УДК 577.352

Ю.А. Гордеев

МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ ПРОТОННОГО БАРЬЕРА НА ТРАНСПОРТ ВОДЫ ПО ВОДНЫМ КАНАЛАМ ПРИ НОРМАЛИЗАЦИИ ВОДНО-СОЛЕВОГО ОБМЕНА РАСТЕНИЙ ЭЛЕКТРОВОЗДЕЙСТВИЕМ В СТРЕССОВЫХ УСЛОВИЯХ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Вода в жизни растений выполняет жизненно важные функции, поддерживающие обменные процессы, а также является источником питания растений. Разработанная нами теория протонного барьера с достаточной полнотой объясняет ранее не совсем понятные явления в поглощении корнями K^+ и Ca^{++}, NH_4^+ и NO_3^-, других ионов в неблагоприятных условиях, а так же улучшение трансмембранного переноса элементов питания при наложении на корнеобитаемую зону слабого электрического или электрохимического поля. Целью работы являлось изучение особенностей механизма действия протонного барьера (ПБ) на транспорт воды по водным каналам при нормализации водно-солевого обмена растений внешним электровоздействием в стрессовых условиях окружающей среды (засуха, переуплотнение пахотного слоя почвы, недостаток элементов питания). Доказательства влияния протонного барьера на водный транспорт в клетках корня были получены проведением многочисленных экспериментов с различными видами культурных растений. При стрессе работа протонного насоса активизируется в несколько раз. Протоны не успевают диффундировать в наружный раствор и накапливаются в апопласте. Образующийся при этом ПБ создает серьезные препятствия не только для ионтранспортных процессов и водоснабжения в клетках корня. Протонный барьер – дополнительный действующий фактор стресса, усугубляющий отрицательное действие последнего на растения. Но слабое электрическое поле способно улучшать работу водного канала, особенно в стрессовых условиях. Направленное вдоль ризосферы поле будет оттягивать ионы от водного канала и обеспечивать приток воды в корневые клетки. Описанный механизм влияния протонного барьера на транспорт воды по водному каналу обнаруживает в системе водно-солевого обмена растений недостающее до сих пор звено: прямое, непосредственное влияние электрических зарядов в клетке на поступление в протопласт электрически нейтральных молекул воды.

Вода, аквапорин, водные каналы, протонный барьер, электовоздействие, водно-солевой обмен, водообеспечение растений.

Введение

Вода в жизни растений выполняет жизненно важные функции, поддерживающие обменные процессы, а также является источником питания:

– выполняет транспортную функцию по «доставке» питательных веществ к тканям и органам при корневом и листовом питании, обменных процессах и синтезе;

– служит терморегулятором, препятствующим перегреву тканей и денатурации (разрушению) белков, в т.ч. ферментов и гормонов;

– является основной составляющей частью растительных организмов (на 80–90 % растения состоят из воды), которая создает тургор – упругость тканей;

– как источник элемента питания – водорода, необходимого в процессах фотосинтеза первичных сахаров;

– вода для растений является «управляющей компьютерной системой», определяющей само функционирование всех процессов, несущей на себе «программу жизни».

Эту последнюю функцию выполняет энергоинформационная память воды. И это главенствующее её значение, которое определяет все остальные, напрямую зависящие от состояния и свойств воды, поступающей в организм растений и животных. От той программы, которая заложена в информационную систему (память) воды, зависят все физиологические функции, и даже сама жизнь растений. Посредством воды происходит энергоинформационное управление всеми жизненными процессами как отдельных организмов растений, их сообществ, так и экосистем.

Разработанная нами (А.М. Гордеев, Ю.А. Гордеев и др., 2005), теория протонного барьера с достаточной полнотой объясняет ранее не совсем понятные явления в поглощении корнями K^+ и Ca^{++}, NH_4^+ и NO_3^-, других ионов в неблагоприятных условиях, а также улучшение трансмембранного переноса элементов питания при наложении на корнеобитаемую зону слабого электрического или электрохимического поля. Вместе с тем оставалось невыясненным, каким образом корневые клетки и растение в целом при электровоздействии на ризосферу обходятся таким количеством воды, при котором угнетаются и погибают без электровоздействия [1].

Были разные предположения о данном феномене. Рубин (1978) считал, что при наличии физического поля структура воды и ее взаимодействие с

полярными группами резко изменяются, что позволяет растениям каким-то образом обеспечивать метаболизм меньшим ее количеством [2].

Другое предположение исходит из того, что в водных средах благодаря кооперативному эффекту установления и разрушения системы водородных связей постоянно возникают ассоциаты того или иного размера. Такие ассоциаты, по мнению Кисловского (1984), очень чувствительны к адекватным им слабым физическим воздействиям. Так, слабые возмущения влияют на гидратацию ионов и образование метастабильных структур. Изменение гидратации ионов меняет взаимодействие других молекул с водной средой, в частности, ведет к конформационным переходам макромолекул, кооперативным переключениям системы мембран, влияет на ферментные, свободнорадикальные и другие системы управления живой клеткой и тем самым улучшает состояние и адаптационные возможности организма [3].

Не исключается и возможность синтеза воды в клетке. По данным Генкеля (1978), во время засухи усиленно образуется метаболическая вода. За счет этого у томатов пополнение водного запаса за 1 ч составляет 13 % общего содержания воды у контрольных и 20% у закаленных объектов [4]. Механизм этого явления, описанный Гудвином и Мерсером (1986), состоит в следующем [5]. При образовании АТФ на митохондриальной мембране освобождаются ионы H^+ и OH^-, и они переносятся в противоположных направлениях электрохимическим градиентом. При этом ионы H^+, притягиваемые избытком OH^- и относительной электроотрицательностью, транслоцируются в матрикс, а ионы OH^-, притягиваемые избытком H^+ и относительной электроположительностью, – в межмембранное пространство. В обоих случаях образуется H_2O. Внешнее электромагнитное поле обязано стимулировать эти процессы, так как, по имеющимся сведениям (Удинцев, 1984), оно ускоряет синтез АТФ [6]. А Варехов (1989) предполагает деструктурирование мембранной воды, вызываемое поляризацией мембран внешним электромагнитным полем [7].

В последние годы появились работы (Murata и др., 2000; Трофимова и др., 2001), свидетельствующие, что в транспорте воды через плазмалемму клеток корня решающую роль играют водные каналы, которые свободно пропускают в обе стороны электрические нейтральные молекулы, в том числе и диполи воды, но не пропускают ионы с положительным или отрицательным зарядом [8, 9].

Водные каналы детально объяснили трансмембранный перенос молекул воды, в том числе в корнях растений. Работу выполнил Питер Эгр, получивший Нобелевскую премию 2003 года по химии. Он доказал наличие специализированных водных каналов в мембране и выделил белок, формирующий этот канал – аквапорин [10].

Целью работы являлось изучение особенностей механизма действия протонного барьера на транспорт воды по водным каналам при нормализации водно-солевого обмена растений внешним электровоздействием в стрессовых условиях окружающей среды (засуха, переуплотнение пахотного слоя почвы, недостаток элементов питания).

Объект и методы исследования

Доказательства влияния протонного барьера на водный транспорт в клетках корня были получены проведением многочисленных экспериментов с различными видами культурных растений. Дело в том, что трудно исследовать микроэффект на клеточном и субклеточном уровнях при помощи методов, адаптированных к целому растению. Тем более, что из-за отсутствия адекватных способов, пригодных для измерения водного обмена растений с высокой чувствительностью, исследовался не сам транспорт воды, а тесно связанные с осмотическим и тургорным давлением процессы роста растяжением клеток и тканей корня. Соответственно показателями роста служили не сырая или сухая биомасса, а высота опытных растений. Но измерялся этот показатель в динамике и с 16-кратной повторностью рандомизированных повторений.

Результаты и их обсуждение

Белок аквапорин состоит из четырех субъединиц, каждая из которых имеет индивидуальную водную пору. В первичной структуре субъединицы одного из таких белков, аквапорина-1 (АП1), обнаружены две повторяющиеся последовательности. Одна такая последовательность представляет собой три спиральных участка с короткой петлей, которые пронизывают мембрану и образуют одну половину поры. Две половинки поры ориентированы в мембране на 180° относительно друг друга и, встречаясь в центре бислоя, образуют полноценную пору. Концы цепи аквапорина расположены внутри клетки (рис. 1).

Теоретически представляется, что протоны (H^+) тоже могли бы проходить через канал за счет временного взаимодействия с молекулами воды, связанными водородными связями. Однако особенности строения канала АП1 препятствуют этому.

Пространственная структура аквапорина напоминает цилиндрический канал, по которому движутся молекулы воды (рис. 2).

Через него проходит только вода, но не ионы. Аминокислоты в белке расположены таким образом, что полярность создаваемого ими электростатического поля «переключается» в центре молекулы на обратную. Поэтому молекулы воды, дойдя до середины канала, переворачиваются так, что их дипольные моменты в верхней и нижней части канала направлены в противоположные стороны. Такое переориентирование предотвращает просачивание через канал ионов. Аквапорин не пропускает даже ионы гидроксония H_3O^+ (то есть гидратированные протоны), от концентрации которых зависит кислотность среды. Благодаря аквапоринам клетки не только регулируют свой объем и внутреннее давление, но и выполняют такие важные функции, как всасывание воды в почках животных и корешках растений.

Транспорт воды в клетки в свете теории протонного барьера представляется следующим образом.

Водный канал устроен так, что ни катионы, ни анионы пройти через него не могут, а проходят только диполи воды, изменяя в центре канала ориентацию дипольного момента на противоположную (рис. 3).

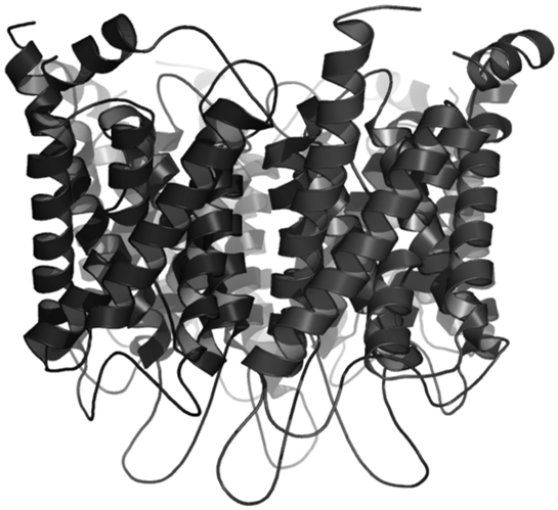

Рис. 1. Ленточная структура молекулы аквапорина

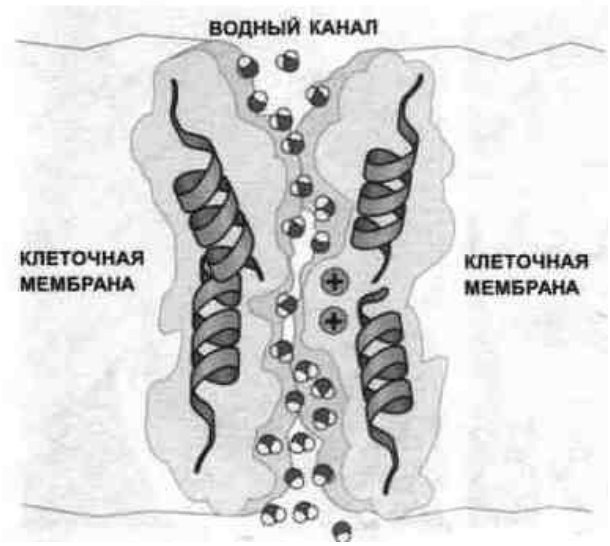

Рис. 2. Пространственная структура молекулы аквапорина

В настоящее время известно значительное количество форм аквапоринов, причем, если одни функционируют в нормальных условиях, то образование других может быть индуцировано стрессом [11]. При образовании протонного барьера молекулы воды, скорее всего, соединяются с протонами по реакции: $H_2O + H^+ = H_3O^+$. Образующиеся ионы гидроксония, как и любые другие ионы, не могут пройти через водные каналы и участвуют в формировании протонного барьера, что характеризуется как закрытое состояние канала (канал заблокирован). Действие электрического поля, ориентированного вдоль мембраны, сдвигает протонный барьер в сторону от входа в водный канал, происходит разблокировка канала и вода свободно поступает в клетки корня.

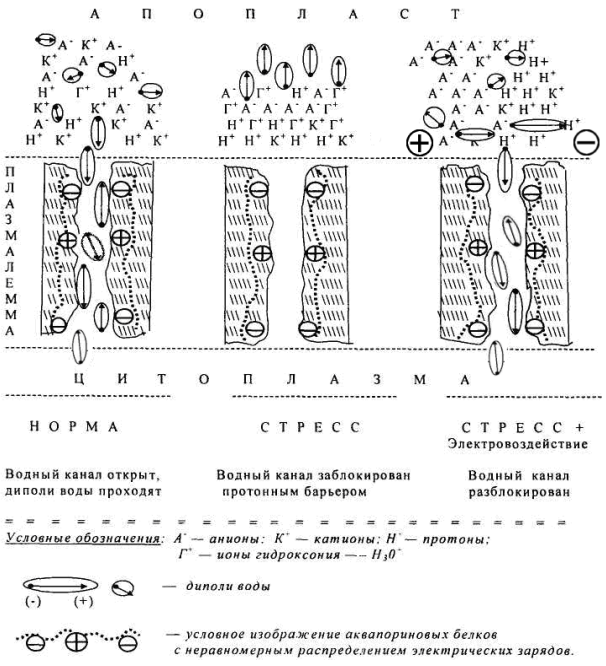

Рис. 3. Схема влияния протонного барьера на функционирование водного канала мембран корневых клеток

СХЕМА
формирования протонного барьера на плазмалемме корневых клеток в стрессовых условиях

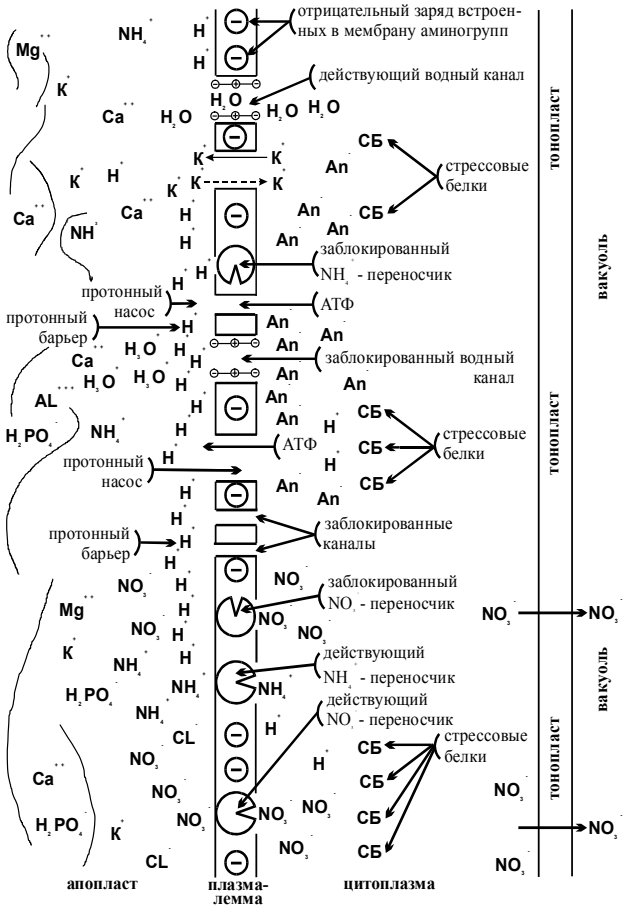

Рис. 4. Формирование протонного барьера на плазмалемме корневых клеток

Предполагается существование тесной зависимости роста растяжением от процессов водного транспорта в клетках, которая может быть описана выражением (Ф. Уоринг, И. Филипс, 1984) [12]:

$$V = Ф (РП – a), \quad (1)$$

где V – скорость роста; Ф – растяжимость клеточной оболочки; РП – разность осмотических или водных потенциалов клетки и среды; а – пороговое значение тургора (выше которого начинается рост растяжением).

Действие фитогормонов на рост растяжением может быть опосредовано через изменение Ф. При водном и солевом стрессах решающим является, по-видимому, прямое изменение разности потенциалов. В настоящее время уже получены экспериментальные данные при помощи оригинального гравиметрического метода, позволяющего с высокой чувствительностью (до 1 мКл) исследовать быстрые процессы водообмена корня.

Само существование протонного барьера в экспериментах никак не подтверждено. Да, видимо, и нет такой возможности: ни электронная микроскопия, ни изотопы, ядерный резонанс, электрофизиология, ни другие, самые современные методы, не дают однозначного ответа на такой вопрос. Наличие в растении протонного барьера может быть мотивировано только косвенно нашими исследованиями и литературными данными, связывающими его возникновение со стрессовыми воздействиями и с активизацией протонного насоса [13]. В норме протонный насос непрерывно выкачивает из протопласта в апопласт метаболически образуемые протоны. Это происходит в достаточно больших масштабах, так как выход протонов обеспечивает целую систему сопряженных ион-транспортных процессов на клеточной мембране. Однако накопления протонов в апопласте при этом не происходит, возможно, потому, что как раз с такой скоростью они выходят из апопласта в наружную среду по концентрационному градиенту.

При стрессе работа протонного насоса активизируется в несколько раз. Протоны не успевают диффундировать в наружный раствор и накапливаются в апопласте. Образующийся при этом ПБ создает серьезные препятствия не только для ион-транспортных процессов и водоснабжения в клетках корня. Протонный барьер – дополнительный действующий фактор стресса, усугубляющий отрицательное действие последнего на растения. С учетом наличия на плазмалемме водных каналов из аквапоринов схема формирования протонного барьера по сравнению с предыдущей усложнится (рис. 4, см. выше) [14].

Выводы

Таким образом, электрическое поле способно улучшать работу водного канала, особенно в стрессовых условиях. Аквапорины функционируют благодаря наличию электрических зарядов. Если имеются положительные заряды, скопление которых обусловлено протонным барьером, к ним будут стремиться отрицательно заряженные ионы, которые, не имея возможности попасть в канал, будут скапливаться на проходах к нему и также препятствовать свободному продвижению диполей молекул воды. Направленное вдоль ризосферы поле будет оттягивать ионы от водного канала и обеспечивать поток воды в корневые клетки.

Описанный механизм влияния протонного барьера на транспорт воды по водному каналу обнаруживает в системе водно-солевого обмена растений недостающее до сих пор звено: прямое, непосредственное влияние электрических зарядов в клетке на поступление в протопласт электрически нейтральных молекул воды.

Список литературы

1. Гордеев, Ю.А. Протонный барьер как феномен водно-солевого обмена растений / Ю.А. Гордеев, А.М. Гордеев, А.А. Захарин, Л.А. Паничкин. – М.: Изд-во МСХА, Известия ТСХА, Вып. 1. 2005. – С. 63–73.

2. Рубин, Б.А. Проблемы физиологии в современном растениеводстве / Б.А. Рубин. – М.: Колос, 1978. – 302 с.

3. Кисловский, Л.Д. Реакция живых систем на слабые адекватные им воздействия / Л.Д. Кисловский // Электромагнитные поля в биосфере. – Т. 2. – 1984. – С.16–26.

4. Генкель, П.А. Адаптация растений к экстремальным условиям окружающей среды / П.А. Генкель // Физиология растений. 1978. – Т. 25. – № 5. – С. 889–902.

5. Гудвин, Т. Введение в биохимию растений / Т. Гудвин, Э. Мерсер. – М.: Мир, 1986. – Т. 1. – С. 212–219.

6. Удинцев, Н.А. Особенности обмена веществ и его регуляции при воздействии электромагнитных полей / Н.А. Удинцев // Электромагнитные поля в биосфере. – Т.2. – 1984. – С. 108–115.

7. Варехов, А.Г. Фазовые переходы в биомембранах, индуцированные электромагнитным полем / А.Г. Варехов // Механизм действия магнитных и электромагнитных полей на биологические системы различных уровней организации. – Ростов-на-Дону, 1989. – С. 19–20.

8. Murata, K., Mitsuoka, K., Hirai, T., Walz, T., Agre, P., Heymann, J.B., Engel, A., Fujiyoshi, Y. / K. Murata, K. Mitsuoka, T. Hirai, T. Walz, P. Agre, J.B. Heymann, A. Engel, Y. Fujiyoshi // Structural determinants of water permeation through Aquaporin-1. Nature 407. 2000. – P. 599–605.

9. Трофимова, М.С. Место и роль аквапоринов в транспорте воды в растениях / М.С. Трофимова, И.М. Жесткова, Е.М. Сорокин, И.М. Андреев // Вестник Нижегородского университета им. Н.И Лобачевского. Сер. Биология. – Нижн. Новгород, 2001. – С. 99–101.

10. Neely, J.D., Amiry-Moghadam, M., Ottersen, O.P., Froehner, S.C., Agre, P. and Adams, M.E. Syntrophin-dependent expression and localization of Aquaporin-4 water channel protein / J.D. Neely, M. Amiry-Moghadam, O.P. Ottersen, S.C. Froehner, P. Agre and M.E. Adams // Proc Natl Acad Sci USA 98: 2001. – P. 14108–14113.

11. Гордеев, Ю.А. Высокоэффективное водообеспечение растений в стрессовых условиях глобального экологического кризиса / Ю.А. Гордеев // Сборник материалов 2-го международного экологического форума «Чистый город, чистая река, чистая планета». – Херсон: 2010. – С. 146–150.

12. Уоринг, Ф. Физиология растений / Ф. Уоринг, И. Филипс. – М.: Мир, 1984. – 512 с.

13. Гордеев, А.М. Биофизические основы эколого-адаптивного земледелия / А.М. Гордеев // Монография. – Смоленск: Смядынь, 1999. – 316 с.

14. Гордеев, А.М. Оптимизация функционирования адаптивных механизмов корневых клеток локализацией минеральных удобрений: монография / А.М. Гордеев, А.Р. Цыганов, Л.С. Орсик, С.М. Вьюгин и др. – М.: ТСХА, 2006. – 282 с.

ФГБОУ ВПО «Смоленский государственный университет»,
214000, Россия, г. Смоленск, ул. Пржевальского, 4.
Тел.: (4812) 70-02-01, факс: (4812) 38-31-57,
e-mail: rectorat@smolgu.ru

SUMMARY

Y.A. Gordeev

MECHANISM OF PROTON BARRIER EFFECT ON WATER TRANPORTING THROUGH WATER CHANNELS WITH NORMALIZATION OF WATER-SALT METABOLISM OF PLANTS BY ELECTRIC STIMULATION UNDER STRESSFUL ENVIRONMENTAL CONDITIONS

Water performs vital functions for the life of plants. It supports the metabolism, which is also the source of power for plants. We developed the theory of the proton barrier which fully explains previously not clear phenomena in absorbing K+, CA++, NH4+ and NO3-, other ions by the roots in adverse conditions, as well as improving the trans-membrane transfer of plant food elements when applying low electrochemical or electrical fields to the crop root zone. The aim of this work was to study the peculiarities of the proton barrier mechanism for water transportation through water channels with the normalization of water-salt metabolism of plants by external stimulation under stressful environmental conditions (drought, compaction of the topsoil, the shortage of food elements). The evidence of the impact of proton barrier to water transportation in the root cells was obtained by carrying out numerous experiments with different kinds of cultivated plants. The work of the proton pump is several times more activated under stress. There is no time for protons to diffuse in the external solution and they accumulate in the apoplast. The PB formed not only creates a serious obstacle for the ion-transport processes and water supply in the root cells, but is an additional valid stress factor aggravating the negative effect of the latter on plants. But a weak electric field can improve water channel functions especially under stressful conditions. The field directed along the rhizosphere will delay ions from water channel and ensure the flow of water into the root cells. The described mechanism of the proton barrier effect for water transportation through channels reveals the before now missing link to the system of water-salt metabolism of plants: direct, immediate impact of electric charges in the cell on electrically neutral water molecules' entering protoplast.

Water, aquaporin, water channels, proton barrier, electric effect, water-salt metabolism, water supply for plants.

REFERENCES

1. Gordeev Y.A., Gordeev A.M., Zaharin A.A., Panichkin L.A. Protonnyi bar'er kak fenomen vodno-solevogo obmena rastenii [Proton barrier as a phenomenon of water-salt metabolism of plants]. *News of TSHA*, 2005, vol. 1, pp. 63-73.

2. Rubin B.A. *Problemy fiziologii v sovremennom rastenievodstve* [Problems of physiology in modern plant breeding]. Moscow, Kolos, 1978. 302 p.

3. Kislovsky L.D. Reaktsiia zhivykh sistem na slabye adekvatnye im vozdeistviia [Living system Reaction on weak adequate impac]. *Electromagnetic field in the biosphere*, 1984, vol. 2, pp. 16-26.

4. Henkel P.A. Adaptatsiia rastenii k ekstremal'nym usloviiam okruzhaiushchei sredy [Adaptation of plants to extreme environmental conditions]. *Physiology of plants*, 1978, vol. 25, no. 5, pp. 889-902.

5. Goodwin T., Mercer E. *Vvedenie v biokhimiiu rastenii* [Introduction to biochemistry of plants]. Moscow, Mir, 1986, vol. 1. pp. 212-219.

6. Udintsev N.A. Osobennosti obmena veshchestv i ego reguliatsii pri vozdeistvii elektromagnitnykh polei [Peculiarities of metabolism and its regulation when exposed to electromagnetic fields]. *Electromagnetic field in the biosphere*, 1984. vol. 2. pp. 108-115.

7. Warehou A.G. Fazovye perekhody v biomembranakh, indutsirovannye elektromagnitnym polem [Phase transitions in biomembranes, induced by electromagnetic field]. *Mechanism of action of magnetic and electromagnetic fields on biological systems of various organization levels*. Rostov-on-Don, 1989, pp. 19-20.

8. Murata K., Mitsuoka K., Hirai T., Walz T., Agre P., Heymann JB., Engel A., Fujiyosh Y *Structural determinants of water permeation through Aquaporin-1. Nature 407*, 2000, pp. 599-605.

9. Trofimova M.S., Zhestkova I.M., Sorokin E.M., Andreev I.M. Mesto i rol' akvaporinov v transporte vody v rasteniiakh [Place and role of aquaporins in the transport of water in plants]. *Bulletin of the Nizhniy Novgorod University. N.I. Lobachevsky. A Series Of Biology*, 2001, pp. 99-101.

10. Neely JD., Amiry-Moghada, M., Ottersen OP., Froehner SC., Agre P., Adams ME. Syntrophin-dependent expression and localization of Aquaporin-4 water channel protein. *Proc Natl Acad Sci USA 98*, 2001, pp. 14108-14113.

11. Gordeev Yu.A. Vysokoeffektivnoe vodoobespechenie rastenii v stressovykh usloviiakh global'nogo ekologicheskogo krizisa [Highly effective water supply plants in stressful conditions of global ecological crisis]. *Sbornik materialov 2-go mezhdunarodnogo ekologicheskogo foruma "Chistyi gorod, chistaia reka, chistaia planeta"* [Collection of materials of the 2-nd international ecological forum «Clean city net river, clean planet»]. Kherson, 2010, pp. 146-150.

12. Waring F., Philips I. *Fiziologiia rastenii* [Physiology of plants]. Moscow, Mir, 1984. 512 p.

13. Gordeev A.M. *Biofizicheskie osnovy ekologo-adaptivnogo zemledeliia* [Biophysical fundamentals of environmental-adaptive farming]. Smolensk, Smyadyn, 1999. 316 p.

14. Gordeev A.M., Tsyganov A.R., Orsik P.S., Vyugin S.M., Gordeev Y.A., Belokopytov V.N. *Optimizatsiia funktsionirovaniia adaptivnykh mekhanizmov kornevykh kletok lokalizatsiei mineral'nykh udobrenii* [Optimization of functioning of the adaptive mechanisms of root cells localization of mineral fertilizers]. Moscow, TAA, 2006. 282 p.

Smolensk state University ,
4, Przhevalsky street, Smolensk, 214000 Russia.
Phone: (4812) 70-02-01, fax: (4812) 38-31-57,
e-mail: rectorat@smolgu.ru

Дата поступления: 06.06.2014