

УДК 581.13.133.8:621.039.85

**ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ ИОНОВ КАЛИЯ И КАЛЬЦИЯ
В КЛЕТКАХ ЗОН КОРНЯ КУКУРУЗЫ
В ПРИСУТСТВИИ АЗИДА НАТРИЯ**

М. Н. БАРАБАНЩИКОВ, Ю. Я. МАЗЕЛЬ

(Кафедра прикладной атомной физики и радиохимии)

В клетках зон корня кукурузы были изучены ионные потоки калия К (^{86}Rb) и кальция Са (^{45}Ca) в присутствии ингибитора дыхания азида натрия. При этом использовали параметры, полученные в результате графического разложения кинетических кривых выхода меченого элемента из ткани, и имеющиеся представления о трехкомпарментальной модели клетки. Проведенная параллельно регистрация значений мембранного потенциала позволила определить электрохимическое состояние ионов на мембранах в соответствии с уравнением Уссинга — Теорелла.

В настоящее время накоплен обширный экспериментальный материал о поглощении ионов различными участками корней пшеницы, кукурузы, ячменя и т. д., позволяющий проследить формирование поглощительного аппарата клеток корня [12—14]. Использование таких критериев, как уменьшение поглощения при изменении температуры или добавлении ингибиторов, позволило описать выявленные различия в поглощении по длине корня с точки зрения энергозависимого или энергонезависимого процессов. При этом в меристематических клетках поглощение натрия, стронция, хлорида и рубидия оказалось энергозависимым, а в клетках других зон — энергозависимым [8, 10, 14]. Однако такая характеристика процесса недостаточно полная, поскольку она не отражает существующего распределения иона на мембранах клеток корня и его изменения при различных условиях. Результат может быть достигнут в том случае, если будут привлечены представления электрохимической концепции, при которой вычисление градиента электрохимических потенциалов не проводится, а о характере транспорта судят по его направлению. При этом в качестве критерия используют уравнение Уссинга — Теорелла.

Задачей настоящих исследований является определение влияния ингибитора дыхания на электрохимическое состояние ионов калия и кальция в клетках различных зон корня. В работе использовали корни двухдневных проростков кукурузы сорта Стерлинг. Определяли величины потоков на мембранах и измеряли мембранные потенциалы (МП) клеток различных зон корня. Полученные результаты использовали в дальнейшем для вычислений согласно уравнению Уссинга — Теорелла.

Определение величин потоков проводили методом радиоактивных индикаторов. В качестве радиоиндикаторов ионов калия и кальция применяли ^{86}Rb (неизотопный индикатор) и ^{45}Ca (изотопный индикатор). Потоки меченого рубидия и кальция измеряли в меристематических клетках (0—1 мм от кончика корня), в клетках зон растяжения (3—5 мм) и корневых волосков (15—30 мм). Границы зон были взяты из работы [4]. В ходе опытов проростки кукурузы для насыщения помещали в среду следующего состава: глюкоза — 10 г/л, меченый калий или кальций — 10^{-4} М. Время насыщения 4 ч. Удельная активность раствора колебалась от 3,7—14,8 кБК/мл. Радиоактивность промывного раствора измеряли на жидкостно-сцинтилляционном р-спектрометре «Марк-П» в сцинтилляторе Брея.

Значения потоков вычисляли, используя параметры, которые получали при графическом разложении кинетической кривой выхода меченого элемента из ткани и исходя из представлений о трехкомпарментальной модели клетки для квазистационарных условий

$$\Phi_{\text{netto}} = \Phi_{\text{oc}} - \Phi_{\text{co}} = \Phi_{\text{cv}} - \Phi_{\text{vc}} = \text{Const.}$$

Однако расчет потоков в меристематических клетках с использованием трехкомпарментальной модели невозможен из-за иной организации компарментов клетки (появления в ряде случаев на кинетических кривых выхода «плеча» — всплеска активности). Для клеток этой зоны корня требуется другая математическая модель.

Разность потенциалов на мембранах клеток корня регистрировали с помощью микроэлектродной техники по общепринятой методике [6]. В качестве ингибитора использовали азид натрия, действие которого достаточно быстро проявляется в дыхательной цепи между цитохромами a_1/a_2 [16].

Ранее нами был рассмотрен вопрос о возможности применения трехкомпарментальной модели клетки для расчета ионных потоков на мембранах и о необходимости учета целого комплекса факторов, влияющих на точность определения, таких, как условия состояния системы, время насыщения, полнота протекания изотопного обмена, правильность графического разложения кинетической кривой [1, 9]. Результаты определения потоков меченого калия и кальция представлены в работах [2, 3]. При этом следует подчеркнуть, что, за исключением потока из внешнего раствора в цитоплазму (Φ_{oc}), не зависящего от содержания изотопно-обменного элемента в клетке (Q), численные значения всех остальных потоков находятся в прямо пропорциональной линейной зависимости от Q . В свою очередь, значение Q может находиться в интервале $Q_{\text{min}} \leq Q \leq Q_{\text{max}}$, где Q_{min} и Q_{max} соответственно минимально и максимально возможное содержание изотопно-обменных форм данного элемента в клетке. В качестве максимальной величины Q_{max} следует принять валовое содержание элемента, а минимальной — значение Q , при котором поток на тонопласте $\Phi_{\text{vc}} = 0$, так как его отрицательная величина не имеет смысла. Учитывая вышесказанное, при проведении расчетов брали весь диапазон значений Q . В табл. 1 приведены численные значения потока меченого элемента из внешнего раствора в цитоплазму (Φ_{oc}). В целом полученные результаты можно суммировать следующим образом: 1) за исключением потока меченого калия из внешнего раствора в цитоплазму, азид натрия не изменял другие потоки кальция и калия в клетках зоны корневых волосков; 2) в клетках зоны растяжения ингибитор вызывал достоверное уменьшение потока иона кальция из цитоплазмы во внешний раствор (Φ_{co}) и увеличение потока из цитоплазмы в вакуоль (Φ_{cv}). Значения ионных потоков калия Φ_{oc} и Φ_{cv} в клетках этой зоны корня достоверно снижались.

Как было показано в ряде работ, при внесении в среду ингибиторов дыхания изменялся МП у клеток листьев пшеницы, кукурузы [5], стебля тыквы [7], колеоптиля овса [15]. Наблюдаемые изменения носили обратимый характер и были отнесены за счет зависимой от мета-

Потоки меченого рубидия и кальция из внешнего раствора в цитоплазму клеток корня кукурузы (мэкв/кг сырой массы в 1 ч)

Зона корня	Rb		Ca	
	контроль	+ азид натрия	контроль	+ азид натрия
Растяжения, 3—5 мм	2,16±0,13	1,18±0,15	4,1±0,2	3,6±0,1
Корневых волосков, 15—30 мм	0,89±0,07	0,60±0,02	0,64±0,04	0,57±0,03

близма составляющей мембранной разности потенциалов. Зарегистрированные нами значения МП составили в контроле 121±8 и 127+4 мВ для клеток зон растяжения и корневых волосков, а в присутствии азид натрия — соответственно 105±4 и 99±5 мВ. Полученные значения МП для клеток различных зон корня оказались близкими, что указывает на существование эквипотенциальности по длине корня ку-

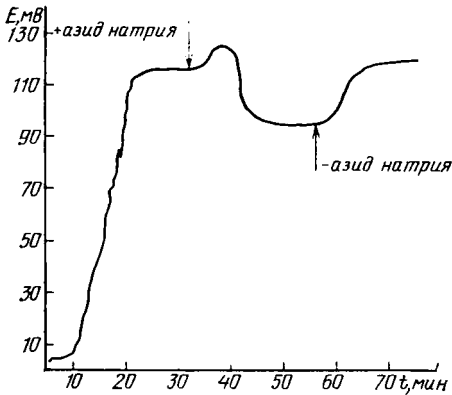


Рис. 1. Кривая регистрации значений мембранного потенциала в клетках зоны растяжения корня кукурузы в присутствии азид натрия.

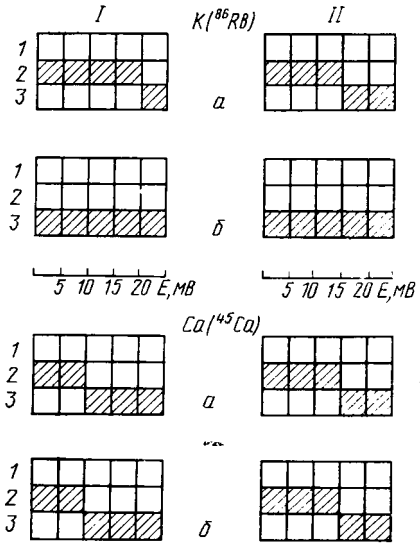


Рис. 2. Электрохимическое распределение ионов калия и кальция на тонопласте клеток зон корня кукурузы. I — контроль; II — азид натрия; а — зона корневых волосков; б — зона растяжения.

курузы. При введении в среду азид натрия в начальный момент времени наблюдалась небольшая гиперполяризация мембраны с последующим быстрым снижением мембранного потенциала (рис. 1). Удаление ингибитора дыхания из раствора приводило к тому, что разность потенциалов постепенно возвращалась к исходному состоянию. Наиболее существенно МП снизился в клетках зоны корневых волосков, где разница между исходным его значением и МП в присутствии ингибитора достигала —32 мВ. Измеренные величины потоков МП позволили установить электрохимическое распределение ионов в клетках корня (рис. 2) и рассчитать коэффициенты проницаемости. Критерием активного транспорта служило удовлетворение отношения потоков неравенству $0,5 > \frac{A}{B} > 2$, где A — отношение потоков, рассчитанное по уравнению Уссинга — Теорелла; B — отношение потоков, найденное экспериментально. Применение данного критерия дает возможность учитывать ошибки как определения отдельных параметров, входящих в уравнение Уссинга — Теорелла, так и экспериментального измерения этого отношения [9].

Как было установлено, при концентрации внешнего раствора 10^{-1} мМ транспорт иона кальция через плазмалемму клеток обеих зон

корня носит активный характер и направлен во внешнюю среду. Такое распределение иона на мембране сохранялось при добавлении азид натрия. В присутствии ингибитора не изменялось также электрохимическое состояние иона калия на плазмалемме клеток зоны корневых волосков, при котором ион активно поступал в цитоплазму. На этой мембране только у растягивающихся клеток при внесении в среду азид натрия наблюдался переход от активного поступления иона в клетку к его пассивному распределению.

Необходимую для расчетов величину разности потенциалов на тонопласте, особенно в клетках высших растений, измерить технически сложно. По имеющимся данным [11], уменьшение потенциала на тонопласте по сравнению с его уменьшением на плазмалемме незначительное. Поскольку непосредственных измерений МП тонопласта мы не проводили, в расчетах был использован широкий диапазон значений — от 5 до 25 мВ.

Т а б л и ц а 2

Коэффициенты проницаемости ионов калия и кальция ($P_i \cdot 10^{-8}$) через плазмалемму и тонопласт (в скобках)

Зона корня	К		Са	
	контроль	+ азид натрия	контроль	+ азид натрия
Растяжения	4,1 (0,2)	5,6 (0,2)	10,7 (0,3)	9,1 (0,5)
Корневых волосков	2,6 (0,5)	3,8 (0,4)	1,8 (0,5)	1,6 (0,7)

В пределах интервала значений МП на тонопласте клеток зоны корневых волосков было выявлено пассивное распределение иона калия. Оно сохранялось при добавлении в раствор ингибитора дыхания и лишь при значении $E_a \geq 20$ мВ приобретало активный характер транспорта в вакуоль. Для растягивающихся клеток корня как в исходном состоянии, так и в присутствии азид натрия наблюдалось активное поступление иона в вакуоль. Электрохимическое распределение иона кальция на тонопласте клеток зоны корневых волосков и растяжения носило двойной характер: при низких значениях МП (≤ 10 мВ) — пассивное распределение, а при возрастании МП (> 10 мВ) — активный транспорт в вакуоль. Добавление ингибитора несколько подавляло активную составляющую такого распределения, расширяя границу значений МП, при которых на мембране устанавливался пассивный транспорт.

Коэффициенты проницаемости калия и кальция для плазмалеммы (табл. 2) колебались в пределах $1,6—10,7 \cdot 10^{-8}$ см \cdot с $^{-1}$, что совпадает с величинами, полученными в ряде других работ [11, 13, 15]. При этом проницаемость мембраны в клетках зоны растяжения была в 1,5 раза выше для ионов калия и в 5 раз выше для ионов кальция. Отсутствие изменений электрохимического состояния ионов на плазмалемме клеток корневых волосков в присутствии ингибитора проявилось и в сохранении практически постоянного значения коэффициента проницаемости. Добавление в раствор азид натрия не приводило к изменениям проницаемости тонопласта для иона кальция и калия в клетках обеих зон корня.

Применение положений электрохимической концепции позволяет выявить состояние иона на мембране и характер его транспорта. Необходимые для расчетов параметры можно получить путем измерения соответствующих ионных потоков и мембранных потенциалов. Как было показано, распределение ионов на плазмалемме клеток зоны растяжения и корневых волосков носит одинаковый характер — активный транспорт иона кальция из цитоплазмы во внешний раствор и актив-

ный транспорт иона калия в клетку. Такое состояние ионов на мембране не изменялось при внесении в среду ингибитора, за исключением электрохимического состояния калия в растягивающихся клетках. Поддержание устойчивого термодинамического равновесия является одной из отличительных свойств клетки, которая, изменяя свои параметры, в данном случае потоки и величины МП, поддерживает исходное состояние при различных воздействиях на мембрану. Можно предположить, что переход к пассивному распределению иона калия через плазмалемму растягивающихся клеток и достоверное снижение потока из внешнего раствора в цитоплазму в присутствии азидата натрия указывают на осуществление активного поступления иона в клетку за счет энергии электронтранспортной цепи (ЭТЦ), а также на возможность различий в структуре плазмалеммы клеток различных зон корня.

Изменения в электрохимическом состоянии иона кальция при добавлении ингибитора наблюдались для тонопласта клеток обеих зон корня, хотя они и зависели от значения МП, выбранного для расчетов. Так, распределение иона кальция приобрело более выраженный пассивный характер, что сопровождалось увеличением потока в вакуоль.

Отсутствие изменений в электрохимическом состоянии ионов кальция и частично ионов калия на мембранах клеток зон корня при наличии в среде азидата натрия определяет возможность лишь косвенной связи между транспортом и обеспеченностью этого процесса за счет ЭТЦ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Барабанщиков М. Н., Мазель Ю. Я. Применение компартмент-анализа для определения потоков иона кальция в клетках корня кукурузы. — Изв. ТСХА, 1979, вып. 1, с. 10—15. — 2. Барабанщиков М. Н., Мазель Ю. Я. Поток иона кальция в зонах корня кукурузы. — Изв. ТСХА, 1979, вып. 5, с. 3—9. — 3. Барабанщиков М. Н. Радиондикаторное изучение потоков ионов рубидия в клетках зон корня кукурузы. — В сб. тр.: Проблемы химизации и мелиорации почв. М.: ТСХА, 1981, с. 84—89. — 4. Биберга ль Е. А., Мазель Ю. Я. Анатомические особенности главного корня кукурузы и их связь с поглощением ионов. — Докл. ТСХА, 1975, вып. 213, с. 77—79. — 5. Гродзинский Д. М., Адыгелазов В. Ф. Мембранные потенциалы клеток палисадной паренхимы листа пшеницы и кукурузы. — Физиология и биохимия культурных растений, 1977, т. 9, вып. 1, с. 26—31. — 6. Крсте И. В. Общая блок-схема установки и методы исследования клеток микроэлектродной техникой. — В кн.: Приборы и методы для микроэлектродных исследований клеток. Пушино: ОНТИ НЦБИ АН СССР, 1975, с. 42,—
7. К т и т о р о в а И. Н., Лялин О. О. Мембранные потенциалы клеток эпидермиса стебля тыквы. — Физиология растений, 1974, т. 21, вып. 6, с. 1196—1201. — 8. Мазель Ю. Я., Житие в А. Н. Особенности поглощения натрия участками корня кукурузы. — Физиология растений, 1973, т. 20, вып. 3, с. 437—441. — 9. Мазель Ю. Я., Барабанщиков М. Н. Поток калия и кальция в растущих и закончивших рост клетках корня кукурузы. — Физиология растений, 1985, т. 32, вып. 2, с. 239—248. — 10. Canning R. E., Kranig P. J. — Amer. J. Botany, 1958, vol. 45, N 5, p. 378—383. — 11. Dunlop J. — J. Exptl. Bot., 1976, vol. 27, N 100, p. 908. — 12. Eshel A., Waisel Y. — Plant Physiol., 1973, vol. 28, p. 557—560. — 13. Mack Ion A. E. S. — Planta, 1975, vol. 122, N 2, p. 142—150. — 14. Overstreet R., Handley R. — Plant Phys., 1963, vol. 38, p. 180—183. — 15. Pierce W. S., Higinbotham N. — Plant Physiol., 1970, vol. 46, p. 239. — 16. Slayman C. L. — An. Zoologist, 1970, vol. 10, p. 377-392.

Статья поступила 17 сентября 1986 г.

SUMMARY

In cells of corn root zone, ion flows of potassium and calcium in the presence of sodium azide respiration inhibitor were studied. In this study, the parameters obtained in graphical expanding the kinetic curves of the labelled element outlet from the tissue and of the idea on three-compartmental cell model were used. Recording membrane potential values allowed to determine electrochemical ion state on the membranes according to Ussing — Teorell equation. No differences have been noted in ion distribution on plasmalemma of extension zone cells and of root hairs, calcium ions are actively transported from cytoplasm into outer solution, and potassium ions — into the cell. Such condition of ions on the membrane did not change with application of inhibitor into the medium, except electrochemical condition of potassium in extending cells. Probably, in the cells of this zone, the transfer of potassium ion to passive distribution through plasmalemma is a sign of active transportation at the expense of electrotransport chain energy.