E. // *Plant Physiol.* 1985. Vol. 79, N 4. P. 1080—1085.
396. Gaffey C.T., Mullins L.J. // *J. Physiol.* 1958. Vol. 144, N 3. P. 505—524.
397. Garbarino J., duPont F. // *Plant Physiol.* 1988. Vol. 86, N 1. P. 231—236.
398. Gavaudan P., Roblin G. // *C.r. Soc. biol.* 1971. Vol. 165, N 1. P. 162—166.
399. Gianini J.L., Briskin D.P. // *Plant Physiol.* 1987. Vol. 84, N 3. P. 613—618.
400. Gibrat R., Barbier-Brygoo B., Guern J., Grignon C. // *Biochemistry and function of vacuolar adenosine-triphosphatase of fungi and plants*. B. etc.: Springer, 1985. P. 83—97.
401. Gilbert D.L., Ehrenstein G. // *Biophys. J.* 1969. Vol. 9. P. 447—463.
402. Goldfarb V., Sanders D., Gradmann D. // *J. Exp. Bot.* 1984. Vol. 35, N 154. P. 645—658.
403. Goldshlegger R., Karlsh S.J.D., Rephaeli A., Stein W.D. // *J. Physiol.* 1987. Vol. 387. P. 331—355.
404. Goldsmith M.H.M., Cleland R.E. // *Planta.* 1978. Vol. 143, N 3. P. 261—265.
405. Goldsmith T.H., Goldsmith M.H.M. // *Ibid.* 1978. Vol. 143, N 3. P. 267—274.
406. Goldworthy A. // *New Sci.* 1984. Vol. 102, N 1407. P. 14—15.
407. Göring H., Polevoy V.V., Stahlberg R., Stumpe G. // *Plant and Cell Physiol.* 1979. Vol. 20, N 3. P. 649—656.
408. Gradmann D. // *J. Membrane Biol.* 1976. Vol. 29, N 1. P. 23—45.
409. Gradmann D., Munnert H. // *Plant Membrane Transp.: Curr. Concept. Issues: Proc. Intern. Workshop. Amsterdam etc.*, 1980. P. 218—232.
410. Griffith C.J., Rea P.A., Blumwald E., Poole R.J. // *Plant Physiol.* 1986. Vol. 81, N 1. P. 120—125.
411. Grisham C.M., Barnett R.E. // *Biochemistry.* 1973. Vol. 12, N 14. P. 2635—2637.
412. Gyenes M., Dahse I., Müller E. // *Biochem. und Physiol. Pflanz.* 1986. Bd. 181. S. 551—557.
413. Gyenes M., Saxena R. // *J. Exp. Bot.* 1985. Vol. 36. P. 382—393.
414. Hall M., Baker D.A. // *Planta.* 1972. Vol. 106, N 2. P. 131—140.
415. Hansen U.-P., Kolbowski J., Dau H. // *J. Exp. Bot.* 1987. Vol. 38, N 197. P. 1965—1981.
416. Harris W.E. // *Biochemistry.* 1985. Vol. 24, N 12. P. 2873—2883.
417. Hassidim M., Rubinstein B., Lerner H.R., Reinhold L. // *Plant Physiol.* 1987. Vol. 85, N 4. P. 872—875.
418. Hedrich R., Barbier-Brygoo H., Felle H. et al. // *Bot. acta.* 1988. Vol. 101. P. 7—13.
419. Hedrich R., Neher E. // *Nature.* 1987. Vol. 329. P. 834—836.
420. Hedrich R., Schroeder J.I. // *Annu. Rev. Plant Physiol.* 1989. Vol. 40. P. 539—569.
421. Hedrich R., Schroeder J.I., Fernandez J.M. // *Trends Biochem. Sci.* 1987. Vol. 12, N 2. P. 49—52.
422. Hejnowicz L. // *Protoplasma.* 1970. Vol. 71, N 4. P. 343—364.
423. Helper P.K., Wayne R. // *Annu. Rev. Plant Physiol.* 1985. Vol. 36. P. 397—439.
424. Herbert D.A. // *Philipp. Agr.* 1922. Vol. 11, N 1. P. 141—158.
425. Higinbotham N., Etherton B., Foster R.J. // *Plant Physiol.* 1964. Vol. 39, N 2. P. 196—203.
426. Higinbotham N., Etherton B., Foster R.J. // *Ibid.* 1967. Vol. 42. P. 37—46.
427. Higinbotham N., Graves J.S., Davis R.F. // *J. Membrane Biol.* 1970. Vol. 3, N 3. P. 210—222.
428. Hodgkin A.L., Katz B. // *J. Physiol.* 1949. Vol. 109, N 1/2. P. 240—249.
429. Hodick D., Sievers A. // *Planta.* 1988. Vol. 174, N 1. P. 8—18.
430. Hodick D., Sievers A. // *Ibid.* 1989. Vol. 179, N 1. P. 32—42.
431. Hogg J., Williams E.J., Johnston R.J. // *Biochim et biophys. acta.* 1968. Vol. 150, N 4. P. 640—648.

432. *Homble F.* // J. Exp. Bot. 1985. Vol. 36, N 171. P. 1603—1611.
433. *Hombelé F., Ferrier J.M., Dainty J.* // Plant Physiol. 1987. Vol. 83, N 1. P. 53—57.
434. *Hope A.B.* // Austral. J. Biol. Sci. 1961. Vol. 14, N 2. P. 312—321.
435. *Hope A.B., Aschberger P.A.* // Ibid. 1970. Vol. 23, N 5. P. 1047—1060.
436. *Houwink A.L.* // Rec. trav. bot. neer. 1935. Vol. 32, N 1. P. 51—91.
437. *Houwink A.L.* // Ann. Jard. Bot. Buitenzorg. 1938. Vol. 48. P. 10—16.
438. *Hug O., Miltenburger H., Esch H.* // Biophysik. 1964. Bd. 1, H. 4. S. 374—379.
439. *Iijima T., Hagiwara S.* // J. Membrane Biol. 1987. Vol. 100, N 1. P. 73—81.
440. *Iijima T., Sibaoka T.* // Plant and Cell Physiol. 1981. Vol. 22, N 8. P. 1595—1601.
441. *Iijima T., Sibaoka T.* // Ibid. 1982. Vol. 23, N 4. P. 679—688.
442. *Iijima T., Sibaoka T.* // Ibid. 1983. Vol. 24, N 1. P. 51—60.
443. *Iijima T., Sibaoka T.* // Ibid. 1985. Vol. 26, N 1. P. 1—13
444. *Ikoma S., Okamoto H.* // Ibid. 1988. Vol. 29, N 2. P. 261—267.
445. *Inesi G., Millman M., Eletr S.* // J. Mol. Biol. 1973. Vol. 81, N 4. P. 483—504.
446. *Ivankina N.G., Novak V.A.* // Stud. Biophys. 1981. Vol. 83, N 3. P. 197—206.
447. *Ivankina N.G., Novak V.A.* // Physiol. plant. 1988. Vol. 73, N 1. P. 161—164.
448. *Izawa K., Tasaki I.* // J. Theor. Biol. 1982. Vol. 99, N 1. P. 87—99.
449. *Jacobson S.L.* // J. Gen. Physiol. 1965. Vol. 49, N 1. P. 117—129.
450. *Jaffe M.J.* // Science. 1968. Vol. 162, N 3857. P. 1016—1017.
451. *Johannes E., Fellé H.* // Planta. 1985. Vol. 166, N 2. P. 244—251.
452. *John P., Miller A.J.* // J. Plant Physiol. 1986. Vol. 122, N 1. P. 1—16.
453. *Johnstone R.M., Laris P.C., Eddy A.A.* // J. Cell. Physiol. 1982. Vol. 112, N 2. P. 298—301.
454. *Jones C., Wilson J.M.* // J. Exp. Bot. 1982. Vol. 33, N 133. P. 313—320.
455. *Jones-Held S., Davis R.F.* // VIII Intern. Workshop on Plant Membrane Transp.: Abstracts. Venezia, 1989. N 59a.
456. *Kaestner K.H., Sze H.* // Plant Physiol. 1987. Vol. 83, N 3. P. 483—489.
457. *Kalinin V.A., Opritov V.A., Shvets I.M.* // VI Congr. of the FESPP: Abstracts. Split. 1988. N 510.
458. *Karcz W., Stolarek J.* // Physiol. plant. 1988. Vol. 74, N 4. P. 770—774.
459. *Karlson L.* // Plant Physiol. 1972. Vol. 49, N 6. P. 982—986.
460. *Kasamo K.* // Plant and Cell Physiol. 1987. Vol. 28, N 1. P. 19—28.
461. *Kataev A.A., Zherelova O.M., Berestovsky G.N.* // Gen. Physiol. and Biophys. 1984. Vol. 3. P. 447—462.
462. *Katou K.* // Plant and Cell Physiol. 1978. Vol. 19. P. 523—535.
463. *Katou K., Ichino K.* // Planta. 1982. Vol. 155. P. 486—492.
464. *Katou K., Okamoto H.* // Plant and Cell Physiol. 1970. Vol. 11. P. 385—402.
465. *Keynes R.D., Lewis F.R.* // J. Physiol. 1951. Vol. 114, N 1/2. P. 151—182.
466. *Kikuyama M., Tazawa M.* // J. Membrane Biol. 1976. Vol. 29. P. 95—110.
467. *Kinraide T.B., Etherton B.* // Plant Physiol. 1980. Vol. 65, N 6. P. 1085—1089.
468. *Kinraide T.B., Etherton B.* // Ibid. 1982. Vol. 69, N 3. P. 648—652.
469. *Kishimoto U.* // Adv. Biophys. 1972. Vol. 3. P. 199—226.
470. *Kishimoto U., Kami-ike N., Takeuchi Y., Ohkawa T.* // J. Membrane Biol. 1984. Vol. 80, N 2. P. 175—183.
471. *Kishimoto U., Takeuchi Y., Ohkawa T., Kami-ike N.* // Ibid. 1985. Vol. 86, N 1. P. 27—36.
472. *Koike H., Brown H.M., Hagiwara S.* // J. Gen. Physiol. 1971. Vol. 57, N 6. P. 723—737.
473. *Kojima H., Katou K., Okamoto H.* // Plant and Cell Physiol. 1985. Vol. 26, N 2. P. 351—359.
474. *Komor E., Thom M.* // Biochemistry and function of vacuolar adenosine-triphosphatase of fungi and plants. B. etc.: Springer, 1985. P. 238—244.
475. *Komor E., Weber H., Tanner W.* // Plant Physiol. 1978. Vol. 61, N 5. P. 785—786.
476. *Komoszynski M., Maslowski P., Maslowska H.* // Biochem. und Physiol. Pflanz. 1985. Bd. 180, H. 6. S. 431—441.
477. *Koopowitz H., Dhyse R., Fosket D.E.* // J. Exp. Bot. 1975. Vol. 26, N 90. P. 131—137.
478. *Kunkel A.J.* // Pflügers Arch. ges. Physiol. 1881. Bd. 25. S. 342—379.
479. *Lado P., Bonetti A., Cerano R. et al.* // Plasmalemma and tonoplast: Their functions in the plant cell. Amsterdam etc.: Elsevier, 1982. P. 87—93.
480. *Lai J.F., Thompson J.E.* // Biochim. et phys. acta. 1971. Vol. 233, N 1. P. 84—90.

481. *Lapicque L.* La chronaxie et ses applications physiologiques. Actualites scientifiques et industrielles. P.: Hermann, 1938. 117 p.
482. *Lass B., Thiel G., Ullrich-Eberius C.J.* // *Planta*. 1986. Vol. 169, N 2. P. 251—259.
483. *Lazo P.S., Barros F., Pea P., Ramos S.* // *Trends Biochem. Sci.* 1981. Vol. 6, N 3. P. 83—86.
484. *Lemoine R., Delrot S.* // VIII Intern. Workshop on Plant Membrane Transp.: Abstracts. Venezia, 1989. N 8a.
485. *Lenzi P.* // *Arch. Sci. Biol.* 1978. Vol. 62, N 1/4. P. 173—176.
486. *Lew R.R.* // *Plant Physiol.* 1989. Vol. 91, N 1. P. 213—216.
487. *Lew R.R., Bushnow N., Spanswick R.M.* // *Biochim. et biophys. acta*. 1985. Vol. 821, N 2. P. 341—347.
488. *Lew R.R., Spanswick R.M.* // *Plant Physiol.* 1984. Vol. 75, N 1. P. 1—6.
489. *Lichtner F., Spanswick R.M.* // *Ibid.* 1981. Vol. 67, N 4. P. 869—874.
490. *Lin W.* // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 1982. Vol. 79. P. 3773—3776.
491. *Lin W.* // *Plant Physiol.* 1985. Vol. 78, N 1. P. 41—45.
492. *Liu Q., Okamoto H.* // *Plant and Cell Physiol.* 1988. Vol. 29, N 4. P. 597—603.
493. *Lloyd F.E.* The carnivorous plants. N.Y.: Ronald, 1942. 216 p.
494. *Lowe A.G., Jones M.N.* // *Trends Biochem. Sci.* 1984. Vol. 9, N 1. P. 11—12.
495. *Lunovsky V.Z., Zherelova O.M., Vostrikov I.Y., Berestovsky G.N.* // *J. Membrane Biol.* 1983. Vol. 72, N 1. P. 43—58.
496. *Luster D.G., Buckhout T.J.* // *Physiol. plant.* 1988. Vol. 73, N 3. P. 339—347.
497. *Macklon A.E.S.* // *Plant, Cell and Environ.* 1984. Vol. 7, N 6. P. 407—413.
498. *Macri F., Vianello A.* // *FEBS Lett.* 1987. Vol. 215, N 1. P. 47—52.
499. *MacRobbie E.A.C.* // *Biol. Rev.* 1977. Vol. 46, N 4. P. 429—481.
500. *MacRobbie E.A.C.* // *Nature*. 1985. Vol. 313, N 6003. P. 529.
501. *Manolson M.F., Rea P.A., Poole R.J.* // *J. Biol. Chem.* 1985. Vol. 260, N 22. P. 12273—12279.
502. *Marin R.* // *Planta*. 1983. Vol. 157, N 4. P. 324—330.
503. *Marin B., Gidrol X., Chrestin H., D'Auzac J.* // *Biochimie*. 1986. Vol. 68, N 12. P. 1263—1277.
504. *Marmé D.* // *Physiol. végét.* 1985. Vol. 23, N 6. P. 945—953.
505. *Marmor M.F., Gorman A.L.F.* // *Science*. 1970. Vol. 167, N 3914. P. 65—67.
506. *Marré E.* // *Annu. Rev. Plant Physiol.* 1979. Vol. 30. P. 273—288.
507. *Marré E., Ballarin-Denti A.* // *J. Bioenerg. and Biomembrane*. 1985. Vol. 17, N 1. P. 1—21.
508. *Marmé E., Lado P., Ferroni A., Ballarin-Denti A.* // *Plant Sci. Lett.* 1974. Vol. 2. P. 257—265.
509. *Marré M.T., Moroni A., Albergoni F.G., Marré E.* // *Plant Physiol.* 1988. Vol. 87, N 1. P. 25—29.
510. *Marschner H.* Mineral nutrition of higher plants. L.etc.: Acad. press, 1986. 674 p.
511. *Marty-Fleurence F.S., Bourdil I., Rossignol M., Blein J.-P.* // *Plant Sci.* 1988. Vol. 54, N 3. P. 177—184.
512. *Maslowski P., Maslowska H.* // *Biochem. und Physiol. Pflanz.* 1987. Bd. 182, H 1. S. 73—84.
513. *McMurchie E.J.* // Low temperature stress in crop plants: The role of the membrane. N.Y.: Acad. press, 1979. P. 163—176.
514. *Melamed-Harel H., Reinhold L.* // *Plant Physiol.* 1979. Vol. 63, N 6. P. 1089—1094.
515. *Mertz S.M., Arntzen C.J.* // *Ibid.* 1978. Vol. 62, N 5. P. 781—783.
516. *Mills D., Hodges T.K.* // *Ibid.* 1988. Vol. 132, N 5. P. 513—519.
517. *Minorsky P.V., Spanswick R.M.* // *Plant, Cell and Environ.* 1989. Vol. 12, N 2. P. 137—144.
518. *Mironova G.D., Bocharnikova N.J., Mirsalikhova N.M., Mironov G.P.* // *Biochim. et biophys. acta*. 1986. Vol. 861, N 2. P. 224—236.
519. *Mishra U., Spanner D.C.* // *Planta*. 1970. Vol. 90, N 1. P. 43—56.
520. *Mizuno A., Kojima H., Katou K., Okamoto H.* // *Plant, Cell and Environ.* 1985. Vol. 8, N 7. P. 525—529.
521. *Montemartini G.* // *Atti. Ist. bot. Univ. Pavia*. 1907. Vol. 13. P. 177—193.
522. *Moran N., Ehrenstein G., Iwasa K. et al* // *Plant Physiol.* 1988. Vol. 88, N 3. P. 643—648.
523. *Moran N., Satter R.* // VIII Intern Workshop on Plant Membrane Transp.: Abstracts. Venezia, 1989. N 31a.

524. Moreland D.E., Novitzky W.P. // Pestic. Biochem. and Physiol. 1988. Vol. 31, N 3. P. 247—260.
525. Morse M.J., Spanswick R.M. // Biochim. et biophys. acta. 1985. Vol. 818, N 10. P. 386—390.
526. Munnert H., Gradmann D. // Plant Membrane Transp.: Curr. Concept. Issues: Proc. Intern. Workshop. Amsterdam etc., 1980. P. 439—440.
527. Munk H. // Arch. Anat. und Physiol. 1876. Bd. 30. S. 30—122.
528. Murata N., Yamaya J. // Plant Physiol. 1984. Vol. 74, N 4. P. 1016—1024.
529. Nachmansohn D. // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1968. Vol. 61, N 3. P. 1034—1041.
530. Nachmansohn D. // Mol. Mech. Biol. Recogn. Amsterdam; N.Y., 1979. P. 313—340.
531. Nelles A. // Biochem. und Physiol. Pflanz. 1977. Bd. 171, H. 2. S. 147—149.
532. Nelles A. // Ibid. 1983. Bd. 178, H. 1. S. 1—9.
533. Nelles A. // Ibid. 1985. Bd. 180, H. 6. S. 459—463.
534. Nelles A., Laske E. // Ibid. 1982. Bd. 177, H. 2. S. 107—113.
535. Nelson C.D. // Canad. J. Bot. 1962. Vol. 40, N 5. P. 737—770.
536. Neufeld E., Bown A.W. // Plant Physiol. 1987. Vol. 83, N 4. P. 895—899.
537. Nishizaki Y. // Plant and Cell Physiol. 1986. Vol. 27, N 1. P. 155—162.
538. Nishizaki Y. // Ibid. 1987. Vol. 28, N 6. P. 1163—1166.
539. Novak V.A., Ivankina N.G., Morokova E.A., Mclashovich A.I. // Physiol. plant. 1988. Vol. 73, N 1. P. 165—169.
540. Oda K., Abe T. // Bot. Mag. Tokyo. 1972. Vol. 85, N 998. P. 135—145.
541. Ohki S. // Comprehensive Treatise Electrochem. 1985. Vol. 10. P. 1—130.
542. Oka K., Naitou S., Yoshida M. et al. // Plant and Cell Physiol. 1987. Vol. 28, N 5. P. 843—849.
543. O'Neill S.D., Spanswick R.M. // J. Membrane Biol. 1984. Vol. 79, N 3. P. 231—243.
544. Opritov V.A., Kalinin V.A., Orlova O.V. // Membrane transport in plants. Prague: Academia, 1984. P. 421—422.
545. Opritov V.A., Michurin S.V. // Proc. Res. Inst. Pomology. Ser. E. Skieniewice, 1973. N 3. P. 51—59.
546. Opritov V.A., Pyatygin S.S. // VI Congr. of the FESPP: Abstracts. Split, 1988. N 521.
547. Opritov V.A., Pyatygin S.S. // VIII Intern. Workshop on Plant Membrane Transp.: Abstracts. Venezia, 1989. N 67b.
548. Opritov V.A., Pyatygin S.S. // Biochem. und Physiol. Pflanz. 1989. Bd. 184, H. 5/6. S. 447—451.
549. Opritov V.A., Retivin V.G. // Membrane transport in plants. Prague: Academia, 1984. P. 224—225.
550. O'Shea P.S., Feuerstein-Thelen S., Azzi A. // Biochem. J. 1984. Vol. 220, N 3. P. 795—801.
551. O'Shea P.S., Thelen S., Petrone G., Azzi A. // FEBS Lett. 1984. Vol. 172, N 1. P. 103—108.
552. Otsiogo-Oyabi H., Roblin G. // J. Plant Physiol. 1985. Vol. 119, N 1. P. 19—24.
553. Palmgren M.G., Sommarin M., Ulvskov P., Jorgensen P.L. // Physiol. plant. 1988. Vol. 74, N 1. P. 11—19.
554. Pantoja O., Willmer C.M. // J. Exp. Bot. 1986. Vol. 37, N 176. P. 315—320.
555. Paszewski A. // Acta Soc. bot. pol. 1959. Vol. 28. P. 373—378.
556. Paszewski A., Zawadzki T. // Ann Univ. M. Curie-Skłodowska. Ser. C. 1973. Vol. 28. P. 1—9.
557. Paszewski A., Zawadzki T. // J. Exp. Bot. 1973. Vol. 24, N 82. P. 804—809.
558. Paszewski A., Zawadzki T. // Ibid. 1976. Vol. 27, N 97. P. 369—374.
559. Paszewski A., Zawadzki T. // Ibid. 1976. Vol. 27, N 100. P. 859—863.
560. Paszewski A., Zawadzki T., Dziubińska H. // Folia Soc. sci. Lublin. Biol. 1977. Vol. 19, N 2. P. 95—116.
561. Pazurkiewicz-Kocot K. // Acta biol. Katowice, 1983. Vol. 12. P. 91—104.
562. Pazurkiewicz-Kocot K. // Ibid. 1984. Vol. 16. P. 84—95.
563. Pazurkiewicz-Kocot K. // Ibid. 1984. Vol. 16. P. 96—103.
564. Pazurkiewicz-Kocot K., Stolarek J. // Ibid. 1980. Vol. 9. P. 18—28.
565. Pennarun A.M., van Le Syne C., Grignon C., Heller R. // Physiol. plant. 1978. Vol. 42, N 3. P. 331—336.
566. Petraglia T., Poole R.J. // Plant Physiol. 1980. Vol. 65, N 5. P. 969—972.

567. Petzold U., Dahse I., Müller E. // Biochem. und Physiol. Pflanz. 1985. Bd. 180, H. 9. S. 655—666.
568. Pichelin-Poitevin D., Delrot S. // C.r. Acad. sci. Ser. 3. 1987. Vol. 304, N 13. P. 371—375.
569. Pickard B.G. // Planta. 1971. Vol. 97, N 2. P. 106—115.
570. Pickard B.G. // Bot. Rev. 1973. Vol. 39, N 2. P. 172—201.
571. Pickard B.G. // Naturwissenschaften. 1974. Bd. 61, H. 2. S. 60—64.
572. Pickard B.G. // Plant, Cell and Environ. 1984. Vol. 7, N 1. P. 171—178.
573. Pickard B.G. // Ibid. 1984. Vol. 7, N 9. P. 679—681.
574. Pierce W.S., Hendrix D.L. // Plant Physiol. 1981. Vol. 67, N 4. P. 864—868.
575. Pierce W.S., Higinbotham N. // Ibid. 1970. Vol. 46, N 5. P. 660—673.
576. Poovaiah B.W. // HortScience. Sec. 1. 1985. Vol. 20, N 3. P. 347—352.
577. Poovaiah B.W., McFadden J.J., Reddy A.S.N. // Physiol. plant. 1987. Vol. 71, N 3. P. 401—407.
578. Post R.L., Vassallo P.M. // V Intern Conf. Na, K-ATPase: Abstr. and Progr. Aarhus, 1987. P. 87.
579. Quinn P.J. // Progr. Biophys. and Mol. Biol. 1981. Vol. 38, N 1. P. 1—104.
580. Racusen R.H., Galston A.W. // Photomorphogenesis. B. etc.: Springer, 1983. P. 682—703.
581. Racusen R.H., Satter R.L. // Nature. 1975. Vol. 255, N 5507. P. 408—410.
582. Raghavendra A.S., Das V.S.R. // J. Exp. Bot. 1978. Vol. 29, N 108. P. 39—47.
583. Raison J.K. // J. Bioenerg. 1973. Vol. 4, N 1/2. P. 285—309.
584. Raison J.K., Wright L.C. // Biochim. et biophys. acta. 1983. Vol. 731, N 1. P. 69—78.
585. Ramirez J.M., Gallego G.G., Serrano R. // Plant Sci. Lett. 1984. Vol. 34, N 1/2. P. 103—110.
586. Rasi-Caldogno F., Pugliarello M. // Biochem. and Biophys. Res. Commun. 1985. Vol. 133. P. 280—285.
587. Rasi-Caldogno F., Pugliarello M.C., de Michelis M.J. // Plant Physiol. 1985. Vol. 77, N 2. P. 200—205.
588. Rasi-Caldogno F., Pugliarello M.C., de Michelis M.J. // Ibid. 1987. Vol. 83, N 4. P. 994—1000.
589. Raven J.A., Smith F.A. // Plant, Cell and Environ. 1978. Vol. 1, N 3. P. 231—238.
590. Rea P., Griffith C.J., Manolson M.F., Sanders D. // Biochim. et biophys. acta. 1987. Vol. 904, N 1. P. 1—12.
591. Rea P.A., Poole R.J. // Plant Physiol. 1986. Vol. 81, N 1. P. 126—129.
592. Rea P.A., Sanders D. // Physiol. plant. 1987. Vol. 71, N 1. P. 131—141.
593. Reid R.J., Dejaegere R., Pitman M.G. // J. Exp. Bot. 1985. Vol. 36, N 165. P. 535—549.
594. Reid R.J., Walker N.A. // J. Membrane Biol. 1984. Vol. 78, N 1. P. 157—162.
595. Reinhold L., Kaplan A. // Annu. Rev. Plant Physiol. 1984. Vol. 35. P. 45—83.
596. Reinhold L., Rahat M., Volokita M et al. // Plasmalemma and tonoplast: Their functions in the plant cell. Amsterdam etc.: Elsevier, 1982. P. 271—276.
597. Remis D., Bulychyev A.A., Kurella G.A. // J. Exp. Bot. 1988. Vol. 39. p. 633—644.
598. Remis D., Pokorný J., Ziegler W. // Biologia. 1984. Sv. 39, N 11. S. 1085—1090.
599. Rephaeli A., Richards D.E., Karlisch S.J.D. // J. Biol. Chem. 1986. Vol. 261, N 27. P. 12437—12440.
600. Ricca U. // Nuov. giorn. bot. ital. 1916. Vol. 23. P. 51—170.
601. Roblin G. // Biol. Rev. 1979. Vol. 54, N 2. P. 135—153.
602. Roblin G. // Ztschr. Pflanzenphysiol. 1982. Bd. 106, H. 4. S. 299—303.
603. Roblin G. // Plant and Cell Physiol. 1985. Vol. 26, N 3. P. 455—461.
604. Roblin G., Bonnemai J.-L. // Ibid. 1985. Vol. 26, N 7. P. 1273—1283.
605. Roblin G., Fleurat-Lessard P. // Planta. 1987. Vol. 170, N 2. P. 242—248.
606. Romani G., Marré M.T., Bellando M. et al. // Plant Physiol. 1985. Vol. 79, N 3. P. 734—739.
607. Sachs G., Spenney J.G., Lewin M. // Physiol. Rev. 1978. Vol. 58, N 1. P. 106—173.
608. Sackmann E. // Cell Calcium. 1984. Vol. 5, N 3. P. 269.
609. Samejima M., Sibaoka T. // Plant and Cell Physiol. 1980. Vol. 21, N 3. P. 467—479.
610. Samejima M., Sibaoka T. // Ibid. 1982. Vol. 23, N 3. P. 459—465.
611. Sandelius A.S., Barr R., Crane F.L., Morré D.J. // Plant Sci. 1987. Vol. 48, N 1. P. 1—10.
612. Sandermann H. // Biochim. et biophys. acta. 1978. Vol. 115, N 3. P. 209—237.
613. Satter R.L., Moran N. // Physiol. plant. 1988. Vol. 72, N 4. P. 816—820.

614. Schauf C.L. // Sci. Progr. 1987. Vol. 71, N 284. P. 459—478.
615. Schauf C.L., Wilson K.J. // Plant Physiol. 1987. Vol. 85, N 2. P. 413—418.
616. Scherer G.F.E. // Ztschr. Pflanzenphysiol. 1984. Bd. 114, H. 3. S. 233—237.
617. Scherer G.F.E., Stoffel B. // Planta. 1987. Vol. 172, N 1. P. 127—130.
618. Schönknecht G., Hedrich R., Junge W., Raschke K. // Nature. 1988. Vol. 336. P. 589—592.
619. Schroeder J.F., Hedrich R., Fernandez J.M. // Ibid. 1984. Vol. 312, N 5992. P. 361—362.
620. Schumaker K.S., Sze H. // VIII Intern. Workshop on Plant Membrane Transp.: Abstracts. Venezia, 1989. N 30.
621. Scott B.H. // Annu. Rev. Plant Physiol. 1967. Vol. 18. P. 409—418.
622. Senn A.P., Goldsmid M.H.M. // Plant Physiol. 1988. Vol. 88, N 1. P. 131—138.
623. Serrano R. // Biochem. and Biophys. Res. Commun. 1984. Vol. 121, N 2. P. 735—740.
624. Serrano R. // Annu. Rev. Plant Physiol. 1989. Vol. 40. P. 61—94.
625. Shiina T., Tazawa M. // Plant and Cell Physiol. 1986. Vol. 27, N 6. P. 1081—1089.
626. Shimmen T., Tazawa M. // J. Membrane Biol. 1980. Vol. 55. P. 223—231.
627. Sibaoka T. // Sci. Rep. Tohoku Univ. Biol. 1950. Vol. 18. P. 370—376.
628. Sibaoka T. // Ibid. 1951. Vol. 19. P. 133—139.
629. Sibaoka T. // Ibid. 1953. Vol. 20. P. 72—88.
630. Sibaoka T. // Science. 1962. Vol. 137, N 3525. P. 226.
631. Sibaoka T. // Symp. Soc. Exp. Biol. 1966. Vol. 20. P. 49—74.
632. Sibaoka T. // Annu. Rev. Plant Physiol. 1969. Vol. 20. P. 165—184.
633. Sibaoka T. // Bot. Mag. Tokyo. 1973. Vol. 86, N 1002. P. 51—61.
634. Sibaoka T. // Plant growth substances. B. etc.: Springer, 1980. P. 462—469.
635. Singh A.P., Nicholls P. // J. Biochem. and Biophys. Meth. 1985. Vol. 11, N 2/3. P. 95—108.
636. Singh J., Dieckert J.W. // Austral. J. Plant Physiol. 1975. Vol. 2, N 4. P. 453—459.
637. Singh S.P., Kesav B.V.S., Briskin D.P. // Physiol. plant. 1987. Vol. 69, N 4. P. 617—626.
638. Siniuchin A., Stolarek O. // Annu. Univ. M. Curie-Sklodowska. Ser. C. 1961. Vol. 16. P. 215—228.
639. Sinyukhin A.M., Brütikov E.A. // Nature. 1967. Vol. 215, N 5107. P. 1278—1280.
640. Slayman C.L., Long W.S., Gradmann D. // Biochim. et biophys. acta. 1976. Vol. 426, N 4. P. 732—744.
641. Slesak E. // Folia Soc. sci. Lublin. Biol. 1984. Vol. 26, N 2. P. 141—143.
642. Slesak E. // Acta Univ. wratisl. Pr. bot. 1985. Vol. 34. P. 41—43.
643. Snow R. // Proc. Roy. Soc. Ser. B. 1924. Vol. 96. P. 349—374.
644. Spanner D.C. // J. Exp. Bot. 1970. Vol. 21, N 67. P. 325—334.
645. Spanswick R.M. // Biochim. et biophys. acta. 1972. Vol. 288, N 1. P. 73—89.
646. Spanswick R.M. // Annu. Rev. Plant Physiol. 1981. Vol. 32. P. 267—289.
647. Stein S., Hansen U.-P. // J. Membrane Biol. 1988. Vol. 103, N 2. P. 149—158.
648. Stoeckel H., Pfirsich R. // C.r. Acad. sci. D. 1969. Vol. 286, N 13. P. 1725—1727.
649. Stolarek J., Pazurkiewicz-Kocot K. // Acta biol. Katowice, 1980. Vol. 9. P. 9—17.
650. Stolarek J., Pazurkiewicz-Kocot K., Zientara M. // Post. Biol. Komórki. 1984. T. 11. N 3/4. S. 361—364.
651. Stuhlman O., Darden E.B. // Science. 1950. Vol. 111, N 2888. P. 491—492.
652. Sze H. // Annu. Rev. Plant Physiol. 1985. Vol. 36. P. 175—208.
653. Sze H., Churchill K. // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1981. Vol. 78, N 9. P. 5578—5582.
654. Sze H., Hodges T.K. // Plant Physiol. 1976. Vol. 58, N 3. P. 304—308.
655. Takeda K., Kurdjian A.C., Kado R.T. // Protoplasma. 1985. Vol. 127, N 3. P. 147—162.
656. Tanner W. // Ion Gradient-Coupled Transp.: Proc. Intern. Symp. Amsterdam etc., 1986. P. 105—111.
657. Tarba C. // Rev. roum. biochim. 1983. Vol. 20, N 1. P. 61—65.
658. Tasaki I., Carnay L., Sandlin R., Watanabe A. // Science. 1969. Vol. 163, N 3868. P. 684—685.
659. Tasaki I., Carnay L., Watanabe A. // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1969. Vol. 64, N 4. P. 1362—1368.
660. Tasaki I., Singer I. // Ann. N.Y. Acad. Sci. 1966. Vol. 137. P. 792—806.
661. Tasaki I., Singer I., Takenaka T. // J. Gen. Physiol. 1965. Vol. 48. P. 1095—1123.
662. Tasaki I., Watanabe A., Sandlin R., Carnay L. // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1968. Vol. 61, N 3. P. 883—888.
663. Tazawa M., Shimmen T., Mimura T. // Plant and Cell Physiol. 1986. Vol. 27, N 1. P. 163—168.

664. Thibaud J.-B., Soler A., Grignon C. // *Plant Physiol.* 1986. Vol. 81, N 3. P. 847—853.
665. Thom M., Maretzki A. // *Ibid.* 1985. Vol. 77, N 4. P. 873—876.
666. Torijama H. // *Cytologia.* 1962. Vol. 27, N 4. P. 431—432.
667. Torijama H., Jaffe M.J. // *Plant Physiol.* 1972. Vol. 49, N 1. P. 72—81.
668. Trebacz K., Tarnecki R., Zawadzki T. // *Physiol. plant.* 1989. Vol. 75, N 1. P. 20—23.
669. Trebacz K., Zawadzki T. // *Ibid.* 1985. Vol. 64, N 3. P. 482—486.
670. Tsong T.Y. // *Trends Biochem. Sci.* 1989. Vol. 14, N 3. P. 89—92.
671. Tyree M.T., Fensom D.S. // *J. Exp. Bot.* 1970. Vol. 21, N 67. P. 304—324.
672. Ullrich-Eberius C., Novacky A. // *Membrane transport in plants.* Prague: Academia, 1984. P. 433.
673. Ullrich-Eberius C.J., Novacky A., Ball E. // *Plant Physiol.* 1983. Vol. 72, N 1. P. 7—15.
674. Umrath K. // *Jb. Wiss. Bot.* 1935. Bd. 81. S. 448—463.
675. Umrath K. // *Ergebn. Biol.* 1937. Bd. 14, H. 1. S. 1—142.
676. Umrath K. // *Handb. Pflanzenphysiol.* 1959. Bd. 17/1. S. 24—110.
677. Umrath K. // *Protoplasma.* 1966. Vol. 61, N 3. P. 229—243.
678. Umrath K., Kastberger G. // *Phyton.* 1983. Vol. 23, N 1. P. 65—78.
679. Van Sambeek J.W., Pickard B.G. // *Canad. J. Bot.* 1976. Vol. 54, N 23. P. 2642—2650.
680. Vanselow K.H., Dau H., Hansen U.-P. // *Planta.* 1988. Vol. 176, N 3. P. 351—361.
681. Van Steveninck R.F.M. // *Intercellular communication in plants: Studia plasmodesmata.* B. etc.: Springer, 1976. P. 131—145.
682. Vara F., Serrano R. // *J. Biol. Chem.* 1982. Vol. 257, N 21. P. 12826—12830.
683. Viitanen P., Garcia M.L., Kaback H.R. // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 1984. Vol. 81, N 6. P. 1629—1633.
684. Volkov G.A. // *Biochim. et biophys. acta.* 1972. Vol. 255, N 3. P. 709—719.
685. Walker N.A., Smith F.A. // *Plant Sci. Lett.* 1975. Vol. 4, N 1. P. 125—132.
686. Walmsley A.R. // *Trends Biochem. Sci.* 1988. Vol. 13, N 6. P. 226—231.
687. Wang J., Leigh R.A., Kaestner K.H., Sze H. // *Plant Physiol.* 1986. Vol. 81, N 2. P. 497—502.
688. Wasserman B.P., McCarthy K.J. // *Ibid.* 1986. Vol. 82, N 2. P. 396—400.
689. Wendler S., Zimmermann U., Bentrup F.-W. // *J. Membrane Biol.* 1983. Vol. 72, N 1/2. P. 75—84.
690. Williams S.E., Pickard B.G. // *Planta.* 1972. Vol. 103, N 3. P. 193—221.
691. Williams S.E., Pickard B.G. // *Ibid.* 1974. Vol. 116, N 1. P. 1—16.
692. Williams S.E., Spanswick R.M. // *J. Comp. Physiol.* 1976. Vol. 108. P. 211—223.
693. Wright J.P., Fisher D.B. // *Plant Physiol.* 1981. Vol. 67, N 4. P. 845—848.
694. Wright J.P., Shimabukuro R.H. // *Ibid.* 1987. Vol. 85, N 1. P. 188—193.
695. Wright J.P., McMurchie E.J., Pomeroy M.K., Raison J.K. // *Ibid.* 1982. Vol. 69, N 6. P. 1356—1360.
696. Yapa P.A.J., Spanner D.C. // *Planta.* 1972. Vol. 106, N 4. P. 369—373.
697. Zawadzki T. // *Acta Soc. bot. pol.* 1979. Vol. 48, N 1. P. 99—107.
698. Zawadzki T. // *Ibid.* 1979. Vol. 48, N 2. P. 305—315.
699. Zawadzki T. // *J. Exp. Bot.* 1980. Vol. 31, N 124. P. 1371—1377.
700. Zawadzki T. // *Folia Soc. sci. Lublin. Biol.* 1984. Vol. 26, N 2. P. 103—116.
701. Zawadzki T., Dziubińska H. // *Acta Soc. bot. pol.* 1979. Vol. 48, N 1. P. 109—117.
702. Zawadzki T., Trebacz K. // *J. Exp. Bot.* 1982. Vol. 33, N 132. P. 100—110.
703. Zawadzki T., Trebacz K., Dziubińska H. // *VIII Intern. Workshop on Plant Membrane Transp.: Abstracts.* Venezia, 1989. N 84b.
704. Zocchi G. // *Plant Sci.* 1985. Vol. 40, N 3. P. 153—159.
705. Zocchi G., Hanson J.B. // *Plant, Cell and Environ.* 1983. Vol. 6, N 3. P. 203—209.

# СОДЕРЖАНИЕ

|                                                                                                                           |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Список сокращений .....                                                                                                   | 3  |
| Введение .....                                                                                                            | 4  |
| БИОЭЛЕКТРОГЕНЕЗ КЛЕТОК ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ В ПОКОЕ .....                                                                      | 6  |
| 1. Методические особенности измерения потенциалов покоя клеток высших растений .....                                      | 6  |
| Измерение потенциалов покоя с помощью электродов .....                                                                    | 6  |
| Измерение потенциалов покоя методом флуоресцентных зондов .....                                                           | 9  |
| 2. Электрическая активность структурных элементов растительной клетки в покое .....                                       | 10 |
| Потенциал клеточной стенки .....                                                                                          | 10 |
| Потенциал плазмалеммы .....                                                                                               | 10 |
| Потенциал тонопласта .....                                                                                                | 11 |
| Потенциал митохондрий и хлоропластов .....                                                                                | 12 |
| Потенциал других структурных элементов клетки.....                                                                        | 12 |
| Интерпретация внутриклеточных измерений потенциала покоя у высших растений. Вклад потенциала плазмалеммы.....             | 13 |
| 3. Потенциал покоя клеток высших растений как сумма диффузионной и метаболической составляющих .....                      | 15 |
| Величина потенциала покоя клеток. Вклад диффузионной и метаболической компонент .....                                     | 15 |
| Темновая метаболическая компонента потенциала покоя .....                                                                 | 19 |
| Фотоиндуцированная метаболическая компонента потенциала покоя ....                                                        | 21 |
| 4. Природа пассивной составляющей потенциала покоя .....                                                                  | 22 |
| Механизм пассивной проницаемости мембран для ионов .....                                                                  | 23 |
| Роль $K^+$ в возникновении диффузионного потенциала .....                                                                 | 25 |
| Уравнение Гольдмана. Роль $Na^+$ и $Cl^-$ в возникновении диффузионного потенциала .....                                  | 29 |
| 5. Природа метаболической составляющей потенциала покоя. Электрогенные насосы .....                                       | 32 |
| $H^+$ -АТФаза плазмалеммы и ее участие в генерации метаболической составляющей мембранного потенциала .....               | 32 |
| Редокс-цепь плазмалеммы и ее роль в электрогенезе клеток.....                                                             | 38 |
| Электрогенные свойства $H^+$ -АТФазы и пиррофосфатазы тонопласта .....                                                    | 41 |
| $Ca^{2+}$ -АТФаза плазмалеммы — электрогенный насос? Влияние $Ca^{2+}$ на электрогенную компоненту потенциала покоя ..... | 42 |
| $Na^+, K^+$ -АТФаза плазмалеммы и другие возможные электрогенные системы.....                                             | 44 |
| Эквивалентная электрическая цепь плазмалеммы. Уравнение для потенциала покоя .....                                        | 46 |
| 6. Факторы, модифицирующие электрогенез клеток высших растений в покое .....                                              | 47 |
| Температурный фактор .....                                                                                                | 47 |
| Свет .....                                                                                                                | 53 |
| Растительные гормоны .....                                                                                                | 57 |
| Прочие факторы .....                                                                                                      | 62 |
| 7. Роль структурной лабильности клеточных мембран в регуляции потенциала покоя .....                                      | 65 |
| 8. Роль потенциала покоя в жизнедеятельности клеток высших растений ....                                                  | 71 |

|                                                                                                                                  |     |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| ПОТЕНЦИАЛЫ ДЕЙСТВИЯ У ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ .....                                                                                      | 85  |
| 9. Типы импульсной электрической активности у высших растений .....                                                              | 85  |
| Потенциал действия .....                                                                                                         | 86  |
| Вариабельный потенциал .....                                                                                                     | 91  |
| Микроритмы .....                                                                                                                 | 93  |
| Другие виды импульсной электрической активности .....                                                                            | 95  |
| 10. Краткий исторический очерк изучения потенциалов действия у высших растений .....                                             | 96  |
| 11. Методические подходы к анализу потенциалов действия у высших растений .....                                                  | 99  |
| Регистрация потенциалов действия .....                                                                                           | 100 |
| Способы раздражения .....                                                                                                        | 103 |
| 12. Характеристика потенциалов действия у высших растений .....                                                                  | 105 |
| Раздражители, вызывающие потенциалы действия у высших растений .....                                                             | 105 |
| Пороговые условия генерации потенциалов действия .....                                                                           | 113 |
| Параметры потенциалов действия .....                                                                                             | 117 |
| Генерация ритмических повторяющихся потенциалов действия .....                                                                   | 121 |
| 13. Рецепция раздражения. Пути распространения потенциала действия и его трансформация в физиологический ответ .....             | 125 |
| Рецепция раздражения .....                                                                                                       | 125 |
| Пути распространения потенциала действия .....                                                                                   | 127 |
| Трансформация потенциала действия в функциональный ответ .....                                                                   | 133 |
| 14. Ионные механизмы генерации потенциала действия у высших растений .....                                                       | 135 |
| Ионные сдвиги при возбуждении .....                                                                                              | 135 |
| Электрохимические модели генерации потенциала действия в растительных объектах .....                                             | 139 |
| Электрохимические характеристики клеток проводящих тканей в покое и при возбуждении .....                                        | 144 |
| Роль ионных потоков $K^+$ , $Cl^-$ , $Ca^{2+}$ в генерации электрического импульса в проводящих тканях .....                     | 147 |
| Участие ионных каналов в генерации потенциала действия в проводящих тканях .....                                                 | 149 |
| Особенности ионного механизма генерации потенциала действия у высших растений .....                                              | 152 |
| 15. Сопряжение генерации потенциала действия у высших растений с работой электрогенного ионного насоса возбудимой мембраны ..... | 153 |
| Участие электрогенного насоса в создании электрохимических градиентов основных ПД-образующих ионов .....                         | 154 |
| Участие электрогенного насоса в формировании фазы реполяризации потенциала действия .....                                        | 157 |
| Роль электрогенного насоса в достижении порога возбуждения .....                                                                 | 160 |
| 16. Структурная лабильность возбудимой мембраны и генерация потенциалов действия .....                                           | 162 |
| Роль структурных перестроек в возбудимой мембране в достижении порога возбуждения .....                                          | 162 |
| Роль структурных перестроек в возбудимой мембране в генерации пика потенциала действия .....                                     | 167 |
| Влияние структурного состояния возбудимой мембраны на генерацию потенциала действия .....                                        | 168 |
| 17. Особенности восстановительного периода у высших растений .....                                                               | 171 |
| Рефрактерность проводящих тканей .....                                                                                           | 171 |
| Восстановление ионного гомеостаза .....                                                                                          | 176 |
| 18. Роль потенциалов действия в функционировании высших растений .....                                                           | 178 |
| Постановка вопроса .....                                                                                                         | 178 |
| Сигнальная роль потенциалов действия у высших растений .....                                                                     | 183 |
| Заключение .....                                                                                                                 | 189 |
| Литература .....                                                                                                                 | 194 |

# CONTENTS

|                                                                                               |           |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| Abbreviations .....                                                                           | 3         |
| Introduction .....                                                                            | 4         |
| <b>BIOELECTROGENESIS OF HIGHER PLANT CELLS AT REST .....</b>                                  | <b>6</b>  |
| 1. Methodical peculiarities of resting potential measurement in higher plant cells.....       | 6         |
| Measurement of resting potential with the help of electrodes .....                            | 6         |
| Measurement of resting potential by fluorescent probe method.....                             | 9         |
| 2. Electrical activity of structural elements of plant cell at rest.....                      | 10        |
| Cell wall potential .....                                                                     | 10        |
| Plasmalemma potential.....                                                                    | 10        |
| Tonoplast potential .....                                                                     | 11        |
| Potentials of mitochondria and chloroplasts.....                                              | 12        |
| Potentials of other structural elements of cell .....                                         | 12        |
| Interpretation of intercellular measurement of resting potential in higher plants.            |           |
| Contribution of plasmalemma potential .....                                                   | 13        |
| 3. Resting potential of higher plant cell as the sum of diffusion and metabolic components... | 15        |
| Value of cell resting potential. Contributions of diffusion and metabolic components .....    | 15        |
| Metabolic component of resting potential at dark .....                                        | 19        |
| Light-induced metabolic component of resting potential.....                                   | 21        |
| 4. Nature of passive component of resting potential .....                                     | 22        |
| Mechanism of passive ion permeability of membranes .....                                      | 23        |
| Role of $K^+$ for diffusion potential generation.....                                         | 25        |
| Goldman equation. Roles of $Na^+$ and $Cl^-$ for diffusion potential generation .....         | 29        |
| 5. Nature of metabolic component of resting potential. Electrogenic pumps.....                | 32        |
| $H^+$ -ATPase of plasmalemma and its participation in generation of membrane potential        |           |
| metabolic component.....                                                                      | 32        |
| Redox chain of plasmalemma and its role for cell electrogenesis.....                          | 38        |
| Electrogenic properties of $H^+$ -ATPase and pyrophosphatase of tonoplast .....               | 41        |
| Is $Ca^{2+}$ -ATPase of plasmalemma an electrogenic pump?Effect of $Ca^{2+}$ on electrogenic  |           |
| component of resting potential.....                                                           | 42        |
| $Na^+$ , $K^+$ -ATPase of plasmalemma and other possible electrogenic systems .....           | 44        |
| Equivalent electrical circuit of plasmalemma. Resting potential equation .....                | 46        |
| 6. Factors modifying the electrogenesis of higher plant cells as rest.....                    | 47        |
| Temperature factor.....                                                                       | 47        |
| Light.....                                                                                    | 53        |
| Plant hormones .....                                                                          | 57        |
| Other factors.....                                                                            | 62        |
| 7. Role of structural lability of cell membranes for resting potential regulation.....        | 65        |
| 8. Role of resting potential for life activity of higher plant cells .....                    | 71        |
| <b>ACTION POTENTIALS IN HIGHER PLANTS.....</b>                                                | <b>85</b> |
| 9. Types of impulsive electrical activity in higher plants .....                              | 85        |
| Action potential.....                                                                         | 86        |
| Variation potential.....                                                                      | 91        |
| Microrhythmes .....                                                                           | 93        |
| Other types of electrical impulse activity .....                                              | 95        |