

УДК 581.13.133.8

ПОТОКИ ИОНА КАЛЬЦИЯ В ЗОНАХ КОРНЯ КУКУРУЗЫ

М. Н. БАРАБАНЩИКОВ, Ю. Я. МАЗЕЛЬ

(Кафедра прикладной атомной физики и радиохимии)

В литературе в настоящее время имеется довольно много данных о поглощении ионов (K, Na, Sr, P, S, Rb, I, Ca) различными участками корней пшеницы, кукурузы, ячменя, хлопчатника, гороха [5, 6, 11, 12, 15]. Объектами исследований служили как корни интактных растений, так и отделенные корни и их отрезки. Было обнаружено, что скорость поглощения ионов наиболее велика в двух участках корня: в зоне растяжения и зоне корневых волосков [13, 15, 17]. Однако отмечаются различия в поглощении ионов в зависимости от объекта исследования и изучаемого иона [5]. При анализе и сопоставлении данных по этому вопросу необходимо обращать внимание на способ выражения данных, четкость идентификации зон, разграничение процессов поглощения и передвижения ионов в корне, учитывать возможность влияния бактериологического загрязнения [4].

Большинство упомянутых работ выполнялось методом меченых атомов и характеризовало только поток ионов (influx) в клетки корня [6, 12, 13]. В ряде случаев эксперимент был непродолжительным и поэтому полученные данные позволяют судить преимущественно о поступлении ионов в свободное пространство [14, 15], поскольку преобладающим процессом в течение такого промежутка времени является изотопный обмен меченого иона с ранее накопленными в свободном пространстве немечеными ионами.

Более полное представление о поглощении ионов клетками различных участков корня можно получить на основании анализа потоков ионов [11, 15]. Методы анализа потоков были разработаны [10] для клеток водорослей, а в дальнейшем использованы также и для анализа потоков ионов в клетках и тканях высших растений. При этом большинство исследований было посвящено анализу потоков калия, натрия и хлора и проведено с отделенными корнями и только одно [11] анализу потока кальция, причем последнее проводилось на участках корня длиной 4 см, включавших в себя все зоны роста.

Поглощение кальция клетками различных зон корня, по одним данным — энергонезависимый процесс [13], по другим — оно энергозависимо [8]. Для того чтобы подробнее разобраться в указанных выше вопросах, необходимо изучить потоки ионов в клетках различных зон корня.

В данном опыте использовались корни 2-дневных растений кукурузы сорта Стерлинг. Потоки кальция в корне определяли в клетках зон меристемы (0—1,5 мм), растяжения (3—5 мм) и корневых волосков (15—30 мм). Данные, относящиеся к клеткам меристемы, в этой статье не рассматриваются. Границы зон определяли по [2].

В ходе опыта корни интактных проростков для насыщения помещали в среду следующего состава: глюкоза 10 г/л, калий и меченый кальций 10^{-4} или 10^{-3} М. Время насыщения 4 ч. Удельная активность раствора в этих опытах колебалась от 0,1 до 0,25 мкКи/мл

(4 мкКи/мм). После насыщения корень разрезали на участки, соответствующие зонам меристемы, растяжения и корневых волосков, и отмывали их немеченым раствором того же состава в течение 6 ч (не меньше). Количество иона кальция, вымытого из ткани, определяли по радиоактивности промывного раствора.

Для изучения энергозависимости процесса поглощения кальция клетками различных зон корня за 2 ч до окончания насыщения в среду добавляли спиртовой раствор карбонилцианид-м-хлорфенилгидразона (КЦХФГ) до концентрации 10^{-6} М. КЦХФГ является разобшителем окислительного фосфорилирования [9] и может быть ингибитором поглощения ионов корнями растений [13].

Измерение активности раствора проводили на жидкостно-сцинтилляционном β -спектрометре Марк-II в сцинтилляторе Брея. В конце опыта измеряли остаточную активность корней. Экспериментальные данные обчитывали по составленной нами программе на миникомпьютере ИН-90 по методике, приведенной в работе [1].

Значения потоков вычисляли исходя из представлений о трехкомпарментальной модели для равновесных и квазистационарных условий. В случае равновесия, когда общий поток $\Phi=0$, а на каждой из мембран потоки из цитоплазмы во внешний раствор Φ_{co} и из раствора в цитоплазму Φ_{oc} равны, потоки из цитоплазмы в вакуоль Φ_{cv} и обратно Φ_{vc} также равны между собой, величины потоков рассчитывали на основании следующих уравнений:

$$\Phi_{oc} = \frac{1}{S_o} (k_S S + k_L L), \quad (1)$$

$$\Phi_{vc} = \frac{k_S k_L}{S_o} [SL (k_S S + k_L L)] \left[\frac{(k_S - k_L)^2}{(k_S^2 S + k_L^2 L)^2} \right], \quad (2)$$

$$Q = \frac{1}{S_o} (S + L), \quad (3)$$

$$Q_c = \frac{1}{S_o} \left[\frac{(k_S S + k_L L)^2}{k_S^2 S + k_L^2 L} \right]. \quad (4)$$

Здесь k_L — константа выхода меченого элемента из вакуоли; k_S — константа выхода меченого элемента из цитоплазмы; Q — общее содержание элемента; Q_c — содержание элемента в цитоплазме; L , S — параметры: $S_o = Y/Q$, $L = Y_L/1 - \exp(-k_L T)$, $S = Y_S/1 - \exp(-k_S T)$, где Y_L — исходное количество меченого элемента в вакуоли; Y_S — исходное количество меченого элемента в цитоплазме; T — время насыщения; S_o — доля массы меченого элемента от общего количества элемента в компартменте.

В случае квазистационарных условий, когда $\Phi \neq 0$ и потоки на каждой из мембран равны $\Phi = \Phi_{oc} - \Phi_{co} = \Phi_{cv} - \Phi_{vc}$ и $\Phi_{oc} \neq \Phi_{co}$, $\Phi_{cv} \neq \Phi_{vc}$, величины потоков элемента рассчитывали по следующим уравнениям:

$$\Phi_{oc} = \frac{k_S Y_S}{S_o} + \Phi_{in}, \quad (5)$$

$$\Phi_{vc} = (1 + \alpha) (\Phi_{in} - \Phi), \quad (6)$$

$$Q_c = \frac{1}{k_S} (1 + \alpha) \left[\frac{k_S Y_S}{S_o} + \Phi_{in} - \Phi \right], \quad (7)$$

$$Q = \frac{1}{k_L} (\Phi_{in} - \Phi) + \frac{Y_S}{S_o (1 + \alpha)}, \quad (8)$$

$$\alpha = S_o \Phi_{in} / k_S Y_S, \quad (9)$$

$$\Phi_{in} = \frac{Y_L}{T S_o}, \quad (10)$$

где Φ_{in} — параметр.

Потоки иона кальция в клетках зоны корневых волосков
(концентрация 10^{-3} М)

| Q | Q _c | Φ | Φ _{св} | Φ _{св} | Φ _{ос} |
|--|----------------|----------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| мэkv/кг сырой массы | | мэkv/кг сырой массы за 1 ч | | | |
| Водопроводная вода Φ _{ос} =1,39±0,21 мэkv/кг | | | | | |
| 2,0 | 1,10±0,12 | 0,21 | 1,23±0,13 | 0,48±0,06 | 0,32±0,02 |
| 3,0 | 1,31±0,14 | -0,08 | 1,46±0,14 | 0,58±0,07 | 0,64±0,02 |
| 5,0 | 1,74±0,17 | -0,53 | 1,92±0,17 | 0,76±0,09 | 1,29±0,05 |
| 10,0 | 2,80±0,27 | -1,68 | 3,08±0,25 | 1,24±0,14 | 2,92±0,16 |
| Дистиллированная вода Φ _{ос} =1,31±0,03 мэkv/кг | | | | | |
| 5,0 | 1,98±0,03 | -0,14 | 1,46±0,03 | 0,83±0,01 | 0,97±0,05 |
| Водопроводная вода Φ _{ос} =1,26±0,04 мэkv/кг | | | | | |
| 10,0 | 2,01±0,09 | -0,91 | 2,18±0,01 | 1,27±0,01 | 2,17±0,01 |

Более подробно поведение трехкомпарментальной модели рассмотрено ранее [1].

Результаты, полученные при различных методах расчета, представлены в табл. 1—5. Так как величины потоков вычисляются на основе кинетики изотопного обмена, необходимо, чтобы изотопный обмен произошел для всего пула кальция в клетке. Величины потоков Φ_{ос}, вычисленные для растений, которые выращивались на водопроводной и дистиллированной воде, не различаются: соответственно 1,39 и 1,31 мэkv на 1 кг сырой массы в 1 ч (табл. 1). Это указывает на то, что независимо от исходного количества кальция в компартаментах клеток корня данное время насыщения (4 ч) достаточно для изотопного обмена. Хотя не исключено, что существует еще какой-то один или несколько пулов, причем скорость изотопного обмена между ними и внешним раствором очень мала. В этом случае поток иона кальция в данный компармент клетки ускользает из поля нашего зрения. При проведении опытов с отделенными отрезками корня стель из них не удаляли. Для оценки возможного влияния процессов поступления изотопа в стель, а также вторичного его поступления в раствор через срез корня были проведены опыты с отрезками корней как со стелью, так и без нее. Полученные результаты оказались сопоставимыми (табл. 1). Следовательно, влияние стели на потоки ионов в клетках корня незначительно. Поэтому полученные величины потоков следует в первую очередь отнести к компартаментам клеток коры.

Как следует из уравнений (5)—(10), для определения численных значений потоков необходимо знать, каков общий поток через систему

Таблица 2

Потоки иона кальция в клетках зон растяжения и корневых волосков корня
кукурузы для равновесных условий

| Участки корня, мм от его кончика | Φ _{ос} | Φ _{св} | Q _c | Q |
|-------------------------------------|-----------------|-----------------|----------------|------------|
| | мэkv/кг за 1 ч | | мэkv/кг | |
| Концентрация 10^{-4} М | | | | |
| 3—5 | 2,28±0,21 | 0,60±0,03 | 1,83±0,11 | 3,25±0,14 |
| 15—30 | 0,55±0,04 | 0,13±0,01 | 0,42±0,03 | 1,00±0,11 |
| Концентрация 10^{-3} М | | | | |
| 3—5 | 4,62±0,18 | 2,02±0,06 | 5,43±0,52 | 11,28±0,62 |
| 15—30 | 1,62±0,25 | 0,56±0,09 | 1,58±0,25 | 3,12±0,41 |

($\Phi = \Phi_{oc} - \Phi_{co} = \Phi_{cv} - \Phi_{vc}$). Это можно установить на основании активности иона кальция в клетке, определяемой с помощью ион-специфичного электрода. Мы в своей работе вместо данных об активности иона использовали данные о содержании иона кальция в ткани, полученные химическим путем (т. е. несомненно завышенные, так как кальций в клетке находится преимущественно в связанном состоянии). В связи с этим в дальнейших расчетах значение Q мы брали от 0,8 до 14 мэкв/кг, где 14 мэкв/кг — содержание кальция, определенное химическим путем. При этом поток на плазмалемме (Φ_{co}) варьировал от 0,45 до 4,26, а на тонопласте — от 0,5 до 5,38 мэкв/кг·ч.

При расчетах согласно уравнениям (5)—(10) (квазистационарные условия) для некоторого значения Q получено изменение знака у общего потока через систему (табл. 1). При этом численные величины потоков на каждой из мембран приближаются друг к другу. Таким образом, можно предположить, что в квазистационарных условиях в зависимости от потребностей клетки ион либо поступает в нее, либо выходит из нее. На отрицательный знак величины общего потока указывается также в работе Скотта, где измерялись потоки иона калия для отделенных корней фасоли [16]. Из рассчитанных значений потоков истинными являются близкие к величине Q , при которой происходит изменение знака общего потока. В данном случае (табл. 1) величина Q равна 2,6 мэкв/кг. Дополнительным критерием правильности расчета потоков может служить величина Q_c , вычисленная для равновесных условий по уравнениям (1)—(4). В табл. 2 приведены величины потоков и содержание ионов в равновесных условиях. Поскольку содержание иона в цитоплазме при равновесных и квазистационарных условиях не должно существенно различаться, то оно может служить дополнительным критерием для выбора наиболее вероятных величин потоков (табл. 2). Так, при определении потоков кальция в зоне корневых волосков (концентрация раствора 10^{-3} М) величина для равновесных условий равна 1,58 мэкв/кг, что для квазистационарных условий соответствует значению Q 3—5 мэкв/кг. Полученная таким образом величина Q близка к значениям, установленным химическим путем.

Из табл. 3 видно, что при возрастании концентрации увеличивается поток из внешнего раствора в цитоплазму в обеих зонах корня. При переходе от зоны растяжения к зоне корневых волосков величина

Т а б л и ц а 3

Поток иона кальция из внешнего раствора в цитоплазму
в клетках зон растяжения и корневых волосков

| Концентрация, М | Контроль I | Контроль II | В присутствии ингибитора КЦХФГ |
|---|---------------------------|--------------------|--------------------------------|
| | мэкв/кг сырой массы в час | | |
| Участок корня 3—5 мм от кончика корня | | | |
| 10^{-4} | 1,96±0,19 (2,6) | 1,81±0,15 (3,6) | 1,99±0,07 (7,6) |
| 10^{-3} | 3,87±0,20 (8,0) | 5,90±0,31 (7,0) | 4,92±0,10 (11,4) |
| Участок корня 15—30 мм от кончика корня | | | |
| 10^{-4} | 0,51±0,03 (0,8) | 0,72±0,02 (1,4) | 0,59±0,05 (1,8) |
| 10^{-3} | 1,39±0,21 (2,6) | 1,89±0,28 (2,2) | 1,82±0,10 (2,5) |

П р и м е ч а н и е. 1 — контроль II с добавлением этанола; 2 — в скобках приведены значения Q в мэкв на 1 кг сырой массы, при которых происходит изменение знака общего потока.

Потоки иона кальция в клетках различных зон корня кукурузы

| Участки корня, в мм от его кончика корня | Q_c | Φ_{vc} | Φ_{co} | Φ_{cv} |
|--|-----------|-------------|-------------|-------------|
| | мэкв/кг | мэкв/кг · ч | | |
| Концентрация кальция 10^{-4} М при общем его содержании 10 мэкв/кг | | | | |
| 3—5 | 3,47±0,32 | 3,64±0,14 | 4,27±0,22 | 1,34±0,11 |
| 15—30 | 1,74±0,15 | 2,42±0,30 | 2,36±0,20 | 0,57±0,08 |
| при общем его содержании 14 мэкв/кг | | | | |
| 3—5 | 4,52±0,46 | 5,29±0,21 | 5,50±0,25 | 1,75±0,16 |
| 15—30 | 2,33±0,22 | 3,41±0,42 | 3,15±0,30 | 0,77±0,12 |
| Концентрация кальция 10^{-3} М при общем его содержании 10,40 мэкв/кг | | | | |
| 3—5 | 4,89±0,48 | 2,98±0,26 | 4,27±0,30 | 2,60±0,24 |
| 15—30 | 2,89±0,28 | 3,05±0,17 | 3,18±0,26 | 1,28±0,15 |
| при общем его содержании 14 мэкв/кг | | | | |
| 3—5 | 5,96±0,67 | 4,77±0,39 | 5,09±0,32 | 3,17±0,34 |
| 15—30 | 3,65±0,35 | 4,23±0,25 | 4,01±0,32 | 1,62±0,19 |

этого потока уменьшается. Полученные различия достоверны ($P < 0,1$). При квазистационарных условиях с увеличением концентрации кальция в растворе поток из цитоплазмы в вакуоль увеличивался в той и другой зонах корня (табл. 4). Остальные потоки существенно не изменялись. Для клеток зоны растяжения при поглощении из раствора с концентрацией 10^{-4} М величины потока из цитоплазмы в наружный раствор и потоков на тонопласте были выше величин аналогичных потоков в клетках корневых волосков. При концентрации 10^{-3} М значения потоков из цитоплазмы наружу (Φ_{co}) и из цитоплазмы в вакуоль (Φ_{cv}) оставались постоянными.

При исследовании поглощения ионов часто встает вопрос о зависимости поглощения от обмена веществ. Для описания этой зависимости используют понятие активного или пассивного транспорта, а также энергозависимого и энергонезависимого транспорта. Наличие активного транспорта экспериментально определить значительно труднее, чем энергозависимого, который сравнительно легко выявляется при использовании различных ингибиторов и температуры. Оверстрит и Хендли, изучая поглощение натрия, стронция, кальция и хлора отрезками корней кукурузы в зависимости от температуры, показали, что при увеличении последней поглощение возрастает в зонах растяжения и корневых волосков и не изменяется в зоне меристемы [7, 12]. Однако в опытах со стронцием в присутствии ряда ингибиторов (азид, арсенит) не было выявлено энергозависимого поглощения ни для одной из зон корня [3].

В данной работе мы исследовали влияние ингибитора КЦХФГ на величины потоков на мембранах (табл. 5).

Ранее было показано (табл. 3) отсутствие достоверных различий в изменении потока из внешнего раствора в цитоплазму (Φ_{oc}) для клеток зон корневых волосков и растяжения. При этом величина потока из внешнего раствора в цитоплазму для клеток зоны растяжения при концентрации кальция 10^{-3} М и для клеток зоны корневых волосков при обеих его концентрациях получилась выше, чем в контроле. Увеличение потока возможно происходит из-за частичного изменения проницаемости мембраны в результате добавления этанола. В присутствии КЦХФГ для клеток зоны корневых волосков при концентрации каль-

Влияние КЦХФГ на потоки иона кальция в клетках различных зон корня кукурузы

| Варианты | Q | Q _c | Φ _{вс} | Φ _{сo} | Φ _{св} |
|---------------------------------------|---------------------|----------------|---------------------------|-----------------|-----------------|
| | мэкв/кг сырой массы | | мэкв/кг сырой массы в час | | |
| Участок корня 3—5 мм от его кончика | | | | | |
| Концентрация 10 ⁻⁴ М | | | | | |
| 1 | 2,0 | 0,95±0,09 | 0,27±0,01 | 1,44±0,18 | 0,63±0,06 |
| 2 | | 1,61±0,04 | 0,14±0,02 | 1,14±0,06 | 0,99±0,05 |
| 1 | 3,2 | 1,09±0,12 | 0,51±0,01 | 1,60±0,18 | 0,71±0,07 |
| 2 | | 1,87±0,04 | 0,48±0,05 | 1,32±0,06 | 1,14±0,07 |
| Концентрация 10 ⁻³ М | | | | | |
| 1 | 6,0 | 2,84±0,02 | 1,16±0,01 | 5,55±0,28 | 1,51±0,04 |
| 2 | | 5,07±0,40 | 0,61±0,31 | 3,57±0,17 | 1,95±0,13 |
| 1 | 12,0 | 3,62±0,04 | 3,09±0,02 | 7,06±0,28 | 1,92±0,05 |
| 2 | | 7,09±0,46 | 2,88±0,55 | 5,04±0,33 | 2,75±0,22 |
| Участок корня 15—30 мм от его кончика | | | | | |
| Концентрация 10 ⁻⁴ М | | | | | |
| 1 | 2,0 | 0,83±0,03 | 0,35±0,04 | 0,85±0,06 | 0,22±0,01 |
| 2 | | 1,06±0,01 | 0,35±0,03 | 0,62±0,03 | 0,31±0,01 |
| 1 | 10,0 | 2,32±0,02 | 2,29±0,20 | 2,40±0,23 | 0,62±0,01 |
| 2 | | 3,46±0,26 | 2,43±0,28 | 2,00±0,01 | 1,02±0,11 |
| Концентрация 10 ⁻³ М | | | | | |
| 1 | 2,2 | 1,01±0,12 | 0,46±0,10 | 1,87±0,30 | 0,48±0,02 |
| 2 | | 1,24±0,08 | 0,38±0,03 | 1,75±0,12 | 0,45±0,04 |
| 1 | 10,0 | 2,03±0,16 | 2,94±0,56 | 3,82±0,57 | 1,01±0,14 |
| 2 | | 2,69±0,20 | 2,94±0,76 | 3,78±0,22 | 0,99±0,11 |

Примечание. 1 — контроль; 2 — КЦХФГ.

ция 10⁻⁴ М отмечено достоверное увеличение его потока из цитоплазмы в вакуоль (табл. 5). В случае 10⁻³ М концентрации потоки на мембранах существенно не изменялись. Интересно, что при концентрации 10⁻³ М начинается работать так называемый механизм II, преимущественно пассивный. В зоне растяжения независимо от концентрации раствора происходило достоверное увеличение потока иона кальция из цитоплазмы в вакуоль. При концентрации 10⁻³ М величины потоков Φ_{вс} и Φ_{сo} достоверно отличались от соответствующих величин в контроле.

Таким образом, по мере дифференцировки клеток корня происходит изменение потоков на мембранах. Поток из внешней среды в клетки зоны корневых волосков меньше, чем в клетки зоны растяжения в 3,8 раза при концентрации 10⁻⁴ М и в 2,7 при концентрации 10⁻³ М. Под действием КЦХФГ происходит изменение потока из цитоплазмы в вакуоль в обеих исследованных зонах корня.

Авторы выражают искреннюю благодарность за научное руководство и помощь в работе профессору В. В. Рачинскому.

ЛИТЕРАТУРА

1. Барабанщиков М. Н., Мазель Ю. Я., Шкарин Б. И. Применение компартимент-анализа для определения потоков иона кальция в клетках корня кукурузы. — Изв. ТСХА, 1979, вып. 1, с. 10—15. — 2. Бибергаль Е. А., Мазель Ю. Я. Анатомические особенности главного корня кукурузы и их связь с поглощением ионов. — Докл. ТСХА, 1975, вып. 213, с. 77—79. — 3. Бибергаль Е. А. Радиоиндикаторное изучение особенностей поглощения рубидия и стронция растущими и функционально зрелыми зонами корня кукурузы. Автореф. канд. дис. М., 1978. — 4. Мазель Ю. Я. Поглощение ионов различными участками корня. — Физиология растений, 1975, т. 22, № 5, с. 1055—1067. — 5. Bowen G. O. — Aust. J. Biol. Sci., 1967,

- vol. 20, p. 369—372. — 6. Canning R. E. — Amer. J. Bot., 1958, vol. 45, N 5, p. 378—384. 7. Handley R., Overstreet R. — Plant Phys., 1961, vol. 36, N 6, p. 766—770. — 8. Handley R. — Sci., 1962, vol. 135, p. 731—736. — 9. L ä u c h l i A., E p s t e i n. — Plant Phys., 1971, vol. 48, p. 111—115. 10. Mackobbie, Dainty. — Aust. J. Biol. Sci. 1963, vol. 16, p. 647.—652. — 11. Macklon. — Planta, 1975, vol. 122, N 2, p. 142—150. — 12. Overstreet R., Handley R. — Plant Phys., 1963, vol. 38, p. 180—183. — 13. Pitman S. Aust. J. Biol. Sci., 1972, vol. 25, p. 243—250. — 14. Rovira A. D. — Nature, vol. 218, N 5142, p. 685—687. — 15. Rovira A. O. — Planta, 1970, vol. 93, N 1, p. 15—25. — 16. Scott G. — Aust. J. Biol. Sci., 1969, vol. 22, N 3, p. 585—593. — 17. Wiebl H. H. — Plant Phys., 1954, vol. 29, N 4, p. 342—345.

Статья поступила 4 апреля 1979 г.

SUMMARY

In using a tricompartmental model under equilibrium and quasi-stationary conditions, a change in flows on the membranes in the process of root differentiation has been discovered. For both investigated zones (the extension zone and the root hair zone) the flow from the cytoplasm into the vacuole increases at the presence of carbonylcyanide-*m*-chlorophenylhydrazone.