

О ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВАХ ВОДЫ В ЦИТОПЛАЗМЕ КЛЕТОК РАСТЕНИЙ

© 2023 г. Л. Н. Галль^{а,*}, Т. Э. Кулешова^{б,с}, Н. Р. Галль^с, А. С. Бердников^а, И. Р. Галль^а

^аИнститут аналитического приборостроения РАН, Санкт-Петербург, Россия

^бАгрофизический научно-исследовательский институт, Санкт-Петербург, Россия

^сФизико-технический институт им. А.Ф. Иоффе РАН, Санкт-Петербург, Россия

*e-mail: lngall@yandex.ru

Поступила в редакцию 31.05.2022 г.

После доработки 22.06.2022 г.

Принята к публикации 23.06.2022 г.

Рассматриваются физико-химические свойства водной компоненты цитоплазмы живой клетки и межклеточной жидкости, связанные с их структурной организацией. Структура водной компоненты растения, как единой целостной системы, играет важнейшую роль в его водном режиме, и в силу этого определяет развитие и приспособляемость растения к условиям внешней среды. В экспериментальных исследованиях водного режима растений впервые применена низкочастотная L-диэлькометрия. По изменению интенсивностей пиков в спектре зависимости тангенса диэлектрических потерь от частоты ЭМП в условиях искусственной засухи различных фитотест-объектов, показано присутствие в живых растениях воды двух типов: свободной и самоорганизованной связанной. Свободная вода ответственна за режим испарения, а связанная участвует в процессе организации сложной сети межклеточных коммуникаций, включая передачу различных сигналов через предполагаемые синапсоподобные контакты. Полученные результаты полностью коррелируют с результатами фитомониторинга растений, проводимых в Казанской научной школе физиологов методом импульсного ЯМР. Вывод об одновременном присутствии в живом растении структур воды двух типов теоретически обосновывается на основе обобщенной кристаллографии с использованием модульного компьютерного дизайна Бульенкова и является важнейшей составляющей концепции квантовой биоэнергетики.

Ключевые слова: растения, вода, цитоплазма, биополимеры, L-диэлькометрия, компьютерный модульный дизайн, квантовая биоэнергетика, метод импульсного ЯМР

DOI: 10.31857/S0044453723010089, EDN: BVQNKU

ВВЕДЕНИЕ

Цитоплазма является главным реакционным пространством любой живой клетки. Именно в цитоплазме, до 70% которой составляет вода, протекает большинство процессов деградации питательных веществ и синтеза структурных компонентов клетки, а также почти весь промежуточный метаболизм: гликолиз, биосинтез жирных кислот и белков и множество других биохимических процессов. Во всех этих процессах принимает участие водная компонента цитоплазмы, и именно состояние воды в ней определяет водный режим клетки, признанно играющий важнейшую роль во всех клеточных физиологических процессах. Не менее важную роль играет межклеточная водная составляющая, состояние воды в которой определяет связь между клетками в целомом растения. Под состоянием воды далее будут пониматься проявляемые водой физико-химические свойства, в свою очередь зависящие от структур-

ной организации водной компоненты растения, как единой целостной системы цитоплазмы и межклеточной среды.

Несмотря на несомненную важность вопроса о структурной организации воды в цитоплазме клетки, соответствующие исследования длительное время проводились крайне ограниченно, поскольку еще в 80-х годах прошлого века в молекулярной биологии “изучение особой роли воды в живых системах” было отнесено к “ложной биофизике” [1] и практически в большинстве научных центров такие исследования были прекращены.

Огромную роль в признании водной компоненты цитоплазмы не просто растворителем, а элементом целостной системы воды, структурированной находящимися в ней клеточными органеллами, биополимерами, молекулами и ионами, сыграли работы Казанской школы физиологов растений, созданной в 30-х годах прошлого сто-

летия в Казанском государственном университете учеником выдающегося биофизика В.В. Лепешкина профессором А.М. Алексеевым. Исследования водного обмена растений в этой научной школе ведутся в КГУ с 60-х годов прошлого века с использованием наиболее мощных физических методов, в том числе — метода импульсного ЯМР, весьма информативного при изучении состояния водной среды живой клетки. Этот метод является также очень удачным в изучении клеточного и организменного водного обмена для живых растений, т.е. без их уничтожения. Результаты проведенных исследований представлены в публикациях этой научной школы, систематизированных в обзоре [2].

Мощным физико-химическим методом, позволяющим получать информацию о структуре водной среды растворов, является метод низкочастотной L-диэлькометрии [3]. Этот метод был нами использован в экспериментах по получению информации об изменении свойств водной среды цитоплазмы растительных клеток и межклеточного пространства живых растений в условиях искусственной засухи, проводимых в Институте аналитического приборостроения (ИАП РАН) совместно с Агрофизическим научно-исследовательским институтом (АФИ) и Физико-техническим институтом им. А.Ф. Иоффе РАН (ФТИ РАН). Полученные результаты, свидетельствующие об одновременном присутствии в живом растении воды с двумя различными типами структурной организации, как оказалось, полностью коррелируют с результатами, изложенными в публикациях Казанской школы физиологов. Это позволяет далее при обсуждении результатов распространить предлагаемую теоретическую модель на обе группы результатов о структурировании воды в растениях, включая данную работу и работы Казанской школы физиологов.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Объекты исследования

Объектами исследования физико-химических свойств водной компоненты живой системы, обсуждаемых в данной работе, являлись растения различных видов, различающихся по своей реакции на такие внешние условия, как дефицит воды (искусственная засуха). В качестве объектов использовались листья хлорофитума, лимона и кресс-салата, выращенного в контролируемых условиях.

Метод исследования

Низкочастотная L-диэлькометрия является экспериментальным методом, позволяющим получать достоверную и воспроизводимую струк-

турную информацию об изменениях водной компоненты в любых водных растворах сложного состава [3–5], к которым относится и цитоплазма живых клеток, и структура водной компоненты межклеточного пространства. В диэлькометрии для характеристики растворов, как правило, в качестве параметра, передающего информацию о структурированности водной компоненты, используется тангенс угла диэлектрических потерь ($\text{tg } \delta$). В низкочастотной L-диэлькометрии исследуемый объект в стеклянной пробирке — раствор, подготовленный препарат, цельные растения, насекомые, мелкие животные и т.д. — помещается в соленоид колебательного контура. Измерения проводятся при резонансе контура на заданной частоте электромагнитного поля. При этом измеряемыми параметрами являются добротность Q и емкость C контура в резонансе без пробы (индекс 1) и при введении пробирки с пробой в соленоид L-колебательного контура (индекс 2). Далее по величинам $Q_{1,2}$ и $C_{1,2}$ рассчитывается тангенс диэлектрических потерь для этой частоты по формуле $\text{tg } \delta = (Q_1 C_1 - Q_2 C_2) / (Q_1 Q_2 (C_1 - C_2))$ [4]. Методика измерений методом L-диэлькометрии и полученные ранее результаты исследования модельных растворов, как электролитов, так и биологически активных соединений, подробно изложены в [3, 5].

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В процессе исследований рассматривались изменения состояния водной компоненты клеток и межклеточной жидкости зеленой массы растений хлорофитума, листьев лимона и кресс-салата, различающихся по своей засухоустойчивости. Для каждого из растений полный цикл измерений проводился трижды. Измерения проводились следующим образом. Зеленая масса свежесрезанных растений взвешивалась, а затем помещалась в пробирку и проводилось измерение спектра $\text{tg } \delta$ в частотном диапазоне 100–600 КГц. После каждого измерения растения извлекались из пробирки и выдерживались на воздухе для подсушивания, после чего потери воды определялись взвешиванием. Затем растения вновь помещались в пробирку и измерение $\text{tg } \delta$ повторялось. Эта процедура выполнялась до полного высыхания растений, которое для кресс-салата составляло не более трех дней, а для листьев хлорофитума — около двух недель.

На рис. 1 приведен участок спектра в диапазоне частот 100–250 КГц, демонстрирующий сложный спектральный состав зависимости тангенса диэлектрических потерь ($\text{tg } \delta$) от частоты, отражающий структурирование молекул воды цитоплазмы клеток зеленой части кресс-салата.

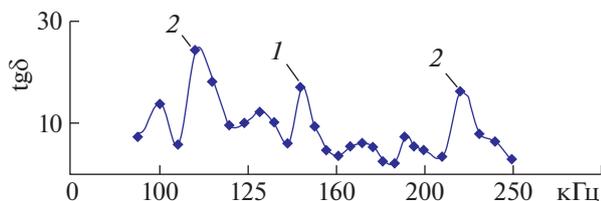


Рис. 1. Типовой спектр тангенса диэлектрических потерь свежей зеленой массы кресс-салата. Обозначения см. текст.

Такие спектры для каждого пучка зеленой массы кресс-салата снимались 7 раз до его полного высыхания по внешнему виду. Высыхание также фиксировалось по отсутствию каких-либо изменений резонанса колебательного контура диэлькометра при внесении в него пробирки с растением. При этом, как показывают эксперименты, набор пиков в спектре в процессе высыхания зеленой массы растения не изменяется ни по числу, ни по положению пиков, хотя сами пики в спектре $\text{tg } \delta$ ведут себя по-разному. Для идентификации этих пиков пока недостаточно данных, но зато отмечено, что пики $\text{tg } \delta$ на частотах 110 КГц и 220 КГц (2), несмотря на высыхание зеленой массы и потерю ею веса, длительное время практически не изменялись по высоте, в то время как пик $\text{tg } \delta$ на частоте 145 КГц (1), вначале несколько возрастал, а затем резко падал еще до окончания полного высыхания. Это позволяет считать, что эти пики относятся к структурам воды разного происхождения.

На рис. 2 представлены две зависимости изменения высоты пиков $\text{tg } \delta$ в спектре при высыхании зеленой массы кресс-салата, отражающие водные структуры этих двух типов. Под индексом 1 показано изменение амплитуды пика на частоте 145 КГц. Ранее этот пик в модельном растворе NaCl [5] был идентифицирован, как пик, соответствующий напряжению сетки водородных связей дистиллированной воды ионом Na^+ . Для исследуемых растений такой пик представляет сумму структур, создаваемых ионом Na^+ в цитоплазме клеток и межклеточной жидкости всех растений в пробирке. Как следует из рисунка, этот пик вначале несколько возрастает, а затем уменьшается по высоте, и при потере более 50% воды практически выходит за пределы измерения. Аналогично ведут себя пики на частотах 190 и 350 КГц, которые по этому признаку можно также отнести к водным структурам, созданным какими-либо ионами.

Индексом 2 на рис. 2 представлено изменение в тех же условиях пиков на частоте 110 КГц. Этот пик практически не изменяется по величине $\text{tg } \delta$

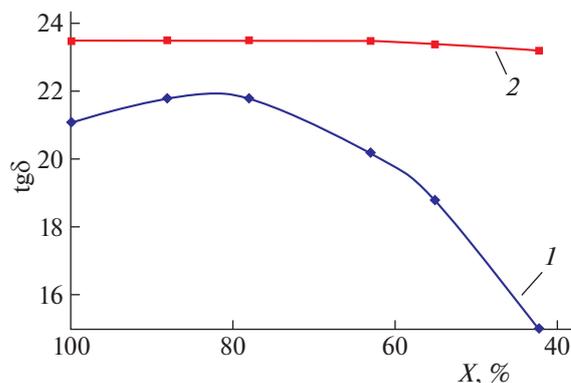


Рис. 2. Изменение величины $\text{tg } \delta$ пиков структур воды, образованных: 1 – ионом Na^+ в “свободной” воде; 2 – структурами биополимеров.

диэлектрических потерь почти до полного высыхания зеленой массы.

Аналогичное поведение структур воды как первого, так и второго типа при высыхании растений отмечалось и для спектров зелени хлорофитума и листьев лимона. Разница между ними заключалась только в скорости уменьшения амплитуды для группы пиков, соответствующих свободной воде, напряженной ионами. При этом для хлорофитума наблюдалось следующее: для листьев, внешне полностью засохших, диэлькометр, тем не менее, показывал наличие воды: в спектре сохранялось несколько пиков, почти не изменившихся по величине. Пучок этих, внешне засохших листьев, был поставлен в воду, и несколько листьев вновь позеленели. После этого в спектре $\text{tg } \delta$ этих листьев вновь появились ранее исчезнувшие пики, относящиеся, как следует из эксперимента, к свободной воде, напряженной ионами.

СРАВНЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ С РЕЗУЛЬТАТАМИ ИССЛЕДОВАНИЙ КАЗАНСКОЙ ШКОЛЫ ФИТОФИЗИОЛОГОВ

Экспериментальные результаты более чем 60-летних исследований состояния и транспорта воды в тканях и клетках растений, полученные на кафедре физиологии растений Казанского государственного университета (КГУ) методом импульсного ЯМР-спиновое эхо, безусловно, представляют собой эксклюзивные данные для интерпретации водного клеточного и межклеточного обмена растений. Метод, использованный в этих исследованиях, отличается высокой чувствительностью к движению частиц на атомно-молекулярном уровне и, кроме того, вследствие низкого уровня воздействия радиочастотного импульсного поля в течение микросекундных отрезков, он практически не нарушает состояния растения [6].

Это определяет его возможности при изучении состояния и транспорта воды в растениях [7]. Большое количество уникальных результатов, полученных в исследованиях при изучении засухоустойчивости растений, изложены в обзоре [2] и состоят в следующем.

1. Показано что во всех живых растениях наблюдаются два состояния спин-спиновой релаксации: короткое и длинное, связанные с особой структурной организацией водной компоненты цитоплазмы.

2. Показано, что в лиофильно высушенных растениях медленная релаксация отсутствует, что позволяет отнести это состояние к свободной воде, а состояние с быстрой релаксацией – к связанной.

3. Установлена прямая зависимость между подвижностью молекул воды и интенсивностью испарения воды, что свидетельствует о влиянии молекулярной динамики воды на ход физиологических процессов.

4. Проведено изучение межклеточного транспорта воды и отмечено исключительно важное значение в связи с его участием в организации сложной сети межклеточных коммуникаций, включая передачу различных сигналов через предполагаемые синапсоподобные контакты [8, 9]. Предложена гипотеза существования двух транспортных каналов – цитоплазматического и вакуолярного, соединяющих в единые надклеточные континуумы соответствующие компартменты соседних клеток.

Как следует из предыдущего раздела, все экспериментальные результаты, полученные в данной работе методом Л-диэлькометрии, полностью коррелируют с результатами, полученными методом ЯМР-спиновое эхо в работах Казанской школы физиологов. Особенно важно совпадение результатов, демонстрирующих существование двух типов водных структур: свободной воды, связанной с процессом испарения, и связанной воды, присутствующей и в клетках, и в листьях растений, где наблюдается организация воды в межклеточных коммуникациях.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Как уже отмечалось во введении, жесткое неприятие “особого состояния воды в живом” [1] на многие десятилетия остановило исследования водной компоненты растений, как целостной молекулярно-водной системы, практически прекратив их в большинстве научных центров, занимающихся цитологией. Длительное время даже упоминание о структурировании воды в цитоплазме клеток в статьях, посвященных физиологии клеток, не допускалось. Но уже в 2006 году директор ИХФ РАН академик А.Ю. Цивадзе в

предисловии к коллективной монографии “Структурная самоорганизация в растворах и на границе раздела фаз” писал: “За сравнительно небольшой промежуток времени термин “самоорганизация” по отношению к воде стал одним из наиболее часто используемых в современной науке” [10]. К настоящему времени в ИОНХ РАН проведены фундаментальные теоретические и экспериментальные исследования, посвященные эффекту напряжения сетки водородных связей ионными примесями в водных растворах. В этих исследованиях всесторонне рассмотрено электростатическое структурирование воды ионами, так что этот эффект не требует дополнительного обсуждения [11]. Именно к этому эффекту структурирования следует отнести водную компоненту в цитоплазме клеток растений, по данным ЯМР-спиновое эхо характеризуемую, как подвижная “свободная” вода. При этом Л-диэлькометрия показывает, что эту же компоненту цитоплазмы следует характеризовать как водный раствор ионов и нейтральных примесей, в котором сетка водородных связей воды электростатически напряжена примесями, и, прежде всего, ионами.

Иное дело – эффект структурирования воды на гидрофильных центрах биополимеров, имеющий важнейшее физиологическое значение и составляющий одно из основополагающих звеньев биоэнергетики. Этот эффект впервые был обнаружен и описан Д. Александером [12], но в полной мере его стало возможно не только объяснить, но и достаточно надежно предсказать на основе предложенного и обоснованного Н.А. Бульенковым эффекта структурирования жидкой воды в широком диапазоне температур выше температуры фазового перехода. Разработанный Н.А. Бульенковым метод модульного дизайна [13, 14], впервые позволил установить три главных признака, характеризующих структурирование воды на гидрофильных центрах биополимеров, определяющее второе состояние воды в живых клетках. Во-первых, молекулы воды в цитоплазме при температуре, существенно выше температуры фазового перехода воды в лед, самоорганизуются в упорядоченные, но некристаллические структуры. Во-вторых, эти структуры являются энергонапряженными, т.е. их образование и длительное существование и иерархическое наращивание намного лучше происходит при поддержании потоком квантов энергии, идущими от биополимеров. В-третьих, при своем разрушении эти структуры выделяют избыток своей энергии [15, 16]. Именно энергонапряженность водородных связей – неотъемлемое состояние структур жидкой воды, образующихся на биополимерах в клетках, позволяет объяснить многие, ранее не объяснимые экспериментальные факты, наблюдаемые для живых организмов.

Рассматриваемые структуры состоят из фрагментов спиралей 30/11, которые получаются введением определенной диспирации в гексагональный канал структуры кристаллического льда 1h [13]. Из тех закрученных друг за друга смежных спиралей 30/11 была получена стержневая структура, которая, во-первых, может образовывать различные приближения к фракталу; во-вторых, способна путем кооперативного перехода переходить в стержневой фрагмент структуры льда 1h и, в-третьих, выделять при этом запасенную упругую энергию связей, так как является напряженной [15, 16].

В квантовой биоэнергетике живого [17, 18] было предложено считать, что именно подобные фрактальные структуры, образованные молекулами воды, связывающие между собой биополимеры и биомолекулы в цитоплазме живой клетки и между клетками, образуют протяженные молекулярно-водные системы, проходящие через весь живой организм, в данном случае – через все растение. Эта интерпретация полностью совпадает с результатом экспериментов, полученных методом ЯМР-спиновое эхо, представленном ранее под номером 4.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ И ВЫВОДЫ

Таким образом, результаты, полученные методом низкочастотной L-диэлькометрии высокого разрешения, и дополненные результатом, полученным методом импульсного ЯМР, совместно интерпретированные на основе современных теоретических представлений о структурировании воды ионами (электростатическое напряжение структуры воды) и гидрофильными центрами биополимеров, позволяют сделать следующие общие выводы.

1. Вода в клетках и между клетками растений находится в структурированном состоянии.

2. Во всех живых растениях наблюдаются два состояния структурированной воды: свободное и связанное, характеризующие состояние водной среды живых растений.

3. Отсутствие свободного состояния в лиофильно высушенных растениях, показанное методом спинового эха, и снижение, по мере высыхания растений, величин пиков, относящихся к напряжению сетки водородных связей воды ионами, показанное методом L-диэлькометрии, позволяет отнести первое состояние к свободной воде, структурированной ионами и другими примесями.

4. Длительное, почти до полного высыхания растения, сохранение неизменными по величине ряда пиков в спектре тангенса диэлектрических потерь позволяет подтвердить их связь с биопо-

лимерами в цитоплазме, и отнести второе состояние структурированной воды в живом к эффекту гидратации биополимеров.

5. Гидратация биополимеров с образованием стержневых энергонапряженных фрактальных кристаллических связей, описанных в работах Н.А. Бульёноква и его учеников, между биополимерами в цитоплазме живых клеток и между клетками может являться полноценной физической моделью при изучении межклеточного транспорта воды и передачи энергетических сигналов в живом организме.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Волькенштейн М.* Физика и биология. М.: Наука, 1980. 152 с.
2. *Хохлова Л.П., Бочкарева М.А.* // Ученые записки Казанского государственного университета 2009. Т. 151. № 4. С. 73.
3. *Галль Л.Н., Максимов С.И., Скуридина Т.С., Галль Н.Р.* // Научное приборостроение. 2016. Т. 26. № 1. С. 12.
4. *Семихина Л.П.* // Там же. 2005. Т. 15. № 4. С. 38.
5. *Галль Л.Н., Бердников А.С., Галль И.Р. и др.* // Там же. 2020. Т. 30. № 2. С. 3.
6. *Анисимова А.В., Раткович С.* Транспорт воды в растениях. Исследования методом импульсного ЯМР. М.: Наука, 1992. 144 с.
7. *Анисимова А.В., Еварестов А.С., Самуилова И.Ф., Гусев Н.А.* // Докл. АН СССР. 1983. Т. 271. № 5. С. 1246.
8. *Великанов Г.А., Волобуева О.В., Опанасюк О.А., Хохлова Л.П.* // Структура и динамика молекулярных систем. М.: 2000. Вып. 7. С. 126.
9. *Великанов Г.А.* // Физиол. растений. 2007. Т. 54. № 5. С. 770.
10. Структурная самоорганизация в растворах и на границе раздела фаз. Серия: Проблемы химии растворов. Отв. редактор – ак. А.Ю. Цивадзе. М.: Изд-во ЛКИ, 2008. 544 с. Предисловие ак. А.Ю. Цивадзе.
11. *Лященко А.К., Новскова Т.А.* // Структурная самоорганизация в растворах и на границе раздела фаз. Серия: Проблемы химии растворов. Гл. 7. С. 417.
12. *Alexander D.M., Krumhansl A.* // Phys. Rev. B. 1986. V. 33. P. 7172.
13. *Бульёнок Н.А.* // Биофизика. 1991. Т. 36. № 2. С. 181.
14. *Бульёнок Н.А.* // Там же. 2005. Т. 50. № 5. С. 620.
15. *Bulienkov N.F., Zheligovskaya E.A.* // Structural Chemistry. 2017. V.28. № 1. P. 75.
16. *Желиговская Е.А., Бульёнок Н.А.* // Биофизика. 2017. Т. 62. № 5. С. 837.
17. *Галль Л.Н., Галль Н.Р.* // Человек и электромагнитные поля. Саров, ИЭФ. 2014. Т. 5. С. 67.
18. *Галль Л.Н.* Физические принципы функционирования материи живого организма. Монография. С.-Петербург: Изд. СПбГПУ, 2014. 400 с.