

**ЭКОЛОГО-ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА
МИНЕРАЛЬНОГО ПИТАНИЯ РАСТЕНИЙ**О.А. СОКОЛОВ¹, В.А. ЧЕРНИКОВ², Н.Я. ШМЫРЕВА¹

(¹ Всероссийский научно-исследовательский институт агрохимии им. Д.Н. Прянишникова; ² РГАУ-МСХА имени К. А. Тимирязева)

В основе минерального питания растений лежит функционирование транспортных белков (насосы, переносчики, каналы), осуществляющие поглощение питательных и загрязняющих веществ. Интенсивность поступления нитрата в клетки корня зависит от состояния транспортных белков на плазмалемме, pH, концентрации NO_3^- , соотношения $\text{K}^+/\text{Ca}^{2+}$ и фосфора и калия в почвенном растворе. Роль сопутствующих катионов (K^+ , Ca^{2+}) в регуляции поглощения NO_3^- не укладывается ни в одну из общепринятых схем. Катионы не транспортируются высокоспецифичным переносчиком нитрата, не индуцируют синтез переносчиков и не являются сигналом обратной связи. Тем не менее, скорость поглощения NO_3^- оказывается сопряженной с транспортом катионов в концентрационных диапазонах, характерных для большинства типов почв. Одной из причин токсичности катионов тяжелых металлов является блокирование K^+ -каналов плазмалеммы клеток корня с наружной стороны мембраны, т.е. до поступления металлов в клетку. По степени блокирования каналов катионы располагаются в следующей последовательности: $\text{Cu}^{2+} > \text{Zn}^{2+} > \text{Sr}^{2+} > \text{Cd}^{2+}$.

Ключевые слова: нитраты, аммоний, транспортные белки, нетто-поглощение, pH почвенного раствора, сопутствующие катионы, калиевые каналы, тяжелые металлы.

В основе минерального питания растений лежит поглощение ионов из почвенного раствора клетками корней, представляет собой активный процесс и обеспечивается системой транспортных белков плазмалеммы [4]. В зависимости от источника энергии и специфичности к поглощаемым ионам транспортные белки подразделяются на насосы, переносчики и каналы. Насосы – высокоспецифичные транспортные белки, которые переносят ионы против электрохимического градиента. К насосам растительных клеток относят АТФ-азы, редокс-цепи и пирофосфатазы. На плазмалемме клеток функционируют H^+ (протонная помпа) и Ca_2^+ АТФ-азы. Переносчики — группа транспортных белков, менее специфичных насосов, но более специфичных, чем каналы. Источником энергии может быть электрохимический градиент протонов на мембране. Каналы – белки с наиболее высокой скоростью транспорта. Источником энергии служит электрохимический градиент ионов, поступающих через мембрану пассивно. Каналы низкоспецифичны, тем не менее выделяют катионные каналы (калиевые, кальциевые) и анионные (хлорные).

Растения способны усваивать азот из различных химических соединений (аммоний, нитрат, аминокислоты, атмосферный азот), что зависит от вида растения, типа почвы, погодных условий и антропогенного воздействия. В большинстве возделываемых почв NO_3^- является преобладающей формой минерального азота, тогда как NH_4^+ доминирует в условиях, если подавлена нитрификация, например, при затоплении почвы или при снижении температуры. Концентрация NO_3^- в почвенном растворе варьирует в широких пределах, достигая 20 мМ при интенсивном использовании азотных удобрений. Аминокислоты могут служить источником азота для растений при замедленной минерализации органического вещества, что наблюдается в почвах с низким значением pH. Фиксация атмосферного N_2 доступна ограниченному числу видов сельскохозяйственных культур, сожительствующих с азотфиксирующими бактериями. Вклад NH_3^+ и NO_2^- в азотное питание растений незначителен, однако он может возрастать при низком содержании нитрата в почве.

Значительное количество работ по азотному питанию растений посвящено изучению поглощения нитрата как основного источника и основной запасющей формы азота в растениях. Другой причиной внимания исследователей к вопросам поглощения и ассимиляции NO_3^- стала проблема избыточной аккумуляции (накопления) нитрата в растительной продукции и водных источниках, что представляет опасность для здоровья человека и животных [5, 6].

Поглощение NO_3^- растениями в широком диапазоне концентраций является активным процессом, который обеспечивается функционированием переносчиков (транспортных белков) на плазмалемме клеток корня. Работа переносчиков регулируется рядом внешних факторов (концентрация NO_3^- , pH почвенного раствора, температура), а также внутренних сигналов, возникающих в результате ассимиляции и аккумуляции NO_3^- . В настоящее время идентифицированы гены, кодирующие переносчики нитрата, показана регуляция синтеза переносчиков на уровне транскрипции: разработаны (созданы) модели посттрансляционной регуляции переносчиков, предполагающие участие электрохимического градиента протонов, мембранного потенциала и фосфорилирования/дефосфорилирования транспортных белков.

Количество нитрата, поступающее в растение (нетто-поглощение), представляет сумму активного поступления ионов в клетку корня и оттока в окружающий раствор. Зависимость скорости нетто-поглощения нитрата от его наружной концентрации в диапазоне <1 мМ описывается уравнением Михаэлиса-Ментен. Регуляция транспорта нитрата через плазмалемму осуществляется путем изменения притока по принципу отрицательной обратной связи.

Проростки кукурузы, выращенные на растворе 1мМ CaSO_4 , имели низкую первоначальную скорость поглощения NO_3^- после перенесения их в раствор 0,1 мМ KNO_3 (рис. 1).

Скорость нетто-поглощения NO_3^- начинала возрастать после 2-часового контакта проростков с

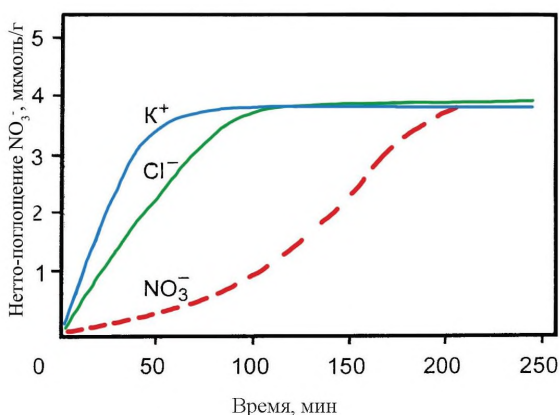


Рис. 1. Нетто-поглощение K^+ , Cl^- , NO_3^- из растворов 0,1 мМ KNO_3 (K^+ , NO_3^-) и 0,1 мМ KCl неиндуцированными проростками кукурузы

нитратом и продолжала расти во времени, несмотря на снижение концентрации ионов в растворе. Поглощение K^+ и Cl^- растениями, выращенными в отсутствие этих ионов в среде, начиналось с высокой скоростью сразу после погружения корней в раствор. Скорость нетто-поглощения K^+ и Cl^- снижалась по мере убывания содержания ионов в растворе. Исчерпание ионов сопровождалось прекращением поглощения, о чем свидетельствует выход кривых на плато.

Измерения нетто-поглощения нитрата из раствора $0,01 \text{ mM NO}_3^-$ после предобработки проростков в растворе $1 \text{ mM CaSO}_4 + 0,01 \text{ mM KNO}_3$ показали, что скорость поглощения нитрата возрастала в течение 6 ч. Максимальное повышение скорости происходило в период с 2-х до 4-х ч от начала индукции. Инкубация проростков в растворе с нитратом более 6 ч не приводила к дальнейшему повышению скорости нетто-поглощения, поэтому для полной индукции переносчиков NO_3^- требуется около 6 ч. Кинетические параметры поглощения NO_3^- варьируют в зависимости от предварительной обработки проростков в растворах, содержащих разное количество нитрата и продукты его восстановления. Обработка проростков возрастающими концентрациями нитрата приводила к снижению скорости поглощения NO_3^- [3]. Снижение скорости поглощения ионов отражает уменьшение активности транспортных белков при накоплении NO_3^- в клетках корня.

pH почвенного раствора регулирует поглощение нитратов растениями, непосредственно воздействуя на транспорт ионов в клетки корня. С pH почвы связан дефицит фосфора, железа, микроэлементов, токсичность алюминия и марганца, что непосредственно влияет на транспорт NO_3^- . Большинство растений имеет оптимум поглощения анионов в области низких значений pH.

Скорость нетто-поглощения NO_3^- корнями проростков кукурузы при разных pH зависела от ряда факторов: концентрации нитрата во время предобработки, времени предобработки, pH раствора во время предобработки (рис. 2). Наклон кривой дает представление о скорости нетто-поглощения и оттока нитрата (уменьшение/увеличение содержания NO_3^- в растворе).

Растения, предобработанные $0,01$ и 1 mM NO_3^- , имели наибольшую скорость поглощения нитрата при pH 5,0. Предобработка проростков в растворах с высокой

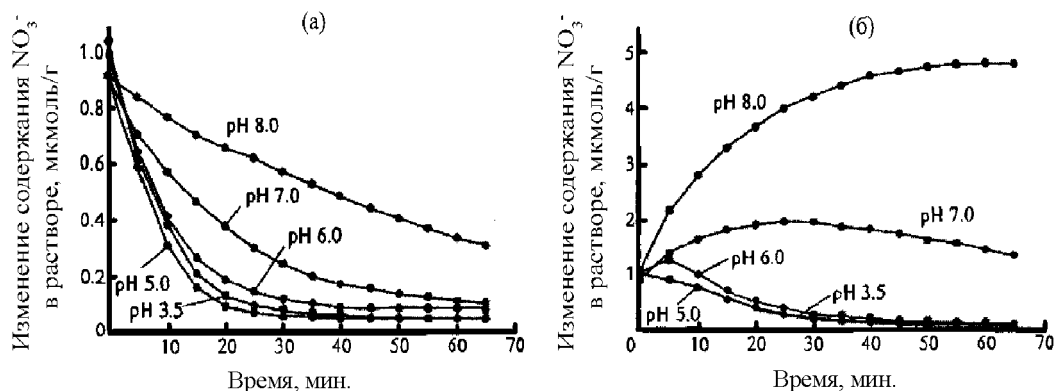


Рис. 2. Изменение содержания NO_3^- в растворе с начальной концентрацией $0,01 \text{ mM NO}_3^-$, pH 3,5–8,0 в результате поглощения проростками, предобработанными 24 ч в растворах $0,01$ (а) и $1,0$ (б) mM NO_3^- , pH 5,0

концентрацией NO_3^- приводила к последующему снижению скорости поглощения нитрата по сравнению с растениями, обработанными низкой концентрацией NO_3^- [3]. Повышение pH раствора сопровождалось оттоком NO_3^- из корней проростков, о чем свидетельствует увеличение содержания нитрата в растворе. При pH 6,0 и 7,0 отток NO_3^- сменялся нетто-поглощением, тогда как при pH 8,0 нетто-поглощение нитрата не происходило.

Роль азотных, фосфорных и калийных удобрений в аккумуляции NO_3^- в растениях неоднозначна и специфична. Так, азот минеральных удобрений непосредственно участвует в поступлении, ассимиляции и аккумуляции нитрата в растениях. Понять, какую роль азотные удобрения играют в накоплении NO_3^- в растениях, можно, только применив метод азотной индикации с тяжелым изотопом ^{15}N . При внесении возрастающих доз азотных удобрений (меченых ^{15}N) повышается содержание NO_3^- в листьях шпината (табл. 1).

Т а б л и ц а 1

**Включение азота удобрений в нитраты листьев шпината
в зависимости от доз и соотношения азота, фосфора и калия в удобрениях**

Варианты*	Содержание N- NO_3^- , мг/кг сырого вещества	Доля азота удобрения в N- NO_3^- , %
$\text{N}_0\text{P}_0\text{K}_0$	427	—
$\text{N}_1\text{P}_1\text{K}_1$	383	35,1
$\text{N}_2\text{P}_1\text{K}_1$	722	36,6
$\text{N}_1\text{P}_2\text{K}_1$	107	16,3
$\text{N}_1\text{P}_1\text{K}_2$	108	18,2

* – доза 1 равна 9 г/м² действующего вещества; доза 2 равна 22,5 г/м².

Роль сопутствующих катионов (K^+ , Ca^{2+}) в регуляции поглощения NO_3^- не укладывается ни в одну из общепринятых схем. Катионы не транспортируются высоко-специфичным переносчиком нитрата, не индуцируют синтез переносчиков и не являются сигналом обратной связи. Тем не менее скорость поглощения NO_3^- оказывается сопряженной с транспортом катионов в концентрационных диапазонах, характерных для большинства типов почв. Так, содержание нитрата в корнеплодах кормовой свеклы меняется в зависимости от доз и соотношения фосфора и калия в удобрении (рис. 3).

На фоне азотных удобрений при исходном содержании в серой лесной почве обменного калия $\left(\frac{12,5 \text{ мг}}{100 \text{ г}}\right)$ количество NO_3^- в корнеплодах повышалось по мере увеличения доз фосфора в удобрении. При высоких дозах калия содержание нитрата в корнеплодах, наоборот, снижалось по мере повышения доз фосфорных удобрений.

На фоне азотных и фосфорных удобрений повышение доз калия сопровождалось снижением количества нитратов в корнеплодах. Однако при дальнейшем повышении доз калия количество NO_3^- в корнеплодах существенно возрастало. Это происходило вследствие того, что вначале калий вызывает деполяризацию белка плазмалеммы, что ведет к снижению поступления NO_3^- в клетки корня. Однако при

дальнейшем повышении концентрации калия в почвенном растворе происходит гиперполяризация этих белков, что ведет к усилению поступления NO_3^- в клетки корня. Таким образом, регулирующая роль калия сводится к изменению электропроводности (биопотенциала) мембранных белковых систем клеток корня. При высоких концентрациях калия в почвенном растворе происходит гиперполяризация зарядов белков не только плазмалеммы, но и тонопласта, поскольку возрастает количество NO_3^- в вакуолях клеток корня (при этом содержание нитрата в цитоплазме практически не меняется).

Важную роль в регуляции состава минеральных элементов растений играют калиевые каналы клеток корня. В растениях работают несколько видов калиевых каналов: каналы с входящим выпрямлением обеспечивают поступление K^+ в клетку, каналы с выходящим направлением обеспечивают отток K^+ из клетки, каналы со слабым выпрямлением обеспечивают транспорт K^+ в обоих направлениях. Гетеромеризация Действие кальция на функционирование K^+ -каналов многообразно. Так, ионы Ca^{2+} блокируют входящие каналы устьичных клеток конских бобов, картофеля, табака и арабидопсиса; корневых клеток моркови, риса и арабидопсиса, а также клеток флоэмы арабидопсиса [2]. Таким образом, одной из причин снижения поглощения калия может быть блокирование кальцием K^+ -каналов на плазмалемме клеток с наружной стороны, т.е. до поступления K^+ в цитоплазму (рис. 4). Этот механизм лежит в основе соотношения $\frac{\text{K}}{\text{Ca} + \text{Mg}}$ в растениях (кормах) и играет важную роль в питании сельскохозяйственных животных.

Увеличение техногенного воздействия на биосферу сопровождается поступлением в окружающую среду тяжелых металлов. Добыча и переработка полезных ископаемых, выбросы предприятий теплоэнергетики и металлургии, автомобильные выхлопы, интенсивное применение удобрений и пестицидов приводят к загрязнению почвы соединениями кадмия, кобальта, цинка, никеля, свинца, ртути, меди и других тяжелых металлов. Перечисленные металлы сравнительно быстро накапливаются в почве и медленно из нее выводятся. В почвах с низкой буферной емкостью и высокой кислотностью тяжелые металлы присутствуют в подвижной форме, что создает угрозу их вымывания за пределы пахотного горизонта и попадания в водоемы и грунтовые воды. Проникая в организм человека, тяжелые металлы приводят к

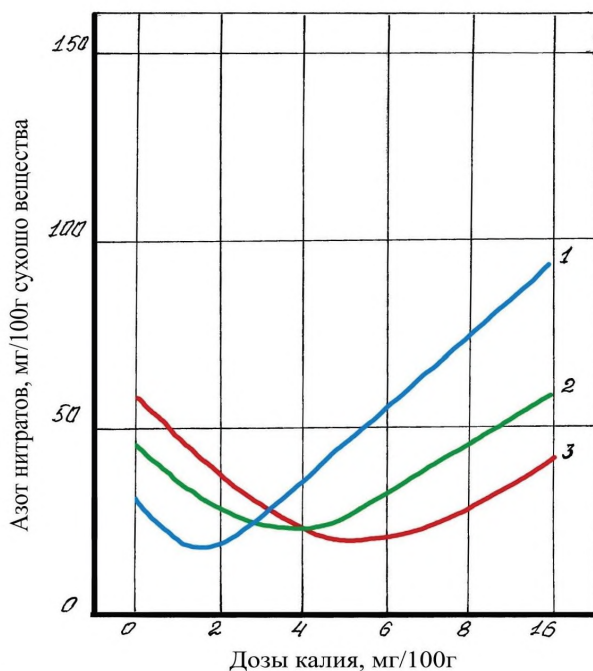


Рис. 3. Изменение содержания нитратов в корнеплодах кормовой свеклы в зависимости от доз фосфорных и калийных удобрений. Дозы P_2O_5 : 1 — P_2 , 2 — P_6 , 3 — P_{16} мг/100 г

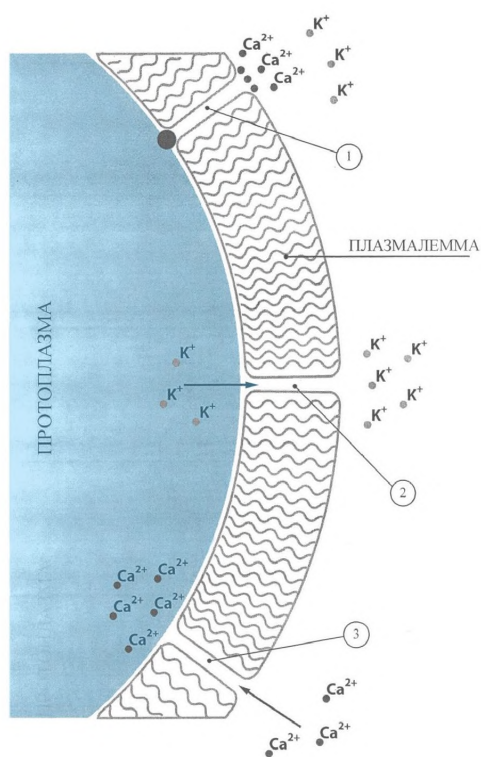


Рис. 4. Механизм действия кальция на проницаемость калиевых каналов плазмалеммы клеток корня: 1 — входящий K^+ -канал; 2 — выходящий K^+ -канал; 3 — Ca^{2+} -канал

норму, включается ряд механизмов детоксификации, направленных на связывание металлов в апопласте и симпласте, выведением в вакуоль, а также их аккумуляцию в трихомах и железках. Высокие концентрации тяжелых металлов в почве токсичны для растений, что приводит к ингибированию роста, нарушениям развития вегетативных органов, отсутствию репродуктивных органов и, как следствие, снижению урожая.

Известно, что рост растений в значительной степени зависит от поступления K^+ , выполняющего роль осмотика в процессе роста клеток растяжением, поддержании тургора, движениях устьиц, флоэмном транспорте, фото- и гравитропизме. Мутантные растения, дефицитные по гену АКТ1, кодирующему входящий K^+ -канал в клетках корня арабидопсиса, характеризуются замедленным ростом. Наши предыдущие исследования показали, что K^+ -каналы с входящим выпрямлением, локализованные в клетках корневых волосков, ризодермы и коры корня арабидопсиса, риса и моркови, участвуют в поглощении K^+ и NH_4^+ [2].

Электрическая проводимость протопластов, изолированных из корней арабидопсиса, в основном определялась K^+ -токами. Деполяризация мембраны приводила к активации каналов с выходящим выпрямлением, обеспечивающих отток K^+ из клетки. Гиперполяризация мембраны сопровождалась активацией входящих кана-

нарушениям нервной и иммунной систем, заболеваниям крови и возникновению злокачественных новообразований.

В то же время большинство тяжелых металлов являются микроэлементами, необходимыми для нормальной жизнедеятельности растений. Например, Cu^{2+} входит в состав цитохром-с-оксидазы, аминоксидазы, полифенолоксидазы и пластоцианина. Zn^{2+} входит в активный центр таких ферментов, как карбоангидраза и щелочная фосфатаза, а медь и цинк — в состав супероксид дисмутазы, катализирующей превращение супероксид-радикала O_2 в H_2O_2 . Поэтому повышение содержания Cu^{2+} и Zn^{2+} до некоторых значений, индивидуальных для каждого вида растения, приводит к увеличению биомассы и продуктивности сельскохозяйственных культур, а также к повышению их устойчивости к неблагоприятным воздействиям. Стронций входит в состав рамногалактурона, полисахарида, являющегося компонентом клеточной оболочки растений. Роль кадмия в метаболизме растений не вполне понятна, однако имеются данные о том, что небольшие концентрации этого металла стимулируют рост некоторых культур.

Когда содержание тяжелых металлов в растении превышает физиологическую

лов, опосредующих приток K^+ в клетку. Потенциал реверсии K^+ -токов был близок к теоретическому калий-равновесному потенциалу, а десятикратное изменение концентрации K^+ приводило к сдвигу потенциала реверсии приблизительно на 58 мВ в соответствии с уравнением Нернста для одновалентных катионов. Входящие K^+ -каналы были так же проницаемы для NH_4^+ , непроницаемы для Na^+ и блокировались ионами Cs^+ , Ca^{2+} и Ba^{2+} [2].

В настоящей работе мы исследовали влияние ионов тяжелых металлов Cd^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} и Sr^{2+} на активность, кинетику и вольтамперные характеристики входящих и выходящих K^+ -токов. В конфигурации «whole cell» в растворах, содержащих 30 мМ K^+ с наружной и 150 мМ K^+ с цитоплазматической стороны, изменение напряжения с -48 мВ до -188 мВ приводило к активации медленных входящих токов (рис. 5а-г).

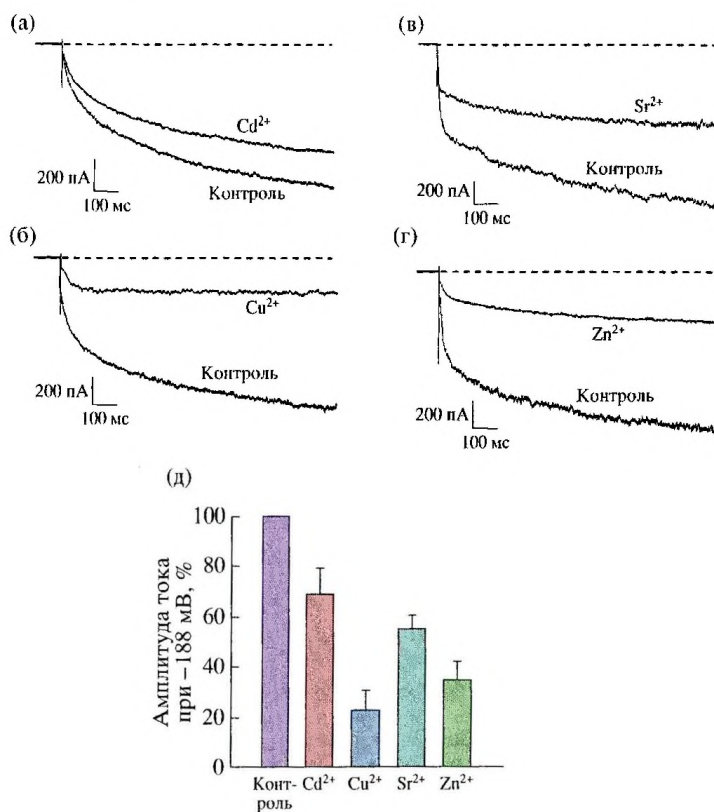


Рис. 5. Блокирование входящих токов в протопластах корневых клеток арабидопсиса металлами. K^+ -токи, активируемые в конфигурации «whole-cell» при изменении напряжения с -48 мВ до -188 мВ в отсутствии (контроль) и в присутствии 1 мМ Cd^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} и Sr^{2+} (а-г). Наружный раствор содержал 20 мМ $CaCl_2$, 30 мМ K -глюконата, 1- мМ $Mes/Tris$ (pH 5,6), а также 1 мМ $CdCl_2$ (а), $CuCl_2$ (б), $SrCl_2$ (в) и $ZnCl_2$ (г). Процентное изменение амплитуд K^+ -токов в присутствии тяжелых металлов и стронция (д). Данные представляют средние значения и стандартные ошибки для 12 протопластов (4 эксперимента в 3 повторностях). Условия измерений те же, что на рис. (а-г)

Добавление в наружный раствор 1 мМ Cd^{2+} , Cu^{2+} , Sr^{2+} и Zn^{2+} снижало амплитуды K^+ -токов приблизительно на 30% в присутствии Cd^{2+} , 80% — Cu^{2+} , 50% — Sr^{2+} и 70% — Zn^{2+} (рис. 5д).

По степени ингибирования входящих K^+ -каналов катионы металлов располагались в последовательности $\text{Cu}^{2+} > \text{Zn}^{2+} > \text{Sr}^{2+} > \text{Cd}^{2+}$. Высокие концентрации тяжелых металлов, в частности, 5 мМ Cu^{2+} (рис. 6б) полностью блокировали входящие токи. В течение 5 мин. также наблюдалось медленное ингибирование выходящего K^+ -тока, активирующегося при деполяризации потенциала на мембране (рис. 6в). Снижение амплитуды выходящего тока при напряжении +52 мВ составило около 35%. Поскольку металлы в большей степени блокировали выходящие каналы, чем входящие, были проведены дополнительные исследования блока входящих каналов.

Для изучения механизма блокирования входящих K^+ -каналов катионами тяжелых металлов и стронцием было проведено изучение вольтамперной зависимости, активации и деактивации K^+ -токов в присутствии ионов меди (рис. 7).

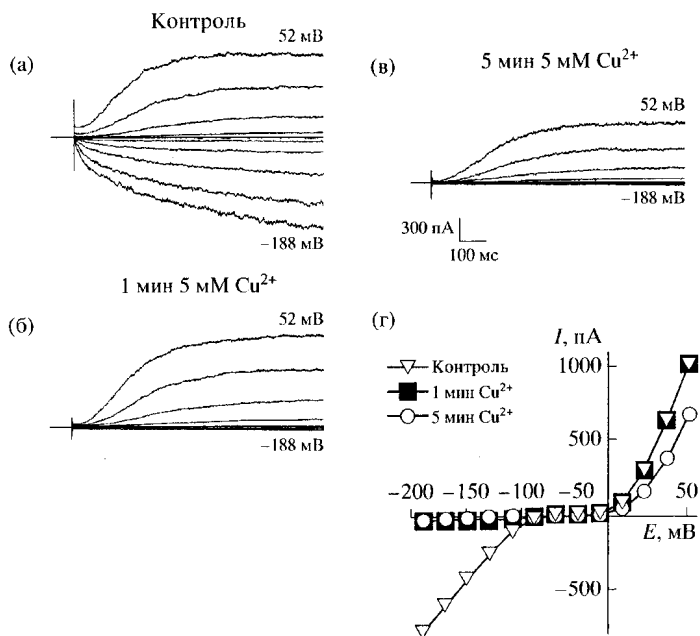


Рис. 6. Блокирование выходящих токов в протопластах корневых клеток арабидопсиса Cu^{2+} . K^+ -токи в отсутствии Cu^{2+} (а), а также через 1 мин. (б) и 5 мин. (в) после добавления в раствор 5 мМ CuCl_2 . Контрольный раствор содержал 20 мМ CaCl_2 , 30 мМ К-глюконата, 10 мМ Mes/Tris (pH 5,6). Токи регистрировали при изменении напряжения с -48 мВ в диапазоне от +52 до -188 мВ шагом в -20 мВ. Вольтамперная характеристика K^+ -токов в отсутствие Cu^{2+} (контроль), а также через 1 и 5 мин. после добавления в раствор 5 мМ Cu^{2+} (г). На графике показаны амплитуды K^+ -токов, измеренные в конце первой секунды изменения напряжения в диапазоне от +52 до -188 мВ. Условия измерений те же, что на рис. (а-в)

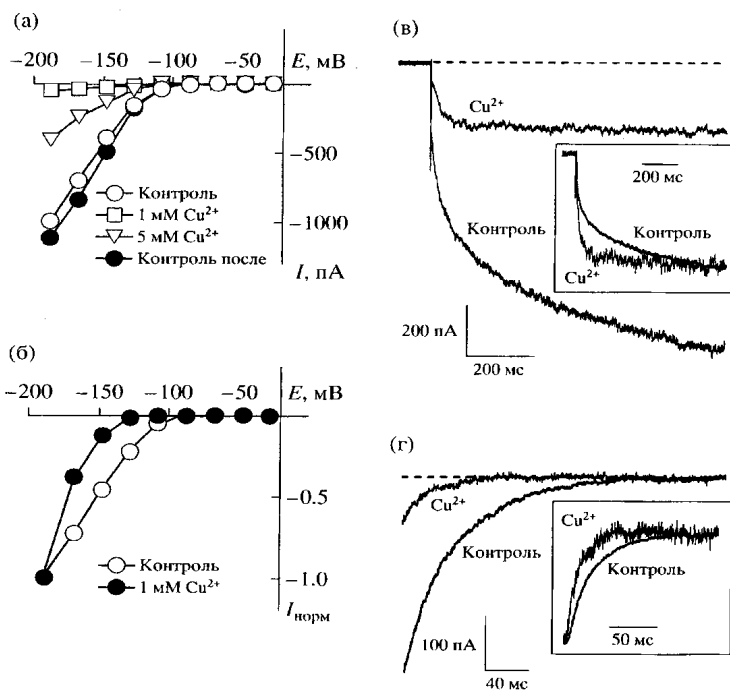


Рис. 7. Электрические характеристики Cu^{2+} -блока входящих K^+ -каналов в протопластах корневых клеток арабидопсиса. (а) — Вольтамперная характеристика K^+ -токов в отсутствии и присутствии 1 и 5 мМ Cu^{2+} , после чего возвращались к исходному раствору (контроль после). На графике показаны амплитуды K^+ -токов, измеренные в конце первой секунды изменения напряжения в диапазоне от -28 до -188 мВ. (б) — Зависимость активации K^+ -токов от напряжения на мембране в отсутствии (контроль) и в присутствии 1 мМ Cu^{2+} . Амплитуда токов нормализованы по отношению к -188 мВ. (в) — Временная зависимость активации K^+ -токов при изменении напряжения с -48 до -188 мВ в отсутствии и в присутствии 1 мМ Cu^{2+} в наружном растворе. На вставке показаны нормализованные токи. (г) — Временная зависимость деактивации K^+ -токов при изменении напряжения с -188 до -88 мВ в отсутствии 1 мМ Cu^{2+} в наружном растворе. На вставке показаны нормализованные токи

Cu^{2+} блокировал K^+ -каналы обратимо. Замена растворов, содержащих 1 и 5 мМ Cu^{2+} , на раствор, не содержащий Cu^{2+} , приводила к полному восстановлению активности каналов (рис. 7а). Как показала нормализация амплитуды токов к значениям при -188 мВ, Cu^{2+} блок сопровождался сдвигом потенциала активации K^+ -каналов в сторону более отрицательных напряжений приблизительно на -40 мВ (рис. 7б). Присутствие в растворе Cu^{2+} также оказывало влияние на активацию и деактивацию каналов. Скорость активации канала оценивали при изменении напряжения с -48 до -188 мВ. Поскольку временная зависимость активации удовлетворительно описывалась суммой более чем двух экспонент, для оценки скорости использовали время полуактивации тока ($t_{1/2}$). Если в отсутствие тяжелых металлов $t_{1/2}$ для входящих K^+ -токов составила 470 мс, то добавление в наружный раствор 1 мМ Cu^{2+}

сокращало $t_{1/2}$ до 155 мс (рис. 7в). В меньшей степени, на 58 и 40 мс, снижали $t_{1/2}$ Zn^{2+} и Sr^{2+} соответственно, тогда как Cd^{2+} практически не оказывал воздействие на $t_{1/2}$ (рис. 5а, в, г). По степени ускорения активации K^+ -каналов тяжелые металлы и стронций располагались в той же последовательности, в которой они снижали амплитуду токов, т.е. $Cu^{2+} > Zn^{2+} > Sr^{2+} > Cd^{2+}$. Деактивация входящих токов при изменении напряжения с -188 до 88 мВ удовлетворительно описывалась одной экспонентой и в отсутствие тяжелых металлов характеризовалась $\tau \approx 30$ мс. Ионы Cu^{2+} снижали τ приблизительно на 1/3 (рис. 7г), тогда как Zn^{2+} , Sr^{2+} и Cd^{2+} не оказывали заметного воздействия на этот параметр (данные не показаны).

Анализ полученных данных выявил, что блокировка K^+ -каналов катионами тяжелых металлов и стронция отличается от блокировки другими двухвалентными катионами, например, Ca^{2+} . Кальций блокировал входящие K^+ -каналы устьичных клеток *Vicia faba*, *Solanum tuberosum*, *Nicotiana tabacum*, *Arabidopsis thaliana*, корневых клеток *Daucus carota*, *Oryza sativa*, *Arabidopsis thaliana*, а также клеток флоэмы *Arabidopsis thaliana*. Ионы Ca^{2+} вызывали потенциал-зависимый блок, увеличивающийся при повышении отрицательного потенциала на мембране, замедление деактивации каналов и сдвиг потенциала активации к более положительным значениям. В экспериментах с тяжелыми металлами и стронцием мы не наблюдали потенциал-зависимый блок K^+ -токов, а потенциал активации каналов сдвигался к более отрицательным значениям (рис. 7а, б). В отличие от Ca^{2+} тяжелые металлы не замедляли деактивацию K^+ -каналов (рис. 7в, г). И, наконец, как и Ca^{2+} , тяжелые металлы обратимо блокировали K^+ -каналы (рис. 7а).

Эти данные показывают, что тяжелые металлы имеют место связывания с наружной стороны канала. Взаимодействуя с местом связывания, тяжелые металлы изменяют потенциал-зависимость канала, о чем свидетельствует сдвиг потенциала активации к более отрицательным значениям. В отличие от Ca^{2+} катионы тяжелых металлов и стронция более прочно фиксированы в поре канала, поскольку не продвигаются под воздействием электрического поля в более глубокую часть канала и не вызывают потенциал-зависимый блок, а также не замедляют деактивацию канала.

Кадмий, медь и цинк являются наиболее токсичными для растений, поскольку нарушают поглощение и транспорт неорганических ионов, транспирацию, фотосинтез, а также индуцируют окислительный стресс. Токсичность этих металлов обусловлена несколькими механизмами: способностью замещать другие металлы в реакционных центрах ферментов, блокированием функциональных групп в биомолекулах и иницированием образования активных форм кислорода. Показано, что цинк вытесняет Mg^{2+} из рибулозо-1,5-бисфосфат карбоксилазы/оксигеназы, что приводит к потере активности фермента. Cd^{2+} может замещать Ca^{2+} в белке кальмодулине, участвующем в сигнальных процессах клетки. Ионы меди взаимодействуют с компонентами фотосистемы II: акцептором электронов Q_B и цитохромом b_{559} , ингибируя фотосинтез. Медь может подвергаться автоокислению с образованием супероксид-радикала Q_2^- и последующим формированием H_2O_2 и OH^\cdot , что приводит к окислительному стрессу. Образование активных форм кислорода также вызывают кадмий и цинк, однако механизм действия этих металлов не вполне понятен. Стронций привлекает внимание в связи с проблемой фиторемедиации почв, загрязненных радионуклидами. Радиоактивный изотоп стронция ^{90}Sr с периодом полураспада 29 лет является продуктом цепной реакции

деления ядер урана и плутония, используемых в ядерных реакторах и оружии массового поражения. Причины токсичности стронция точно неизвестны, однако они приводят к снижению роста корней, особенно при низких концентрациях Ca^{2+} .

Выращивание арабидопсиса на питательных средах, содержащих 1 мМ Cd^{2+} , Cu^{2+} , Sr^{2+} и Zn^{2+} , оказывало влияние как на прорастание семян, так и на последующий рост растений. На среде, содержащей Sr^{2+} и Zn^{2+} , как и в контрольных условиях, проросло около 90% семян, но на сутки позже. У растений, выращиваемых в присутствии Sr^{2+} , наблюдалось 40%-ное снижение длины корня. Zn^{2+} вызывал снижение длины корня на 60%, а также хлороз листьев. На растворах с Cu^{2+} и Cd^{2+} проросло около 50% семян. Выращивание растений на этих средах сопровождалось значительным снижением роста побега и корня, нарушением гравитропизма и хлорозом (на среде с Cu^{2+}). Наибольшее подавление роста растений наблюдалось в присутствии Cu^{2+} , затем Cd^{2+} , и в меньшей степени – Zn^{2+} и Sr^{2+} . Поскольку Cd^{2+} был наименее эффективным блокатором K^+ -каналов, но чрезвычайно токсичным для растений, действие этого металла не может быть связано напрямую с ингибированием K^+ -каналов корня. Ионы стронция оказывали наименее выраженное воздействие на рост растений. Учитывая то, что содержание стронция в загрязненных почвах не превышает нескольких сотен миллиграмм на килограмм, токсичность этого металла, по крайней мере, для арабидопсиса, остается под вопросом. В то же время фитотоксичность меди и цинка, содержание которых в почвах вблизи промышленных объектов достигается тысяч миллиграмм на килограмм, может быть связано, наряду с другими факторами, с блокированием K^+ -каналов плазмалеммы клеток корня.

Таким образом, одной из причин токсичности катионов тяжелых металлов может быть блокирование K^+ -каналов плазмалеммы клеток корня с наружной стороны мембраны, то есть до поступления этих металлов в цитоплазму.

Заключение

Поглощение NO_3^- клетками корня растений в широком диапазоне концентраций является активным процессом и описывается кривой с плато, связанного с синтезом белков. Клетки корня поглощают наибольшее количество NO_3^- при pH 5,0, дальнейшее повышение pH сопровождается усилением оттока NO_3^- и клеток корня. Нитраты в растениях накапливаются в основном за счет NO_3^- почвы. Высокое содержание калия в почве сопровождается гиперполяризацией белков плазмалеммы и повышением содержания NO_3^- в клетке.

Одной из причин изменения $\text{K}^+/\text{Ca}^{2+}$ в растениях является блокирование ионами кальция калиевых каналов плазмалеммы клеток корня с наружной стороны мембраны. Тот же принцип сохраняется в основе токсичного действия тяжелых металлов (ТМ) на растения. Катионы ТМ блокируют входящие K^+ -каналы протоплазмы на 20–70% их пропускной способности. ТМ в высоких концентрациях блокируют выходящие K^+ -каналы, участвующие в оттоке K^+ из клеток корня. По степени блокирования K^+ -каналов катионы ТМ располагаются в ряд $\text{Cu}^{2+} > \text{Zn}^{2+} > \text{Sr}^{2+} > \text{Cd}^{2+}$.

Библиографический список

1. Завалин А.А., Благовещенская Г.Г., Чернова Л.С., Шмырева Н.Я. Управление азотным питанием растений в почве // *Агрохимический вестник*. 2012. № 4. С. 38–40.
2. Ивашикина Н.В., Соколов О.А. Блокирование калиевых каналов клеток корня тяжелыми металлами и стронцием. *Агрохимия*. 2006. № 12. С. 47–53.
3. Ивашикина Н.В., Соколов О.А. Отрицательная обратная регуляция нетто-поглощения нитрата проростками кукурузы. Докл. РАН. 1995. Т. 342. № 3. С. 424.
4. Осипов А.И., Соколов О.А. Экологическая безопасность и устойчивое развитие. Кн. 4. Роль азота в плодородии почв и питании растений. СПб. 2001. 360 с.
5. Соколов О.А., Бубнова Т.В. Атлас распределения нитратов в растениях. Пушкино: ОНТИ. 1989. 67 с.
6. Соколов О.А., Семенов В.М., Агаев В.А. Нитраты в окружающей среде. Пушкино: ОНТИ. 1990. 317 с.
7. Соколов О.А., Шмырева Н.Я., Завалин А.А. Изменение потоков азота в агрофитоценозе на эродированной почве // *Агроэкология*. 2015. № 2. С. 25–27.
8. Черников В.А., Соколов О.А. Стратегия получения экологической безопасной продукции // *Агроэкология*. 2014. № 1. С. 13–18.

ECOLOGICAL AND PHYSIOLOGICAL EVALUATION OF MINERAL NUTRITION OF PLANTS

O.A. SOKOLOV¹, V.A. CHERNIKOV², N.YA. SHMYREVA¹

(¹ D.N. Pryanishnikov All-Russian Research Institute of Agricultural Chemistry; ² Russian Timiryazev State Agrarian University)

The basis of mineral nutrition of plants is the operation of transport proteins (pumps, transporters, channels) which absorb nutrients and pollutants. The intensity of nitrates absorption by the root cells is dependent on the state of transport proteins located on plasma membranes, pH, concentrations of NO₃⁻; the ratio K⁺/Ca²⁺ as well as the ratio phosphorus/potassium in the soil solution. The role of accompanying cations (K⁺, Ca²⁺) in NO₃⁻ absorption control does not fit into any common scenario. Cations are not transported by highly specific nitrate transport proteins, do not induce synthesis of transport proteins or cause any impact. Nevertheless, the speed of NO₃⁻ absorption is influenced by cation transport within specific concentration ranges typical of most soil types. One of the reasons for the toxicity of heavy metal cations is the blockage of K⁺-channels in plasmalemma of root cells on the outside of the membrane until these metals are not received in the cell. According to the degree of channels blockage the cations are ranged in the following sequence: Cu²⁺ > Zn²⁺ > Sr²⁺ > Cd²⁺.

Key words: nitrates, ammonia, transport proteins, net absorption, pH of the soil solution, accompanying cations, potassium channels, heavy metals.

References:

1. Zavalin A.A., Blagoveshchenskaya G.G., Chernova L.S., Shmyreva N.Ya. Upravlenie azotnym pitaniem rasteniy v pochve [Management of plant nitrogen nutrition in the soil]. *Agrokhimicheskiy vestnik* [Agrochemical Journal]. 2012. № 4. P. 38–40.

2. *Ivashikina N.V., Sokolov O.A.* Blokirovaniye kalievyykh kanalov kletok kornja tzhzhelymi metallami i stronciem [Blocking the potassium channels of the root cells by heavy metals and strontium]. *Agrohimija [Agricultural Chemistry]*. 2006. № 12. P. 47–53

3. *Ivashikina N.V., Sokolov O.A.* Otricatel'naya obratnaya reguljacija netto-pogloshhenija nitrata proroskami kukuruzy [Negative feedback regulation of net absorption of nitrates by corn sprouts]. *Doklady RAN [Proc. of the Russian Academy of Sciences]*. 1995. Vol. 342. № 3. 424 p.

4. *Osipov A.I., Sokolov O.A.* Ekologicheskaja bezopasnost' i ustojchivoe razvitie [Environmental security and sustainable development]. Rol' azota v plodorodii pochv i pitanii rastenij [The role of nitrogen in soil fertility and plant nutrition]. St. Petersburg. 2001. 360 p.

5. *Sokolov O.A., Bubnova T.V.* Atlas raspredelenija nitratov v rastenijah [Nitrate distribution atlas in plants]. Puschino: ONTI. 1989. 67 p.

6. *Sokolov O.A., Semenov V.M., Agaev V.A.* Nitraty v okruzhayushchey srede [Nitrates in the environment]. Puschino: ONTI. 1990. 317 p.

7. *Sokolov O.A., Shmyreva N.Ya., Zavalin A.A.* Izmenenie potokov azota v agrofytotsenoze na erodirovannoy pochve [Nitrogen flows changes in agrophytocenoses on eroded soils]. *Agroekologiya [Agroecology]*. 2015. № 2. P. 25–27.

8. *Chernikov V.A., Sokolov O.A.* Strategiya polucheniya ekologicheskoy bezopasnoy produktsii [The strategy of producing environmentally friendly products]. *Agroekologiya [Agroecology]*. 2014. № 1. P. 13–18.

Соколов Олег Алексеевич — д. б. н., гл. науч. сотр. Всероссийского научно-исследовательского института агрохимии им. Д.Н. Прянишникова (127550, г. Москва, ул. Прянишникова, 31а; тел.: (903) 682-39-29).

Черников Владимир Александрович — д. с.-х. н., проф. кафедры экологии РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева (127550, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49; тел.: (916) 509-01-43).

Шмырева Нина Яковлевна — к. б. н., вед. науч. сотр. Всероссийского научно-исследовательского института агрохимии им. Д.Н. Прянишникова (127550, г. Москва, ул. Прянишникова, 31а; тел.: (962) 995-82-08).

Sokolov Oleg Alekseevich — Doctor of Biological Sciences, chief researcher, D.N. Pryanishnikov All-Russian Research Institute of Agricultural Chemistry (127550, Russia, Moscow, Pryanishnikova str., 31a; tel.: +7 (903) 682-39-29).

Chernikov Vladimir Aleksandrovich — Doctor of Agricultural Sciences, Professor of the Department of Ecology, Russian Timiryazev State Agrarian University (127550, Russia, Moscow, Timiryazevskaya str., 49; tel.: +7 (916) 509-01-43).

Shmyreva Nina Yakovlevna — Ph.D in Biology, leading researcher, D.N. Pryanishnikov All-Russian Research Institute of Agricultural Chemistry (127550, Russia, Moscow, Pryanishnikova str., 31a; tel.: +7 (962) 995-82-08).