

2. АПСОРПЦИЈА НА ЈОНИ И ОРГАНСКИ СОЕДИНЕНИЈА

За разлика од вештачките семипермеабилни (полупропустливи) мембрани, биолошките мембрани можат да ги пропуштаат некои минерални соли и органски киселини. Примањето на растворените соли, јони и органски материи преку биолошките мембрани не зависи само од физичките својства на мембраните туку и од метаболитичките процеси во цитоплазмата. Според тоа, познавањето на мембранските активности, односно транспортот на јони низ различни мембрани е неопходно потребно за разбирање на другите биохемиско-физиолошки процеси.

2.1 Акумулација на јони во клетките

Многу истражувања покажале дека растителните клетки имаат способност да акумулираат јони во значително поголема концентрација од онаа во надворешниот раствор. Така на пр., алгата *Chara* има способност да акумулира некои јони во многу високи концентрации, иако живее во слатките води кои имаат ниска концентрација на соли. Исто така, калиумот (за 1900 пати), хлорот (за 1350 пати), натриумот (за 400 пати), калциумот (за 4 пати) и магнезиумот (за 3 пати) ги има во поголема концентрација во клетките отколку во водата. Селективната акумулација е уште повпечатлива кај морската алга *Valonia*, каде што натриумот во клетките го има за 10 пати помалку, а калиумот за 60 пати повеќе отколку во морската вода, додека, концентрацијата на хлорот не е многу променета. Слични вакви податоци биле добиени и при истражувањата за количеството на јони во корените кај вишите растенија и почвата.

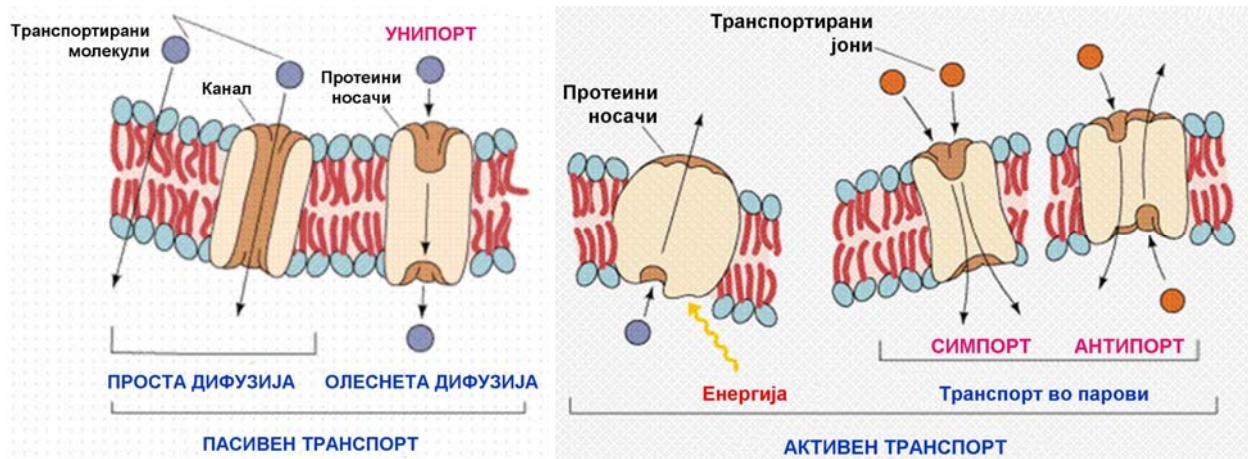
2.1.1 Неметаболичка акумулација на јони

Појавата на акумулација на јони во клетката по пат на дифузија, но кога не се зема предвид метаболичката енергија на клетката се вика **неметаболичка акумулација** и се остварува преку **пасивен транспорт** (Сл. 2.1). Пример за ваков тип на акумулација на јони е кога клетката ќе се постави во раствор од бојата неутрално црвено. Бојата преку дифузија лесно ќе навлезе во клетката, а потоа во цитоплазмата ќе дисоцира во јони за кои плазмалемата е непропустлива. Како резултат на тоа, бојата може да ја има во клетката за 30 пати повеќе отколку во надворешната средина.

Donnan (1911) го објаснил т.н. **Донанов потенцијал**, кој се јавува во случај кога во еден простор се наоѓаат неподвижни јони, кои не се во можност да дифундираат, бидејќи се опколени со воден раствор. На пр., во состав на некои клеточни структури можат да се најдат неподвижни јони, како што се карбоксилните групи ($-\text{COO}^-$) на пектинската киселина кои се вградени во клеточниот сид. Исто така, неподвижни анјони може да се забележат и во состав на протеините и фосфолипидите на надворешната страна од мембраната која ја спречува нивната дифузија. Сите овие неподвижни анјони можат да се поврзат за соодветно количество на катјони, кои на тој начин во **Донановиот простор** се многу повеќе концентрирани отколку во околниот раствор. Всушност, кога ќе се воспостави ваквата **Донанова рамнотежа** се појавува градиент на концентрација на катјони помеѓу клетката и надворешната средина или локално помеѓу клеточните компартменти. Но, и покрај тоа што катјоните не се во состојба да дифундираат, тие може да бидат заменети со некои други катјони од надворешниот раствор. Примањето на јони врз основа на Донановата рамнотежа е уште еден пример за неметаболичка акумулација.

2.1.2 Метаболичка акумулација на јони

Неметаболичката акумулација на јоните опфаќа само некои посебни примери, бидејќи најчесто при акумулација на јоните во клетките се троши енергија, а извори на енергија во растителните клетки се двата метаболички процеси: фотосинтезата и дишењето. Така на пр., при примање на елементот бром од клетките алгата *Nitella* било утврдено дека примањето на овие јони е зависно од интензитетот на светлината. Во листовите на воденото растение *Vallisneria* било откриено дека акциониот спектар (брановата должина на активната светлина) е ист како и акциониот спектар на фотосинтезата. Кај клетките што не вршат фотосинтеза, како што се отсечените дискови од кртолите на компирот, количеството на апсорбиралиот бром бил сразмерен со интензитетот на дишењето, односно концентрацијата на O_2 . Исто така, кај растенијата може да се зголеми интензитетот на дишењето во присуство на соли (KCl), при што се ослободува енергија. При процесите на фотосинтеза и дишење, енергијата се појавува врзана во иста форма, како енергија на фосфатните врски во молекулот на аденозин трифосфат (АТФ). Всушност, при хидролиза на фосфатните врски ($ATP \rightarrow ADP + P_i$), енергијата што овие врски ја содржат може да се искористи за некои други процеси во клетките, како што се синтеза на некои соединенија или за акумулација на јони во клетката. Според тоа, акумулацијата на јоните со учество на енергија што е добиена со хидролиза на АТФ се вика **метаболичка акумулација** и се одвива преку **активен транспорт** (Сл. 2.1).



Сл. 2.1 Пасивен и активен транспорт во растителната клетка (Purves и сор., 2004).

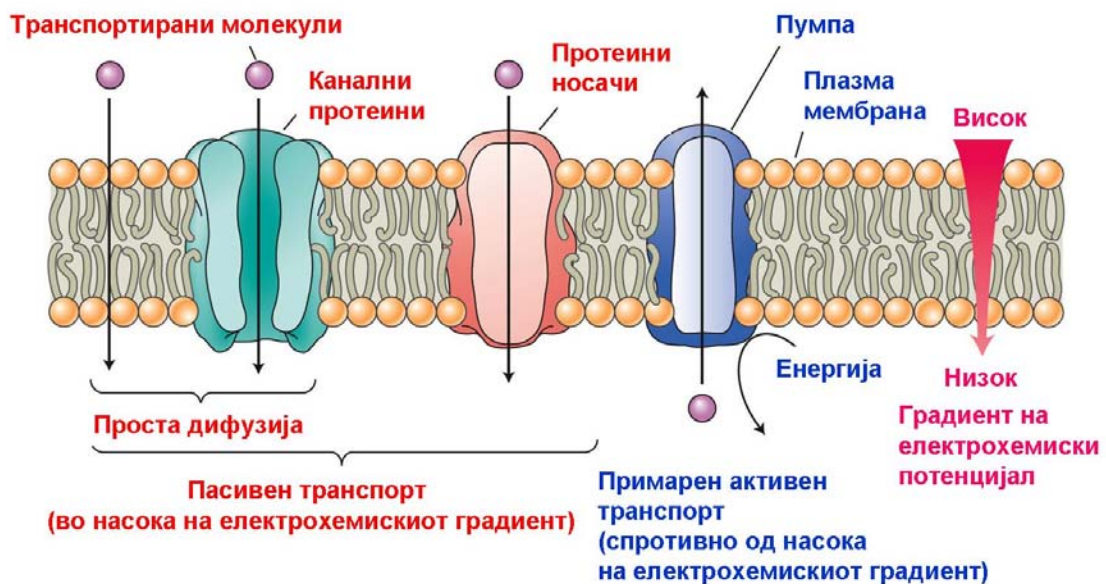
2.1.3 Електрохемиски потенцијал на јоните

Познато е дека сите биолошки мембрани имаат ниска електрична спроводливост и слаба пермеабилност за јоните. Според тоа, тие претставуваат ефикасна бариера низ која електролитите не се во состојба да поминат по пат на дифузија. Сепак, транспортот на електролитите низ мембраните зависи од хемискиот и електричниот потенцијал што се нарекува како **електрохемиски потенцијал**. Кога вкупниот број на анјони и катјони, односно носителите на позитивниот и негативниот полнеж од двете страни на мембраните е изедначен (без разлика на видот на јоните), тогаш воспоставувањето на електрохемиската рамнотежа е решавачки фактор за акумулација на јоните во клетката.

2.2 Мембрански протеини учесници во активниот транспорт

Биолошките мембрани се пропустливи (пермеабилни) само за водата и некои мали липофилни молекули. Оваа особина на мембраната го спречува слободниот проток на различни јони и метаболити, како низ клеточните компартменти, така и помеѓу клетката и нејзината надворешна средина. Според тоа, размената на соединенијата за кои мембраната е непропустлива се врши со помош на посебни **транспортни системи**. Овие транспортни системи претставуваат различни интегрирани **мембрански протеини**, чие постоење и функција се откриени прво кај анималните и бактериските мембрани, а потоа и кај растителните клетки. Според денешните истражувања кај растителните мембрани постојат најмалку четири категории на транспортни мембрански протеини кои учествуваат во активниот транспорт (Сл. 2.2):

- **Јонски пумпи**, што го вршат активниот транспорт на јоните и тоа само во една насока. Меѓу нив се вбројуваат **електрогените протонски пумпи**, кои пренесуваат протони (H^+) од едната на другата страна на мембраната со што се остварува **трансмембранскиот електрохемиски градиент на протони**.
- **Котранспортери** или **пренесувачи (носачи)** се протеини кои го вршат т.н. **котранспортот**, односно транспортот на протони заедно со некој друг јон или со органско соединение. Притоа, транспортот на протони се одвива низ електрохемискиот потенцијал на протоните, а органското соединение се пренесува во иста насока со протоните (**симпорт**) или во спротивна насока од протоните (**антипорт**).
- **Јонски канали** се протеини низ кои пасивно поминуваат специфични јони низ електрохемискиот градиент, а нивното отворање е регулирано со различни фактори.
- **ABC транспортери** припаѓаат на посебна група кои главно пренесуваат многу метаболички производи од цитоплазмата во вакуолата.



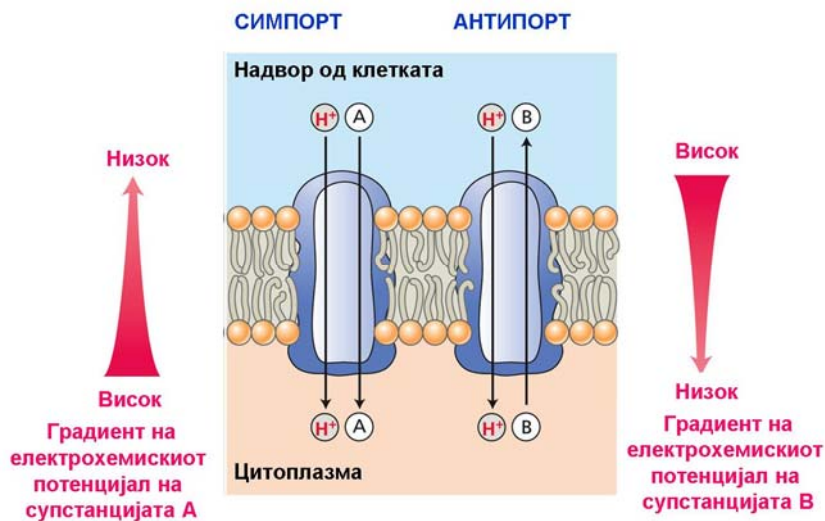
Сл. 2.2 Три типа на транспортни мембрански протеини: канали, носачи и пумпи. Каналните протеини и протеините носачи учествуваат во пасивниот транспорт на молекулите низ мембраната (проста и олеснета дифузија) во насока на градиентот на електрохемискиот потенцијал. Каналните протеини дејствуваат како мембрански пори и имаат специфични биофизички својства (на канал). Протеините носачи ги врзуваат молекулите на едната страна од мембраната, ги транспортираат и ги ослободуваат на другата страна од мембраната. Примарниот активен транспорт се одвива со помош на пумпи што ги транспортираат молекулите спротивно на градиентот на електрохемискиот потенцијал, а за нивна активност е потребна енергија (хидролиза на АТФ) (Taiz и Zeiger, 2006).

2.2.1 Примарен и секундарен активен транспорт

Поделбата на транспортните протеини во четири категории е базирано на видот енергија што тие ја користат за извршување на работа. Така на пр., јонските пумпи се ензими **аденозин трифосфатази** (АТРази), кои го хидролизираат АТР и со помош на ослободената енергија ги пренесуваат јоните секогаш во одредена насока независно од нивната концентрација. Во растителните клетки, примарни учесници во активниот транспорт се протонските **H⁺-АТРази**. Тие пренесуваат протони од цитоплазмата во апопластот или во вакуолата. Всушност, протонските АТРази вршат конверзија на хемиската енергија од фосфатните врски во потенцијална електрична енергија. Според тоа, енергијата што се ослободува од овој градиент се нарекува **протонска моторна сила**, а самиот процес е познат како **примарен активен транспорт** (Сл. 2.2). Протонската моторна сила зависи од:

- разликата во електричниот потенцијал, кој се определува според тоа што цитоплазмата секогаш е негативно наелектризирана во однос на вакуолата и апопластот.
- разликата во концентрацијата на H⁺ јони, која се базира на високата рН вредност во цитоплазмата.

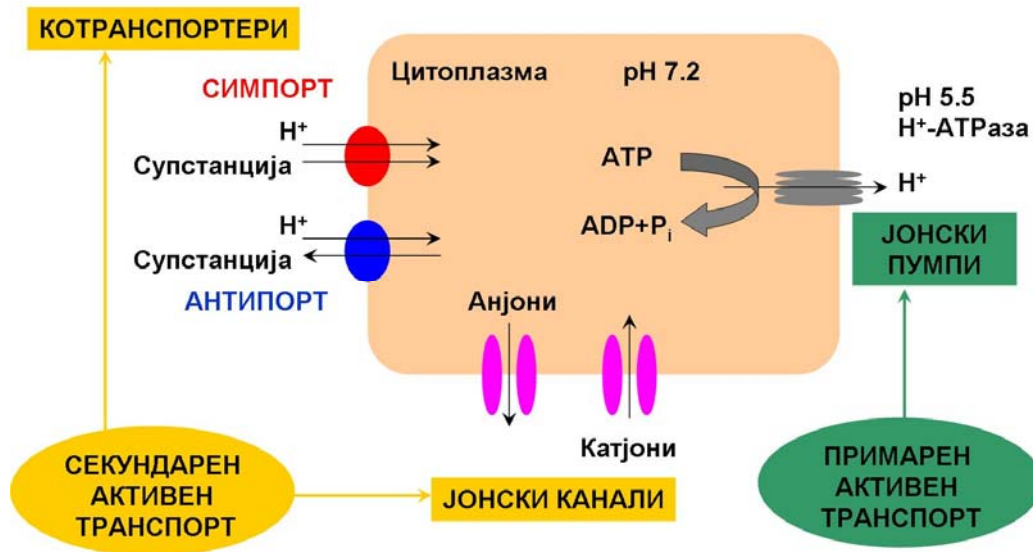
Овие две карактеристики на протонската моторна сила го поттикнуваат транспортот низ јонските канали и котранспортерите. Исто така, се овозможува враќање на протоните во цитоплазмата преку пренесувачите кои во исто време транспортираат некој друг јон или органско соединение. Транспортот низ јонските канали и пренесувачите се врши со помош на енергија добиена од активниот транспорт на протоните и затоа овој транспорт се вика **секундарен активен транспорт** (Сл. 2.3).



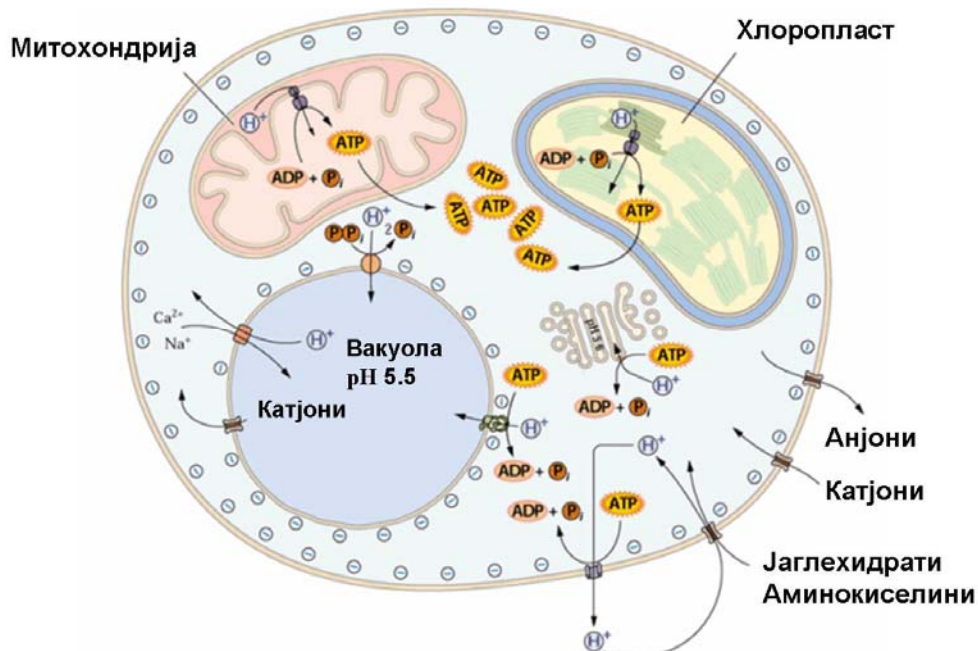
Сл. 2.3 Секундарен активен транспорт на молекули во иста насока (симпорт) или во спротивна насока (антипорт) (Taiz и Zeiger, 2006).

Врската помеѓу примарниот и секундарниот транспорт е прикажана на Сл. 2.4. Протонската моторна сила има врска со функцијата на електрон-транспортниот синџир во мембраните на хлоропластите и митохондриите. Според **хемиосмотската хипотеза** (Mitchell, 1979), трансмембранскиот потенцијал претставува енергија која може да биде поврзана со повеќе процеси (Сл. 2.5). Во хлоропластите и митохондриите, трансмембранскиот потенцијал се користи за синтеза на АТР, а во други случаи се користи за транспорт низ мембраната. Всушност, главната разлика помеѓу активниот транспорт и синтезата на АТР се состои во начинот на кој се остварува трансмембранскиот потенцијал. Во митохондриите и хлоропластите тоа

се случува како резултат на транспортот на електрони, а кај другите мембрани при работа на електрогените протонски пумпи.



Сл. 2.4 Шематски приказ на врска помеѓу примарниот и секундарниот активен транспорт во растителната клетка. Од сите примарни електрогени јонски пумпи прикажана е само протонската H^+ -АТРаза со чија активност се воспоставува разлика во pH вредноста и во мембранскиот потенцијал помеѓу цитоплазмата и апопластот. Секундарниот активен транспорт го вршат котранспортери и јонски канали. Котранспортерите ги враќаат протоните во клетката и освен нив пренесуваат и некоја друга супстанција или јон во иста насока (симпорт) или во спротивна насока (антипорт). Јонските канали овозможуваат транспорт на јони низ градиентот на потенцијалот односно навлегување на катјони и излегување на анјони.



Сл. 2.5 Шема на хемиосмотските процеси во растителната клетка (Buchanan и сор., 2002).

2.3 Јонски пумпи - аденозин трифосфатази (АТРази)

Аденозин трифосфатазите (АТРази) се протеини кои ги пренесуваат јоните на водород (H^+), калиум (K^+), натриум (Na^+) и калциум (Ca^{2+}) со помош на енергијата

што се добива при хидролиза на АТР. Мембраните на растителните клетки содржат протонски (H^+ -АТРаза) и калциумови (Ca^{2+} -АТРаза) АТРази.

Некои АТРази пренесуваат ист број на позитивни и негативни јони во спротивни насоки, при што не доаѓа до промена на електричниот потенцијал. Овие АТРази се наречени **неутрални пумпи**. При транспортот, кај растителните мембрани доминантни се **електрогените пумпи**, кои пренесуваат јони само во една насока, како што се **унипорт** пумпите.

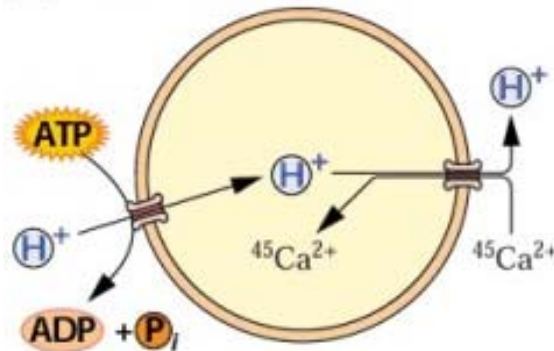
Протонските електрогени пумпи (H^+ -АТРази) пренесуваат само протони, а со тоа формираат електрохемиски градиент на двете страни од мембраната. Постојат три типа на протонски АТРази, кои се разликуваат по структурата и местото на кое се наоѓаат (Sze и сор., 1999). Тие се:

- **Р-тип**, АТРаза на клеточната мембрана кај растенијата и габите, а нејзината функција е да излачува протони од цитоплазмата во апопластот (Сл. 2.6).
- **V-тип**, АТРаза на тонопластот (tpАТРаза), која излачува протони од цитоплазмата во вакуолата, а може да се најде и во лизозомите и везикулите со обвивка.
- **F-тип**, АТРаза на внатрешните мембрани на хлоропластите и митохондриите. Таа ги спроведува протоните, но за разлика од другите АТРази, таа не врши хидролиза туку синтеза на АТР.

Во создавањето на протонски градиент, освен АТРазата може да учествуваат и други ензими, како што се **електрогената NAD(P)H дехидрогеназа** во плазмалемата и **пирофосфатазата** во тонопластот.

2.3.1 Мембрански везикули - систем за проучување на АТРаза

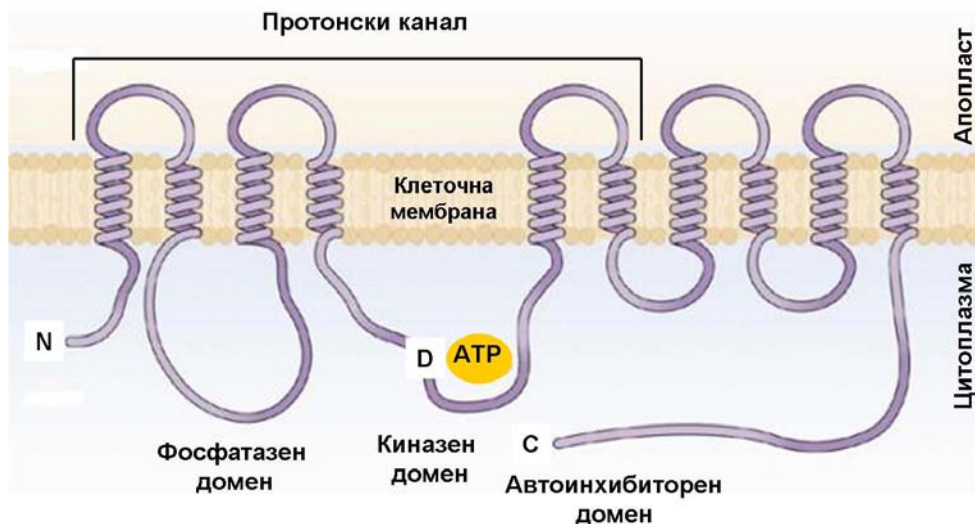
Во проучувањето на АТРазите и другите транспортни протеини големо значење имаат *in vitro* методите за изолирање на мембрански везикули. Овие везикули можат да имаат потекло од различни мембрани, како што се плазмалемата, тонопластот, ендоплазматичниот ретикулум и Голџиевиот систем, а се означени со општо име **микрозомални везикули** (Сл. 2.6). Слични везикули може да се добијат од хлоропластите и митохондриите. Кај интактните клетки, деловите од ензимот АТРаза кои вршат хидролиза на АТР и кои примаат протони се наоѓаат секогаш на страната од мембраната свртена кон цитоплазмата. Имено, везикулите кои потекнуваат од плазмалемата може да пренесуваат протони во апопластот, додека везикулите што се наоѓаат на апопластичната (надворешната) страна од мембраната може да пренесуваат одредени супстанции во самата клетка. Со помош на везикулите може лесно да се проучува регулирањето, односно механизмот на транспортот со помош на додавање на супстрат, кофактори, стимулатори или инхибитори.



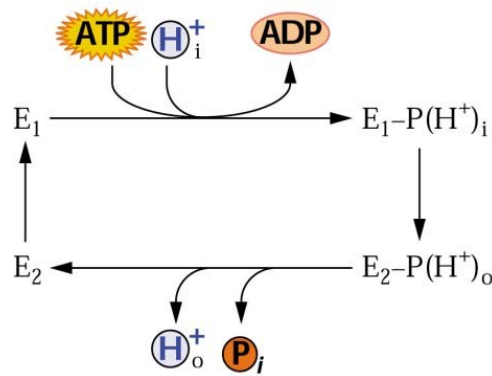
Сл. 2.6 Микрозомални мембрански везикули (Buchanan и сор., 2002).

2.3.2 Протонски АТРази од Р-тип

Аденозин трифосфатазата од Р-типот во плазмалемата претставува електрогена пумпа со чија работа се остварува протонски градиент помеѓу надворешната и внатрешната страна на плазмалемата (Сл. 2.7). Функционална субединица на овој ензим е еден полипептид со молекулска маса од 100 kD, а целиот ензим претставува димер. АТРазата од Р-типот мора да биде фосфорилирана за да биде активна (Сл. 2.8 и Сл. 2.9). Оттука потекнува и ознаката Р-АТРаза. Фосфорилацијата ја врши посебен ензим **протеинска киназа**. При хидролиза на АТР, киназата прво пренесува терминална фосфатна група на еден аспартатен остаток (**D**), при што се формира една интермедиерна форма **E₁P**, за што неопходен кофактор е елементот Mg. АТРазата во форма на **E₁P** стекнува висок афинитет кон протонот, а потоа преминува во **E₂P** форма, (најверојатно со промена на конфигурацијата) и со тоа се отвара каналот низ кој поминува протонот (Сл. 2.8). Со дефосфорилацијата, по пат на хидролиза, Р-АТРазата се враќа во првобитната форма. Поради овие две форми, кои циклично се менуваат овој ензим е наречен **E₁E₂АТРаза**. Фосфорилацијата и активноста на АТРазата, може целосно да бидат инхибирани со ванадатниот јон (NaH₂VO₄), кој може да се врзе на местото на фосфатот. Всушност, осетливоста на Р-АТРазата спрема ванадатот е главен критериум за нејзина идентификација.

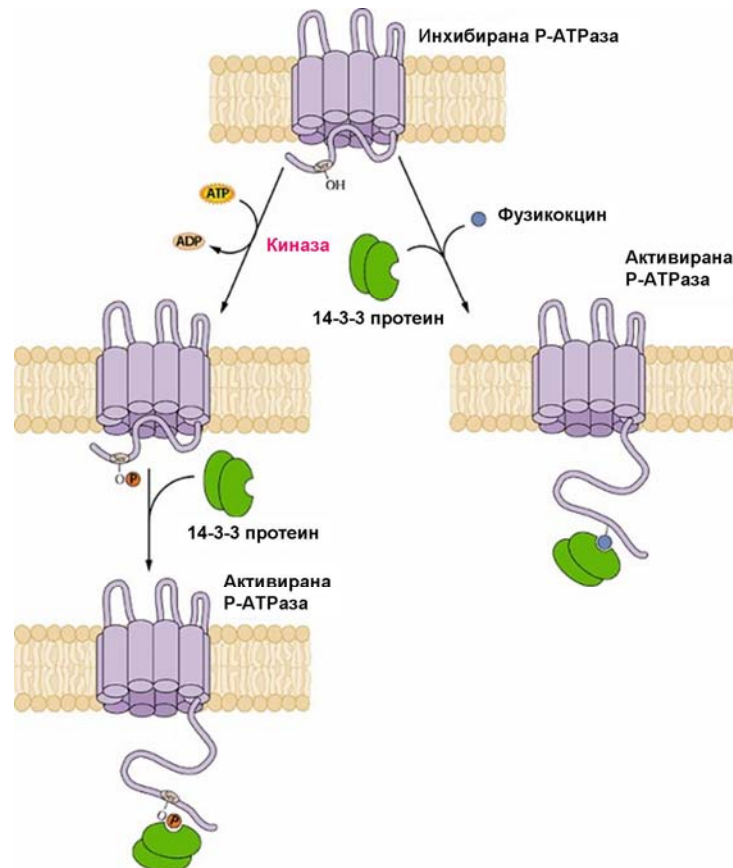


Сл. 2.7 Модел на Р-АТРаза претставен во една рамнина. Од десет трансмембрански домени, шест служат како протонски канал. Автоинхибиторниот домен се исфрла или инактивира под дејство на различни стимулатори. За активност на Р-АТРазата е потребна фосфорилација на едниот аспартатен остаток (D), што е под контрола на киназните и фосфатазните домени (Taiz и Zeiger, 2006).



Сл. 2.8 Реакционен циклус на Р-АТРазата (Buchanan и сор., 2002).

Активноста на Р-АТРазата зависи од повеќе фактори. Имено, на С-крајот (автоинхибиторен домен), АТРазата има инхибиторен сегмент, така што кога тој сегмент ќе се инактивира, тогаш Р-АТРазата станува активна (Сл. 2.7). Најверојатно фосфорилација на протеинската киназа има влијание врз неговата инактивација. Меѓу факторите што ја активираат Р-АТРазата се вбројуваат растителните хормони-ауксини, кои го стимулираат издолжувањето на клетките. Исто така, токсинот изолиран од габата *Fusicoccum amygdali*, познат како **фузикокцин** е силен активатор на Р-АТРазата (Сл. 2.9), а исто така го стимулира издолжувањето на клетките. Слично влијание има и светлината, која кај некои клетки како што се стомините клетки ја активира Р-АТРазата. Всушност, активноста на Р-АТРазата зависи и од липидите што ја опкружуваат (**лизофосфолипиди**). За разлика од другите транспортни системи, АТРазите се најбавни во пренесувањето на јоните. Еден ензим пренесува 1000 јони во секунда. Протонската Р-АТРаза за секој хидролизиран молекул на АТР пренесува еден протон ($H^+/ATP=1$). АТРазите во клеточната мембрана трошат 25-50% од вкупното количество на АТР.

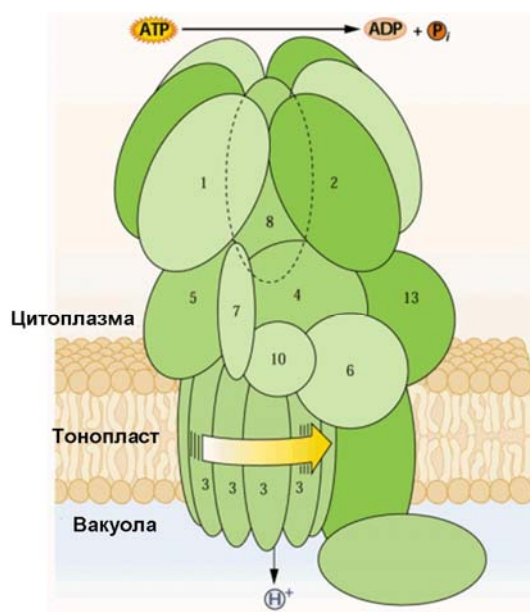


Сл. 2.9 Модел на активирање на мембранската P-АТРаза со фосфорилација и фузикоцин (Buchanan и сор., 2002).

Кај растенијата се откриени и калциумови АТРази (Ca^{2+} -АТРази), кои истовремено го хидролизираат АТР и го пренесуваат Ca^{2+} јонот низ мембраната. Тие се наоѓаат во плазмалемата и го излачуваат вишокот на Ca^{2+} јони од цитоплазмата во апопластот. Слични АТРази се наоѓаат и во другите ендомембрани и ги транспортираат Ca^{2+} јони од цитоплазмата во цистерните на ендоплазматичниот ретикулум или во вакуолата. По структура Ca^{2+} -АТРазите се слични со протонските и покажуваат иста чувствителност спрема ванадатот, но како извор на енергија не ја користат протонска моторна сила и покажуваат други сосема различни особини (Briskin, 1990).

2.3.3 Аденозин трифосфатаза од V-тип

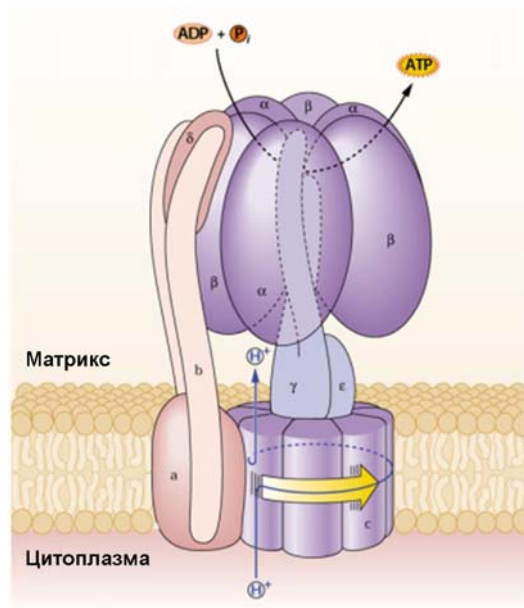
Аденозин трифосфатаза од V-тип е вакуоларен тип на протонска H^+ -АТРаза (Сл. 2.10), што се наоѓа во тонопластот, во мембраните од лизозомите и Голџиевиот систем, како и во другите делови од ендомембранскиот систем. Вакуоларниот тип на АТРаза пренесува протони од цитоплазмата во горенаведените органели, при што се добива позитивен мембрански потенцијал во нивната внатрешност. V-АТРазите се состојат од 7-10 различни полипептиди, со вкупна молекулска маса од околу 400-650 kD (Сл. 2.10). При хидролиза на АТР се пренесуваат два протона. Оваа АТРаза се разликува од другите по тоа што е чувствителна спрема анјоните. Имено, Cl^- јони ја стимулираат нејзината активност, додека NO_3^- анјони целосно ја инхибираат. V-АТРазите не вршат фосфорилација, но по својот состав овој ензим покажува сличност со F-АТРазата (Sze и сор., 1992).



Сл. 2.10 Структурен модел на V-АТРаза кај *Saccharomyces cerevisiae* која се состои од 13 субединици. Каталитичкиот домен гради глобула на цитоплазматичната страна на тонопластот, а каналот за протони се наоѓа во долниот дел. Квасочната V-АТРаза е најдобро проучен модел на V-АТРаза која може да биде претставена со две специфични вакуоларни изоформи зависно од асоцираните протеини Vph1p или Stv1p (Buchanan и сор., 2002).

2.3.4 Аденозин трифосфатаза од F-тип

F-АТРазите се наоѓаат на внатрешните мембрани од митохондриите и мембраните на тилакоидите во хлоропластот. Тие се состојат од 8 протеински субединици и имаат молекулска маса од околу 400 kD. F_0 сегментот претставува трансмембрански канал низ кого поминуваат протоните, а F_1 сегментот гради крупна каталитичка глобула на периферијата од мембраната (Сл. 2.11). F-АТРазите се наоѓаат на мембраните во кои е сместен и електрон-транспортниот синџир со чија активност се остварува трансмембранскиот протонски градиент (фотосинтетска и оксидативна фосфорилација). Овие АТРази ја користат протонската моторна сила и вршат синтеза, а не хидролиза на АТР и поради тоа се наречени **АТР-синтетази** или **реверзни АТРази**.



Сл. 2.11 Структурен модел на митохондријална АТР-синтетаза (F тип на H^+ -АТРаза, F-АТРаза) (Buchanan и сор., 2002).

2.3.5 Електрогена NAD(P)H дехидрогеназа

Истражувањата покажале дека АТРазите не се единствените генератори на трансмембранскиот потенцијал на плазмалемата. Имено, клеточната мембрана содржи електрон-транспортни редокс системи кои оксидираат некој супстрат во клетката (NADH или NADPH), пренесуваат електрони низ мембраната и редуцираат некој акцептор на електрони на надворешната страна од мембраната и притоа ослободуваат протон. Всушност, редокс системите припаѓаат во групата на **алтернативни оксидази**. Редокс системите по своите компоненти се слични на тие од хлоропластите и митохондриите. Тие имаат важна функција при примањето на јони, особено јоните на железото, при процесот на растење, како и при фотоморфогенетските промени што се предизвикани од сината светлина (Moller и Lin, 1986).

2.3.6 Електрогени пирофосфатази

На тонопластот се наоѓа посебна група ензими **пирофосфатази**, кои излучуваат протони од цитоплазмата во вакуолата. Тие ја разложуваат пирофосфатната врска $PP_i \rightarrow 2P_i$ и добиената енергија ја користат за транспорт на протони. Пирофосфатите се јавуваат како производ на сите главни биосинтетски патишта. Така, при користење на АТР во некои биосинтетички процеси, истиот се разложува на AMP и PP_i . Активноста

на пирофосфатазите може да биде стимулирана од K^+ јони, а инхибирана од Na^+ јони. При транспортот на протоните пирофосфатазата може да има иста ефикасност, како и V-АТРазата (Rea и Poole, 1993).

2.3.7 Значење на H^+ -АТРазата во физиолошките процеси

АТРазите и другите ензими кои излачуваат протони од цитоплазмата имаат важна улога при одвивање на голем број физиолошки процеси (Serrano, 1989). Се смета дека тие претставуваат клучни ензими од чија активност зависат сите поважни клеточни функции:

- регулирањето на киселоста во цитоплазмата; промената на рН во цитоплазмата има големо влијание врз активноста на ензимите и метаболичките процеси во кои тие учествуваат;
- примање на јоните и другите соединенија во клетката;
- промени на тургорот кои ја регулираат отвореноста на стомите;
- апсорпција на неоргански соли во ксилемот на коренот;
- полнење на флоемот со сахароза во листовите во кои се одвива процесот на фотосинтеза;
- растење на клетките под дејство на хормоните;
- регулирање на клеточниот циклус;
- присуство на поларност во клетките што растат и во органите, како што се кореновите влакненца, поленовите зрнца, хифите кај габите, односно кај ризоидите на алгите, корените, соматските ембриони и друго.

Кај растителните клетки, вакуолите заземаат речиси 90% од клеточниот волумен и поради тоа транспортните механизми на тонопластот имаат големо значење за акумулирањето на јони и метаболити во клетките. Овие транспортни механизми се независни од транспортните функции на плазмалемата и го одржуваат составот на вакуолата и цитоплазмата. Основни функции на тонопластот се:

- акумулирање на осмотски активни честички и одржување на низок осмотски потенцијал при осморегулацијата;
- одржување на тургорот при отворањето на стомите и растењето;
- примање и оддавање на неоргански и органски соединенија;
- регулирање на цитоплазматичните Ca^{2+} јони и рН;
- акумулирање на резервни протеини во семињата;
- акумулирање на заштитни протеини.

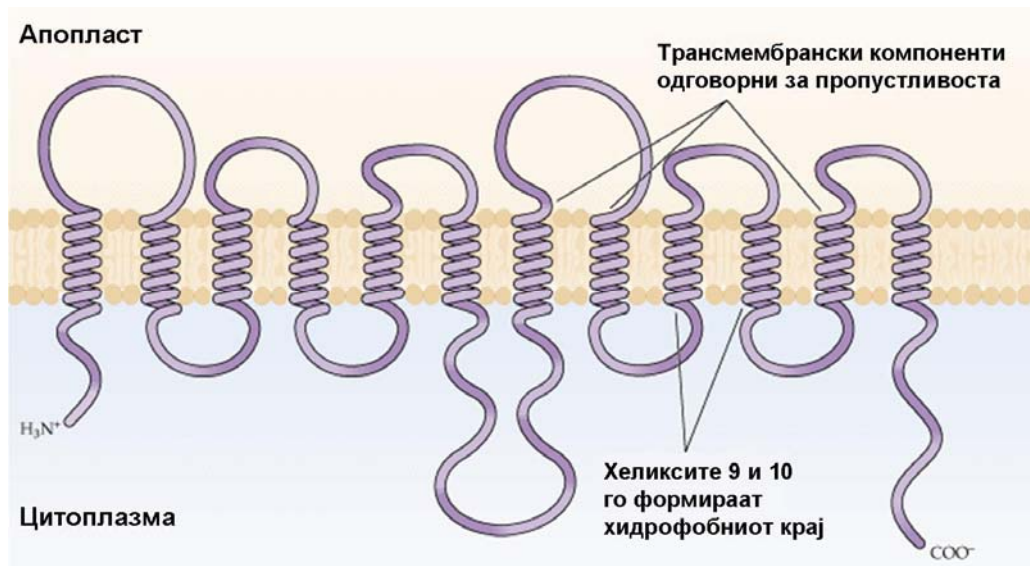
Методите што се користат во последно време во молекуларната биологија овозможуваат да се добијат нови сознанија за структурата и функцијата на H^+ -АТРазите. Кај сите испитувани растителни видови постојат по неколку различни протеини, кои ги кодираат посебни гени. Така кај тутунот се најдени 4 гени, кај домотот 7 гени, а кај *Arabidopsis thaliana* дури 10 гени, кои се обележани како АНА-гени (= *Arabidopsis* H^+ -АТРаза). Транскриптите (mRNA) на овие гени јасно се разликуваат помеѓу себе и се раздвојуваат со електрофореза. Протеините што се нивни производи покажуваат разлики, што јасно говори за различни изоформи, а не за една H^+ -АТРаза. Со користење на имуноцитохемиски методи одредена е локацијата на H^+ -АТРазите, при што било покажано дека тие не се рамномерно распоредени во сите клетки од растителниот организам. Нивната концентрација е голема во стомините клетки, флоемот, епидермисот на коренот, антерите и во семето кое се развива. Имено, тоа се сите клетки за кои се знае дека имаат транспортни активности. Меѓутоа, со користење на методата на рекомбинантна DNA се покажало дека генот АНА-3 е активен во клетките на флоемот, АНА-2 во коренот, особено во кореновите влакненца, АНА-10 во семето и АНА-9 во антерите. Се смета дека промоторите на

овие гени се различни и дека секој реагира различено на одреден надворешен фактор. Така на пример, кога постојат услови за активирање на АТРазата во стомините клетки, другите АТРази не реагираат. Исто така не постои можност во исто време да се активира АТРазата на пр:, што го иницира издолжувањето на клетките и таа што е одговорна за отворањето на стомите или некој друг процес.

2.4 Пренесувачи (котранспортери) на органски соединенија и јони

Во животот на растенијата иако се автотрофни организми е неопходен транспортот на органските соединенија помеѓу органите и клетките. Причината е сосема јасна, бидејќи сите клетки во одреден период од нивниот живот минуваат низ хетеротрофна фаза, а дури некои клетки и органи воопшто и не преминуваат во автотрофни. Транспортот на органските соединенија може да се врши низ симпластот, така што не е потребно учество на мембраните. Сепак, многу органски соединенија навлегуваат во клетките преку апопластот. Всушност, органските соединенија во својата молекула имаат хидрофилни групи, така што мембраната за нив е непропустлива. Тоа значи, дека овие соединенија не можат да навлезат во внатрешноста на клетката по пат на дифузија.

Познато е дека на мембраната се присутни протеини познати како **пренесувачи** или **котранспортери** кои учествуваат во транспортот на јоните и органските соединенија (Сл. 2.12). Имено, кај овие мембрански протеини еден рецепторен сегмент може да биде изложен на едната или на другата страна на мембраната, преку алтернативна промена на конформацијата. На тој начин супстанцијата која се врзува за тој рецепторен сегмент се пренесува од едната на другата страна од мембраната. Според тоа, се разликуваат два вида на пренесувачи: едни пренесувачи учествуваат во **катализирана дифузија**, а други во **активниот транспорт**.



Сл. 2.12 Структурен модел на пренесувачите (котранспортерите) во клеточната мембрана (Buchanan и сор., 2002).

2.4.1 Катализирана дифузија

Кај растителните организми, катализираната или олеснета дифузија има помало значење и се јавува при транспорт на глукозата од цитоплазмата во вакуолата, кога нејзината концентрација во цитоплазмата е висока. Исто така, постои можност од

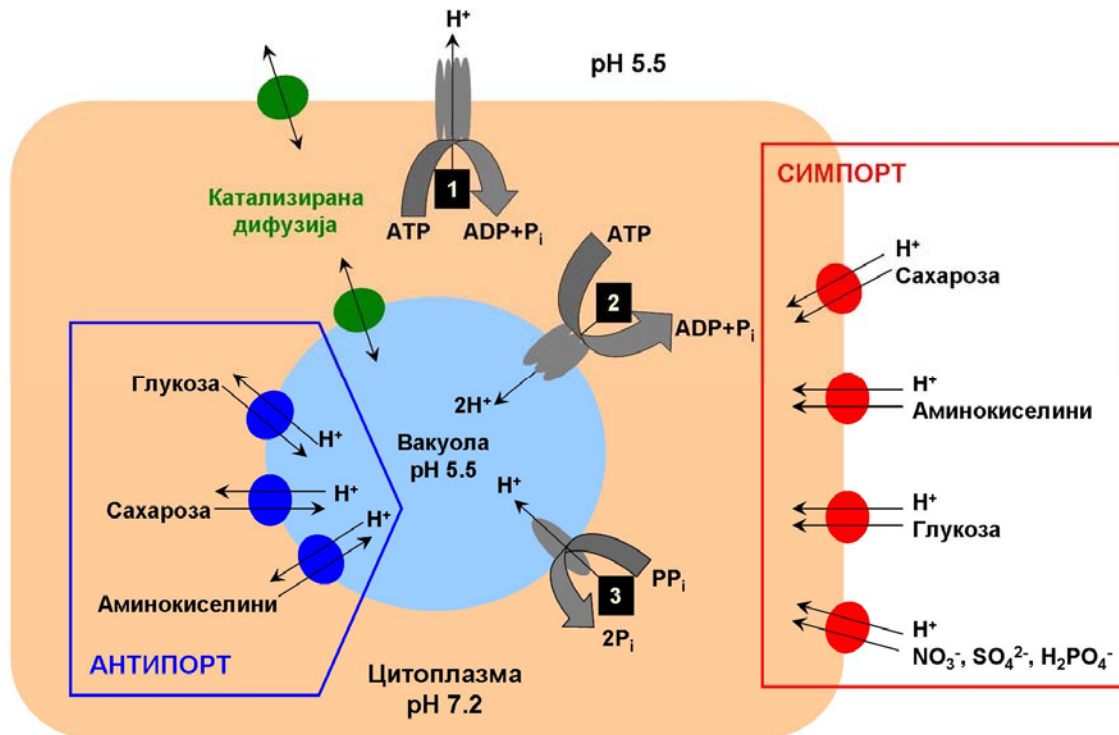
флоремските елементи, кои содржат голема концентрација на сахароза, истата да излегува во околните клетки на стеблото со помош на катализирана дифузија.

Пренесувачот кој врши катализирана дифузија секогаш пренесува само по една супстанција и дејствува како **унипорт** (Сл. 2.1). Тој со подеднаков афинитет се врзува за таа супстанција на било која страна од мембраната. Сепак, катализираната дифузија е пасивен процес. Насоката на транспортот зависи од разликите во концентрациите, а супстанциите секогаш се пренесуваат од места со поголема на места со помала концентрација. Тоа значи дека брзината на транспортот е многу поголема за разлика од едноставната пропустливост. Пренесувачите се специфични за супстанциите што ги пренесуваат, но најдобро се проучени оние што ги пренесуваат шеќерите, сахароза и глукоза.

2.4.2 Активен транспорт со помош на котранспортери

Активниот транспорт на органските соединенија може да се врши со помош на **котранспортери** (Сл. 2.12), кои ја искористуваат енергијата од електрохемискиот градиент на јоните. Во животинските клетки тој јон е натриумот, а во растителните е протонот. Се смета дека пренесувачите имаат две активни места. На едното се врзува протонот (односно натриумот), а на другото, молекулот на соединението што се пренесува. За да се врзе протонот, потребно е концентрацијата на протони да биде зголемена, што се јавува како резултат на работата на протонските АТРази. Вишокот на протоните на надворешната страна од цитоплазмата има тенденција да се врати во клетката преку градиентот на потенцијалот, но поради непропустливоста на мембраната, овој процес може да се оствари само со помош на пренесувачите. Кога протон се врзува, пренесувачите стекнуваат голем афинитет спрема соединенијата кои ги пренесуваат и тие се врзуваат за нив. Притоа, пренесувачите ја менуваат својата конфигурацијата, протонот навлегува во клетката, а другиот молекул излегува на другата страна од мембраната. Зависно од видот на пренесувачот, некои супстанции се внесуваат во клетката заедно со протоните (**симпорт**) или во спротивна насока се изнесуваат од клетката (**антипорт**). Поради овие причини, транспортот на протоните е означен како **примарен**, а транспортот на органските соединенија како **секундарен активен транспорт** (Сл. 2.13).

Со враќањето на протоните во цитоплазмата, транспортот е проследен со **деполяризација** на мембранскиот потенцијал. Имено, со акумулацијата на органските соединенија се остварува градиент во концентрациите помеѓу двете страни на мембраната, но вредноста на овој градиент не може да ја надмине вредноста на претходниот протонски градиент. Тоа значи дека протонскиот градиент е поттикнувач на целиот процес.



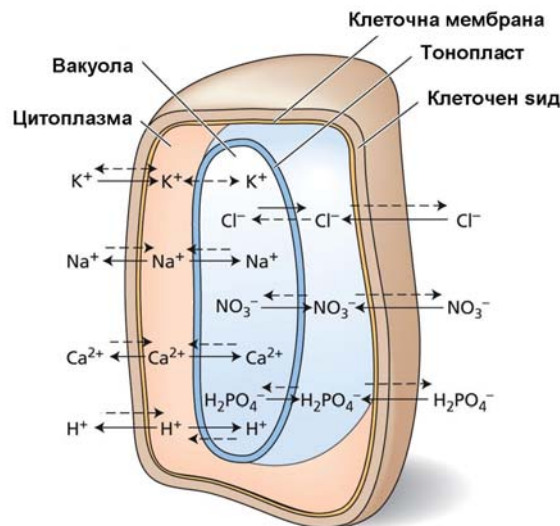
Сл. 2.13 Секундарен активен транспорт помеѓу котранспортерите. P-АТРазата воспоставува градиент на протони на плазмалемата (1), а V-АТРазата (2) и пиропфосфатазата (3) на тонопластот. Котранспортерите на плазмалемата извршуваат симпорт на протони и сахароза, глукоза, аминокиселини, како и јони на нитрати, сулфати и фосфати, а антипорт котранспортерите на тонопластот ги внесуваат овие супстанции во вакуолата. Двете мембрани содржат и пренесувачи-котранспортери за катализирана дифузија.

2.4.3 Специфичност на котранспортерите

Котранспортерите (пренесувачите) покажуваат голема специфичност кон соединенијата што ги пренесуваат (Сл. 2.13). При овој процес на пренесување на јоните со помош на котранспортери можат да се применат некои правила кои важат за ензимските реакции. Така, пренесувачот го препознава соединението “супстратот”, а со зголемување на концентрацијата на супстратот се јавува ефектот на заситување исто како кај ензимските реакции.

Пренесувачите за шеќерите и аминокиселините се идентификувани на клеточната мембрана со помош на методот на *in vitro* мембранските везикули. Везикулите што се наоѓаат од надворешната страна на мембраната (апопластичната страна) акумулираат хексози и аминокиселини. Всушност, шеќерите најчесто се внесуваат како хексози, а потоа и како сахароза. Додека, аминокиселините се внесуваат поединечно или во група, бидејќи сродните аминокиселини ги пренесуваат исти пренесувачи. Така на пр., откриени се два пренесувачи за сите неутрални аминокиселини, а се разликуваат по афинитетот за одделните аминокиселини од тие групи. Исто така, постои пренесувач за киселите аминокиселини (глутаминската и аспарагинската), додека базните аминокиселини (аргинин, лизин и хистидин) ги пренесува посебен пренесувач (Bush, 1993).

Акумулацијата на аминокиселините и шеќерите може да биде инхибирана со помош на **протонофори**, фактори кои пасивно ги пренесуваат протоните и го прекинуваат протонскиот градиент. Исто така, нивниот транспорт може да биде инхибиран и од некои агенси што ја модифицираат конформацијата на протеините и на тој начин дејствуваат инхибиторно на самите пренесувачи. Имено, со примена на овие фактори може да се провери дали котранспортерите се активни во некој процес.



Сл. 2.14 Транспортот на јони во цитоплазмата и вакуолата е контролиран од процесите на пасивниот (испрекинати линии) и активниот транспорт (цели линии) (Taiz и Zeiger, 2006).

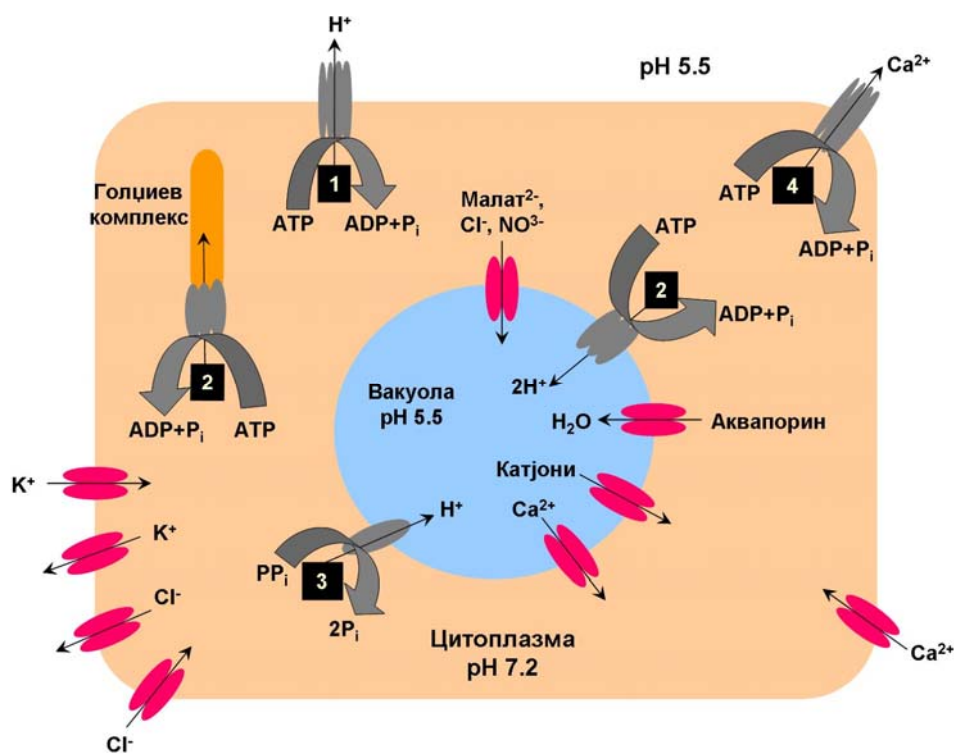
2.4.4 Котранспортери на тонопластот

Кај диференцираните клетки, најголем дел од волуменот на клетката заземаат вакуолите. Тие содржат различни неоргански јони и органски соединенија, како што се шеќерите, органските киселини, секундарните метаболити, аминокиселините и протеините. Шеќерите и аминокиселините минуваат низ тонопластот со помош на котранспортерите, кои користат енергија од протонскиот градиент. Протонските

пумпи на тонопластот (V-АТРаза и пирофосфатаза) остваруваат протонски градиент кој е во спротивна насока од оној на плазмалемата. Вакуолата има поголема киселост (2 рН единици) од цитоплазмата и поради тоа, протоните се враќаат во цитоплазмата преку пренесувачите, кои истовремено како антипортери ги пренесуваат шеќерите и аминокиселините во вакуолата. Многу други органски соединенија се пренесуваат во вакуолата со помош на ABC транспортерите. Исто така, неорганските јони минуваат низ плазмалемата и тонопластот со помош на котранспорт со протони. Овој процес главно се јавува кога насоката на транспорт на јоните е спротивна на градиентот на електрохемискиот потенцијал. Поради тоа што цитоплазмата има негативен потенцијал, анјоните се внесуваат како од апопластот, така и од вакуолата преку симпорт-пренесувачите. Антипорт-пренесувачите пренесуваат катјони од цитоплазмата во апопластот или во вакуолата. Со помош на симпорт-пренесувачите, во клетката налегнуваат нитратите и хлорот, а најверојатно и сулфатите и фосфатите (Сл. 2.14).

2.5 Јонски канали

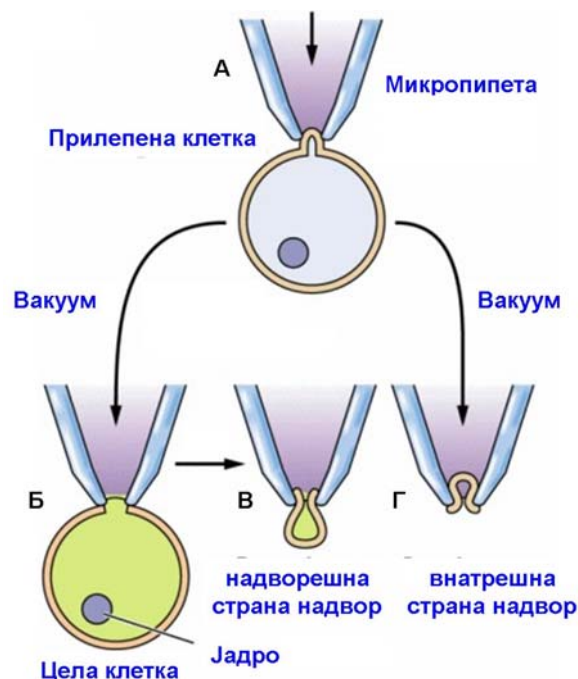
Јонските канали претставуваат посебни мембрански протеини кои формираат пори на непропустливата мембрана и го катализираат брзиот пасивен транспорт на јоните во една насока што се означува како **секундарен активен транспорт** (Сл. 2.15).



Сл. 2.15 Секундарен активен транспорт со помош на јонски канали. Градиентот на протони го воспоставуваат АТРазите на плазмалемата (1), тонопластот (2), мембраните на Голџиевиот комплекс (2) и ендоплазматичниот ретикулум, како и пирофосфатазата (3). На плазмалемата е прикажана и калциумовата АТРаза која го исфрла вишокот на Ca^{2+} од цитоплазмата. Ca^{2+} јони навлегуваат во цитоплазмата преку каналите на плазмалемата и тонопластот. Плазмалемата содржи влезни и излезни канали за калиум и хлор. Малатот, хлорот и нитратот навлегуваат преку посебни канали во вакуолата. Водата минува низ тонопластот преку аквапоринот. Голем број канали за анјони и катјони не се прикажани на шемата.

Ако на двете страни на мембрана се наоѓаат раствори со различен јонски состав, тогаш се создава разлика во електричниот потенцијал низ мембраната која е обратнопропорционална со спроводливоста на мембраната за тие јони. Според тоа, протонските пумпи што се наоѓаат на клеточната мембраната и тонопластот ги излучуваат протоните надвор од цитоплазмата и на таков начин нејзиниот потенцијал станува негативен. Трансмембранскиот потенцијал е поврзан со транспортот низ јонските канали што се извршува благодарение на електрохемискиот градиент. Според тоа, јонските канали не може да се објаснат како едноставни пори кои ја овозможуваат дифузијата, бидејќи нивното отворање зависи од различни фактори и надворешни стимуланти.

Проучувањето на јонските канали се врши со помош на електрофизиолошки методи. Имено, со помош на микроелектроди може да се измери **мембранскиот потенцијал** (MP). Притоа, добиените негативни вредности за мембранскиот потенцијал се базираат на исфрлањето на катјони, особено на H^+ надвор од клетката. Промената на мембранскиот потенцијал кон позитивна вредност се вика **деполаризација**. Со деполаризација се овозможува навлегување на катјоните или излегување на анјоните низ јонските канали. Во последниве години за електрофизиолошки испитувања се користи техниката на **наметната волтажа на фрагментите од мембраната** (patch clamp техника). Принципот на овој метод се состои во тоа што врвот на стаклена микропипета (електрода) се доближува до мембраната, се прилепува за направениот отвор и истиот веднаш се затвора со микропипетата (Сл. 2.16). Секако дека за оваа постапка претходно од клетката треба да биде отстранет клеточниот сид со помош на ензими, а клетките ослободени од клеточниот сид се познати како **протопласти** и имаат само плазмалема.



Сл. 2.16 Метод на наметната волтажа на фрагментите од мембраната (patch clamp). А: Врвот на микропипетата се прилепува за мембраната на протопластот, кој се прицврстува под слаб вакуум. Б: Со натамошен вакуум се раскинува дел од мембраната со врвот на микропипетата и потоа целата клетка се спојува со пипетата. В: Ако во положба Б се примени додатен вакуум, тогаш пипетата се затвора со фрагмент од мембраната, но со нејзината надворешна страна однадвор. Г: Ако од положба А се извлече пипетата, тогаш во неа останува фрагмент од мембраната со внатрешната страна онадвор (Buchanan и сор., 2002).

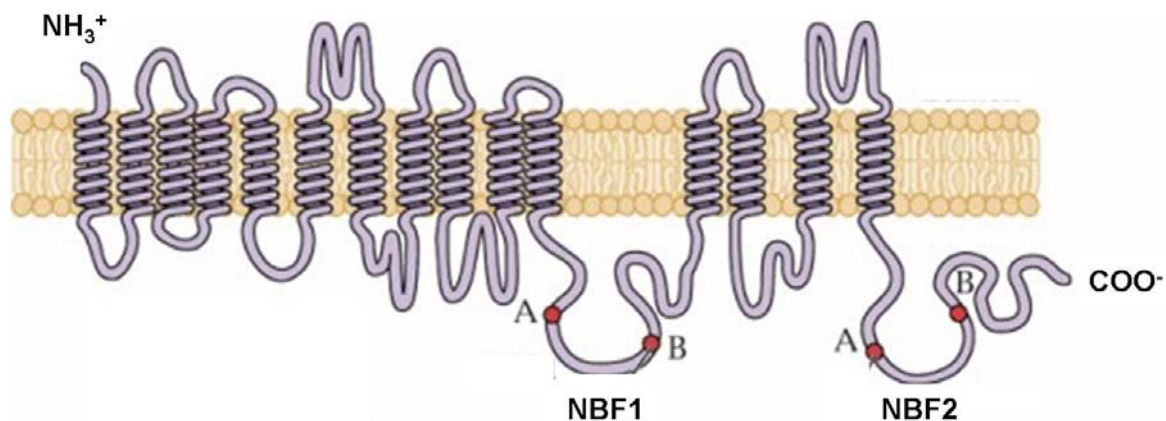
Јонските канали се класифицираат според видот на јонот за кого се пермеабилни (Tester, 1990). Така се разликуваат калиумови канали (за K^+ јони) кои најдобро се проучени, потоа канали за хлор (Cl^-) и калциум (Ca^{2+}). Јонските канали главно се селективни, бидејќи некои јони ги пропуштаат многу побргу и во поголемо количество за разлика од други. Селективноста е изразена преку односот на електричниот полнеж на јонот и големината на јонот. Се претпоставува дека влезниот дел на јонскиот канал е еден вид на “филтер” низ кој најверојатно се врши дехидратација на јоните. Јоните без својата водена обвивка лесно поминуваат низ липофилната мембрана. Отворањето на јонските канали го контролираат различни фактори. Протеините кои влегуваат во состав на јонските канали подлежат на конфигурациски промени што овозможуваат затворање или отворање на каналите. Според факторите што влијаат на овие промени, јонските канали се делат во две групи. Првата група се **волтажни канали**, што се отвораат кога потенцијалната разлика низ мембраната ќе достигне одредено ниво (калиумовите канали). Втората група на канали се отвора под контрола на некој **рецептор** за кого се врзува некој **агонист**. Така на пр., за отворање на Ca^{2+} канали потребна е фосфорилација, а самиот Ca^{2+} јон го активира отворањето на каналите за Cl^- . Се претпоставува дека некои регулатори на растот (фитохормони) се агонисти, а нивното примарно дејство е отворање на јонските канали. Во отворањето на каналите, посебно значење има и дејството на светлината. Влијанието на светлината врз движењата на стомите и листовите, како и врз растењето и развитокот се објаснува со нејзиното влијание врз отворањето на јонските канали. Во овој случај се претпоставува дека постојат сензори кои имаат способност да апсорбираат светлина со различна бранова должина, а со тоа започнуваат повеќе реакции што придонесуваат во отворањето или затворањето на каналите. Всушност, транспортот на јоните низ каналите претставува најбрз начин на транспорт низ мембраната и сè додека тие се отворени, навлегувањето на јоните се одвива непрекинато. Поради тоа, пренесувањето на јоните низ каналите се разликува од нивното пренесување со помош на котранспортерите, кои при зголемена концентрација на јоните покажуваат заситување (Сл. 2.15).

2.6 ABC транспортери на тонопластот и други мембрани

Вакуолите кај диференцираните клетки заземаат речиси 90% од волуменот на клетката и имаат важна улога во акумулирањето на секундарните метаболити и органски соединенија, кои клетката ги апсорбира од надворешната средина. Во клеточниот сок се наоѓаат и антоцијанини и други пигменти, катаболити што се добиваат со деградација на хлорофилот, фенолни соединенија, остатоци од хербициди, фитохелатини со тешки метали. Сите овие соединенија се познати како **ксенобионти** (супстанции од надворешната средина). Всушност, овие супстанции ковалентно се врзуваат со **глутатионот** и како коњугати се депонираат во вакуолата. Глутатионот е трипептид (глутаминска киселина - цистеин - глицин), а **фитохелатините** се негови деривати. Според тоа, функцијата на глутатионот и на неговите коњугати се состои во отстранување на резервните или секундарните метаболити, како и на супстанциите што имаат штетно и токсично дејство од цитоплазмата. Протеините што ги вршат ваквите транспортни процеси се познати како **ABC транспортери** (Сл. 2.17), скратеница што потекнува од **касета која врзува АТР** (=ATP Binding Cassette). ABC транспортерите се протеини кои пренесуваат глутатионски коњугати во вакуолата и се нарекуваат **GS-X пумпи** (пумпи за глутатионски коњугати). Тие се разликуваат од котранспортерите за органските соединенија според енергијата што ја користат. ABC транспортерите се протеини, кои го хидролизираат АТР во присуство на магнезиумовиот јон (Mg^{2+} -АТР ази) на

начин кој сеуште не е познат, а енергијата добиена при хидролиза на АТР директно ја користат за транспорт. Трансмембранскиот градиент на протоните нема никакво влијание на овој процес и затоа ABC транспортот не може да се вброи во секундарниот активен транспорт, туку има карактеристики на примарен транспорт. Меѓутоа, за функцијата на овие транспортери неопходна е фосфорилација и затоа нивната функција може да биде инхибирана од јоните на ванадатот. Хидрофобниот дел на ABC транспортерот е интегриран во тонопластот и гради 4-6 трансмембрански спирали низ кои минува канал, од кого зависи специфичноста на транспортерот. На цитоплазматичната страна се наоѓа каталитичкиот дел за кого се врзува АТР.

ABC транспортерите кај растенијата имаат исти транспортни функции како и транспортерите кај човекот и животните. Кај *A. thaliana* биле изолирани три гени што ги кодираат GS-X пумпите и нивните полипептиди биле слични со производите на *MDR* генот (= multidrug resistance) кај човек и глупци, а припаѓале на фамилијата на ABC транспортери (Rea и сор., 1998). Исти вакви гени биле најдени кај јачменот и компирот. Потоа, интактните вакуоли и вакуоларните мембрански везикули изолирани од растенијата покажале способност за акумулирање на GS-коњугатите, што зависи од активноста на Mg^{2+} -АТР азата, а не зависи од протонската АТРаза. Кај *A. thaliana* биле пронајдени околу 60 секвенци кои се хомолози со познатите ABC транспортери од клетките на цицачите и квасците (Davies и Coleman, 2000).



Сл. 2.17 Структурен модел на вакуоларен ABC транспортер кај *Arabidopsis*. Протеинот содржи два хидрофилни домени познати како NBF1 и NBF2 (nucleotid binding fold) (Buchanan и сор., 2002).

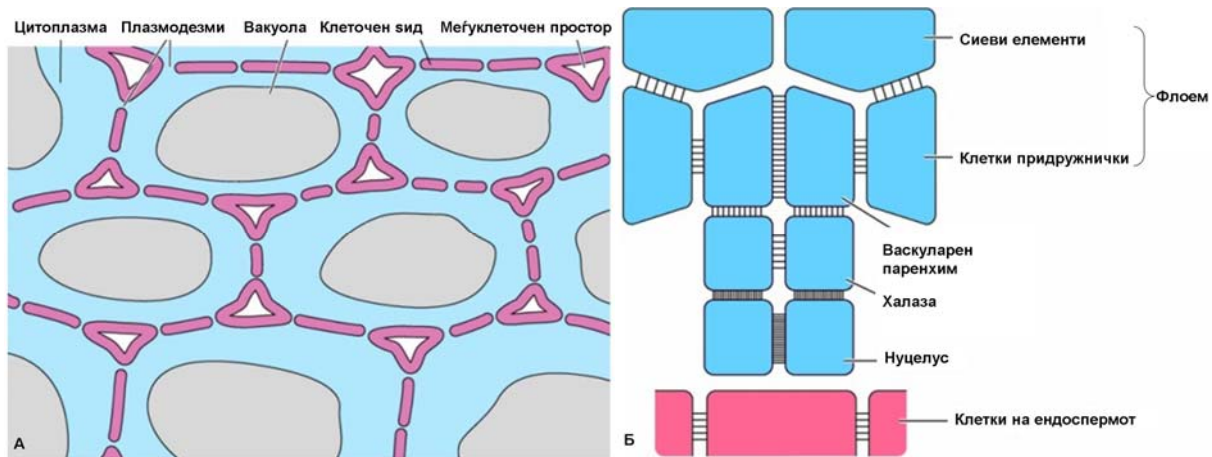
2.6.1 Регулација на концентрацијата на протони (pH) во клетката

Познато е дека цитоплазмата, во која се вршат најважните метаболички процеси има стабилна pH вредност (околу неутрална). Вакуолата и другите везикули, како и просторот на апопластот имаат pH во просек 5.5, а поголеми варирања постојат во другите органели, како на пр., во хлоропластите во текот на процестот на фотосинтеза. Меѓутоа, одделни метаболички процеси во цитоплазмата ја зголемуваат или намалуваат концентрацијата на H^{+} јони. Познато е дека при искористување на азотот во нитратна форма ($-NO_3$) се алкализира цитоплазмата, а користењето на амониумовите јони ($-NH_4$) ја зголемува киселоста. Исто така, зголемените концентрации на CO_2 , SO_2 или NO_2 , кои се раствораат во вода и формираат киселини ја намалуваат pH вредноста во клетката. Меѓутоа, во цитоплазмата, ензимите дејствуваат на различни оптимални pH вредности и секое отстапување на pH може да предизвика значителни промени врз активноста на ензимите. Тоа значи дека во цитоплазмата мора да постојат механизми што ќе ги

неутрализираат наведените промени. Тие се означени како **pH-стат систем**, кој опфаќа два механизма: **биофизички pH-стат** и **биохемиски pH-стат** (Kurkdjian и Guern, 1989). Биофизичкиот pH-стат се состои во активација на флуksот на H^+ јони низ плазмалемата. Во овој процес, примарно место имаат протонските АТРази. Биохемискиот pH-стат се базира на балансот помеѓу синтезата и деградацијата на **јаболичната киселина**. Во овој случај клучен ензим е **фосфоенолпируват (ПЕР) карбоксилазата**, која го врзува CO_2 за фосфоенолпируватот (карбоксилација) при што се добива оксалат, од кого се создава јаболичната киселина.

2.7 Транспорт низ симпластот

Во клеточните сидови кај поголем број растителни клетки се наоѓаат отвори познати како **плазмодезми** (Сл. 2.18). Со примена на електронска микроскопија и други современи методи добро е проучена нивната структура и функција. Преку плазмодезмите е олеснет транспортот на водата и растворените супстанции помеѓу соседните клетки, а притоа се избегнуваат мембранските бариери. На таков начин протопластите од поголем број на клетки се поврзани во една функционална целина наречена **симпласт**.



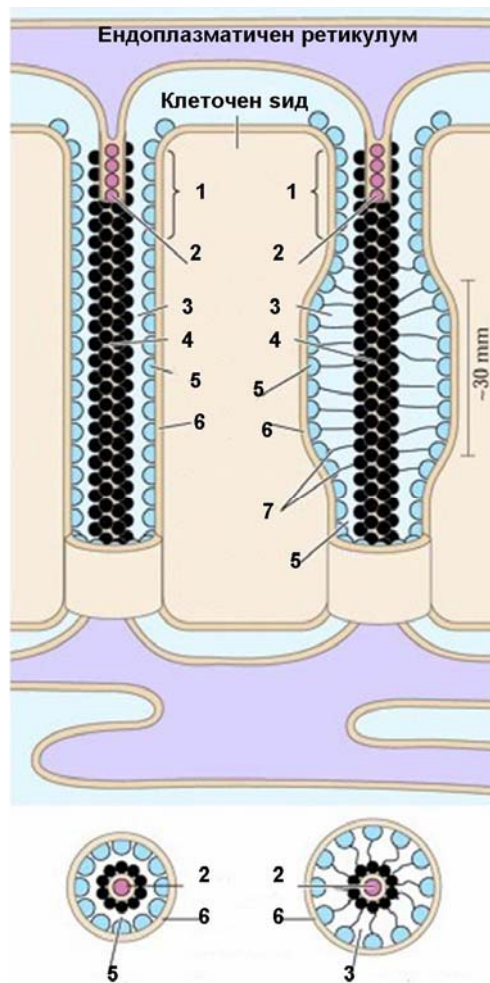
Сл. 2.18 (А) Шематски приказ на врската помеѓу апопластот и симпластот. (Б) Плазмодезмограм за застапеноста на плазмодезмите во различни растителни клетки (Buchanan и сор., 2002).

Транспортот низ симпластот бил докажан во паренхимските клетки на листовите од субмерзното водено растение *Vallisneria* (Aricz, 1960). Кога едниот крај на листот бил потопен во раствор од KCl, во кој хлорот бил радиоактивно обележан, радиоактивноста била пронајдена на другиот крај на листот. Тоа значи дека хлоридот се движел или низ апопластот или низ симпластот на паренхимските клетки. Меѓутоа, не била пронајдена радиоактивност во околната вода, што би требало да се случи ако хлоридот се движел низ апопластот. Според тоа, било констатирано дека хлоридот во средниот дел на листот се движел низ симпластот, односно низ плазмодезмите. Исто така, низ симпластот кај листовите од *Vallisneria* освен минералните соли се транспортираат и шеќери, аминокиселини, јаболична киселина и индолил-3-оцетната киселина (ауксин). Низ симпластот се транспортираат водата и јоните во клетките од ендодермот на коренот. Потоа, по тој пат се движат и асмилатите во клетките на листот, супстанцииите од клетките придружнички во ситестите клетки, хормоните и др. Освен овие хидрофилни соединенија, плазмодезмите служат и за транспорт на липиди, но тие се пренесуваат латерално по должината на мембраната на ендоплазматичниот ретикулум. Исто така, било покажано дека низ плазмодезмите

минуваат протеини, нуклеински киселини и нуклеопротеински комплекси, дури дека и по тој пат се шират вирусните инфекции.

2.7.1 Структура на плазмодезмите

На надолжен пресек кај плазмодезмите (Сл. 2.19) се забележува дека пората е обложена со плазмалема што ја одвојува од клеточниот сид. Во средината се наоѓа **дезмотубула** (мембранска врвка), која се формира од ендоплазматичниот ретикулум на двете клетки и останува во врска со нив. Всушност, преку дезмотубулите се остварува ендомембрански континуитет на соседните клетки. Дезмотубулата не е шуплива цевка, бидејќи во нејзината средина се наоѓа **централно стапче** изградено од цврсти липидни поларни делови. Просторот околу дезмотубулите е исполнет со цитоплазма и се вика **анулус** или **цитоплазматичен ракав**. Кај многу растителни видови, цитоплазматичниот ракав на двата краја е стеснет во **врат** и тука дезмотубулата е во близок контакт со плазмалемата, која околу пората е малку испакната. Дезмотубулата носи одреден број на протеински партикули кои ја стеснуваат плазмодезмата, особено во регионот на вратот, но и одредени протеински структури кои се врзани за плазмалемата и го исполнуваат цитоплазматичниот ракав. Просторот помеѓу плазмодезмите што е слободен за транспорт изнесува околу 2.5-3 nm (Robards и Lucas, 1990).



Сл. 2.19 Модел на структурата на плазмодезмите. 1. Врат; 2. Централно стапче; 3. Централно вдлабнување; 4. Дезмотубула; 5. Цитоплазматичен ракав; 6. Плазмалема; 7. Протеински врски на дезмотубулата со плазмалемата кои го исполнуваат цитоплазматичниот ракав (Buchanan и сор., 2002).

Плазмодезмите се формираат во текот на клеточната делба, при формирање на примарната плоча помеѓу клетките-сестри, во моментот кога дел од ендоплазматичниот ретикулум ќе биде зафатен од клеточниот сид. Исто така, формираните плазмодезми може и да се затворат, а тоа се случува кај стомините клетки. Имено, затворањето се случува преку формирање на калоза (калусно ткиво од недиференцирани клетки) или преку деградација на протеините во плазмодезмата.

Кај различни клетки бројот на плазмодезмите е различен и изнесува од 0.1-10 на μm^2 . Нивниот број е многу голем во клетките на секреторните жлезди, во клетките на мезофилот, во клетките на ендодермисот и во паренхимските клетки на коренот, како и во ситестите цевки и клетките придружнички на фломот. Се претпоставува дека помеѓу сите наведени клетки мора да постои голема размена на материите. Спротивно на ова, отсуството на плазмодезми означува изолација на клетките од нивната средина. Така на пр., не постојат плазмодезми помеѓу зиготот и околните клетки, помеѓу микроспорите во антерите, а исто така и помеѓу клетките што припаѓаат на различни генерации (спорофитната и гаметофитната генерација). Исто така, плазмодезмите се отсутни или се присутни во мал процент помеѓу епидермалните и стомините клетки, како и помеѓу ендодермот и ксилемските елементи. Меѓутоа, во незрелиот ембрион кај вишите растенија сите клетки се поврзани со плазмодезми и сочинуваат единствен **симпластичен домен**. Но, во текот на диференцијацијата на ембрионот, а посебно со натамошниот развој на растението, одделни региони се издвојуваат и изолираат од другите во посебни симпластични домени. Така на пр., во коренот на *A. thaliana*, клетките на меристемот и зоната на издолжување се поврзани во симпласт, но во постарите делови од коренот, епидермисот се изолира од внатрешните ткива, а фломот од соседните клетки. Оваа изолација не е целосна, но плазмодезмите помеѓу овие ткива не функционираат на ист начин.

2.7.2 Пропустливост на плазмодезмите

Плазмодезмите се селективно пропустливи и транспортот низ нив е регулиран од некои надворешни фактори. Овие фактори имаат влијание како врз проширувањето на каналите, така и врз нивното целосно затворање. Така на пр., зголемената концентрација на Ca^{2+} јоните во цитоплазмата ја намалува пропустливоста на плазмодезмите. Можноста пак, плазмодезмите целосно да се затворат е од посебно значење за растението, бидејќи оваа појава може да го спречи истекувањето на содржината од клетките поврзани во симпластот низ повреденото место (Eipel, 1994).

Специфични својства покажуваат плазмодезмите што ги поврзуваат ситестите цевки и клетките придружнички во фломот. Познато е дека ситестите цевки немаат јадра и рибозоми, но сепак содржат одредено количество на протеини, кои во случај на повреда ги затвараат ситестите плочи. Освен тоа што овие протеини се акумулирани во ситестите цевки, рибонуклеинските киселини (mRNA) кои го пренесуваат кодонот за нивна синтеза се наоѓаат само во клетките придружнички (Bostwick и сор., 1992). Според тоа, овие протеини се синтетизираат во клетките придружнички, а низ плазмодезмите се транспортираат во ситастите цевки (Fischer и сор., 1992).

Вирусните инфекции систематски се шират во растенијата преку плазмодезмите (Ghoshroy и сор., 1997). Мозаичниот вирус кај тутунот кој има дијаметар од 10 nm лесно се шири во растението, иако плазмодезмите во листот на тутунот се широки околу 2.5 nm (Ding и сор., 1992). Истражувањата покажале дека вирусот носи ген кој во клетката на домаќинот овозможува транслација на специфичен протеин од 30 kD, кој е наречен како **транспортен протеин (P30)**, а е изолиран прво од клетките на

тутунот, а потоа и од други растенија заразени со мозаични вируси. Се смета дека се транспортниот протеин формира комплекс со RNA, при што се проширува цитоплазматичниот ракав на плазмодезмите. Така на пр., транспортниот протеин кај вирусот на црвената детелина овозможува движење на RNA, но не и на DNA. Се претпоставува дека пропустливоста на плазмодезмите зависи од различните физиолошки функции, а вирусите се адаптирани да ги користат постојните механизми. Според тоа, транспортот на малите молекули кој зависи од дијаметарот на плазмодезмите претставува процес на пасивна дифузија. Меѓутоа, транспортот на нуклеинските киселини и на вирусите е активен процес во кој пропустливоста на плазмодезмите е модифицирана и регулирана. Кај ситестите елементи на флоемот потврдено е присуство на протеин кој е поврзан со мембраната на ситестата цевка и го овозможува навлегувањето на mRNA од клетките придружнички. Воедно, низ ситестите цевки, оваа mRNA се пренесува и во другите делови на растението.

Можноста за пренесување на рибонуклеинските киселини низ растението преку симпластот и флоемот е потврдена во повеќе случаи. Ова претставува значајно откритие, бидејќи покажува дека развитокот кај растенијата не е регулиран само хормонално, туку и преку генетски производи, како што се mRNA, протеините и нивните комплекси. Како резултат на тоа, многу појави во развитокот на растенијата, денес се објаснуваат на поинаков начин.