

УДК 581.112.4'6

## СЕГРЕГАЦИЯ ПОГЛОЩЕНИЯ КАТИОННЫХ И АНИОННЫХ КРАСИТЕЛЕЙ В КЛЕТКАХ ВОДНЫХ РАСТЕНИЙ

Т. Н. БИБИКОВА

(Лаборатория биофизики растений)

Методом флуоресцентных зондов исследовали неспецифическое поглощение анионов и катионов у *Tillandsia usneoides* (Тилляндсия уснеевидная), *Eichornia crassipes* (водный гиацинт) и *Fotinalis sp.* (мох фонтиналис). У Тилляндсии специфическое поглощение красителей наблюдали только в клетках трихомы, причем катионный краситель (акридиновый оранжевый) поглощался клетками-крыльями, а анионный (уранин) — кольцевыми клетками. У водного гиацинта катионный краситель поглощали поверхностные клетки боковых корней, анионный — клетки основного корня, окружающие боковой корень, у мха — соответственно клетки растущих ризоидов и клетки растущей почки. Выявлена универсальность сегрегации поглощения ионов разного знака в пределах одного участка водной фазы для растений, резко различающихся как систематически, так и экологически.

Ряд авторов полагают, что многие физиологические процессы, определяющие рост и развитие растений, тесно связаны с существованием пространственного распределения электрического потенциала и обусловленного этим постоянного

ионного тока [7, 8]. Возникающая разность потенциалов может определяться специфической организацией транспортных белков внутри плазмалеммы. Ионные токи могут оставаться в пределах одной клетки или переходить в соседние клетки.

В последнем случае возникающий ток протекает либо через ткань, либо даже через целый орган, например корень [8].

Одним из первых, кто экспериментально подтвердил наличие генерации растительными клетками постоянных ионных токов, был Вейсенсил. Он с помощью методики вибрирующего зонда обнаружил циркуляцию тока вокруг клетки корня ячменя: ток плотностью 1—2 мкА входил в кончик растущего корневого волоска и выходил вблизи его основания [8]. Подобные результаты были получены на прорастающем пыльцевом зерне лилии [9].

В последние годы для изучения физиологической полярности растительных клеток наряду с измерением разности потенциалов в околочлеточном пространстве используется и более простой способ анализа ионных токов, основанный на применении флуоресцентных зондов: красителей, обладающих низкой молекулярной массой и, следовательно, являющихся метчиками неспецифического транспорта катионов и анионов. С помощью этого метода удалось продемонстрировать сегрегацию поглощения катионов и анионов в пределах одной растительной клетки [2], а также целого растения [1, 2, 3, 10]. Проведенные исследования выявили специфичность ионных потоков в разных органах одного растения и в одном и том же органе растений с разными функциональными характеристиками. Особый интерес представляет сравнение ионных токов в органах, поглощающих соли и питательные вещества из разных сред обитания.

В данной работе мы продолжили изучение процессов селективного поглощения ионизированных флуоресцентных красителей, распространив его на некоторые растения

с необычными или слабоизученными механизмами минерального питания. Было исследовано 3 вида растений: *Tillandsia usneoides* (Тилландсия уснеевидная), *Eichornia crassipes* (водный гиацинт) и *Fontinalis* sp. (мох фонтиналис).

*Tillandsia usneoides* (семейства бромелиевых) — растение, не соприкасающееся непосредственно с почвой и не имеющее корней. Воду, питательные вещества и минеральные соли оно поглощает из росы, дождевых капель и тумана. Как было показано ранее [4—6], специализированными органами поглощения у нее являются многоклеточные трихомы. Нам представляется, что анализ механизмов ионного транспорта в этих структурах может способствовать выявлению механизмов адаптации растений к особенностям окружающей среды.

*Eichornia crassipes* (семейство лилейных) — полупогруженное растение, обладающее очень хорошо развитой корневым системой, основной особенностью которой является полное отсутствие клеток с корневыми волосками. В связи с выявленной ранее поляризацией клеток, несущих корневым волосок [1, 2, 3], особенности ионного транспорта в этом растении представляют несомненный интерес.

Наконец, *Fontinalis* sp. (семейство Fontinalesaeae) — это полностью погруженный водный мох с активно растущими побегами и хорошо развитыми многоклеточными ризоидами. Сформировавшиеся ризоиды служат для прикрепления растения к субстрату. У этого водного мха интересно было определить возможную роль ризоидов в процессе поглощения минеральных солей.

#### Методика

Объектом исследования служили отдельные живые растения *Til-*

*Tillandsia usneoides*, *Eichornia crassipes*, *Fontinalis* sp., полученные из оранжереи Ботанического сада АН СССР. Катионный краситель акридиновый оранжевый приготавливали на буфере Бриттона — Робинсона при pH 3,8 в разведении 1:10 000. Анионный краситель уранин готовился на том же буфере при pH 8,2 в разведении 1:10 000.

Отдельные части растения (участки стебля *Tillandsia usneoides*, участки корневой системы *Eichornia crassipes*) или целое растение (мох *Fontinalis* sp.) погружали в раствор красителя на 2 мин, затем в течение 1—2 мин объект отмывали в растворе чистого буфера с 2—3-кратной сменой раствора. Непосредственно после отмывки проводили наблюдение под люминесцентным микроскопом (фирма Zeiss) и фотофиксацию (фотонасадка МФ 12).

На каждом из объектов с использованием каждого из красителей было произведено от 10 до 50 экспериментов. Во всех случаях результаты, полученные на одном

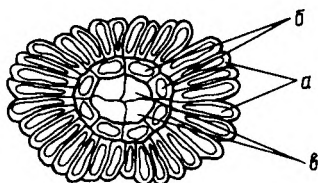


Рис. 1. Трихома *Tillandsia usneoides* [по Rauh, 1973].

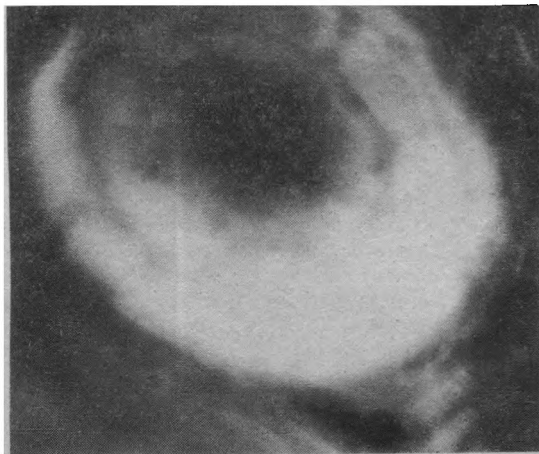
*а* — клетки-крылья; *б* — кольцевые клетки; *в* — клетки крышки.

объекте в разных экспериментах, качественно совпадали.

### Результаты

Стебель Тилландсии уснеевидной несет на своей поверхности большое число трихом, строение которых типично для семейства бромелиевых (рис. 1). Центр трихомы образует группа из четырех клеток крыши *в*, которые окружены кругом из 8 кольцевых клеток *б*. Далее следуют клетки-крылья *а*, лежащие в виде чешуек на поверхности стебля.

Рис. 2. Поглощение катионного (слева) и анионного красителей клетками трихомы *Tillandsia usneoides*.



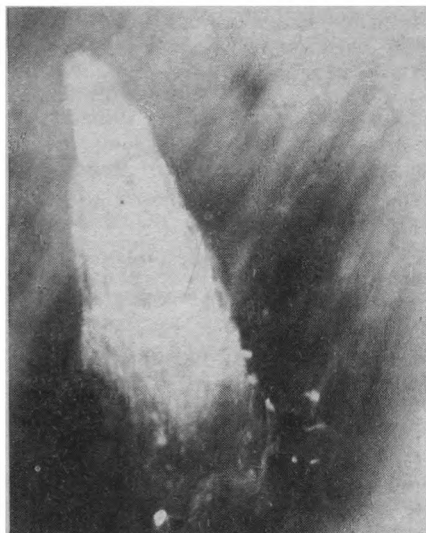
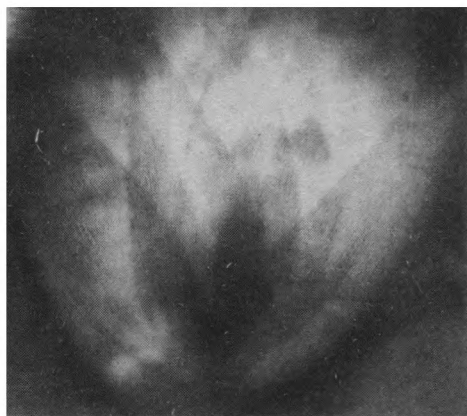


Рис. 3. Поглощение катионного красителя боковым корешком *Eichornia crassipes* (слева) и анионного красителя клетками основного корня *Eichornia crassipes* вокруг вышедшего на поверхность бокового корешка.

Катионный краситель акридиновый оранжевый поглощался из раствора только клетками-крыльями (рис. 2, слева). Анионный краси-

тель уранин, напротив, не поглощался клетками-крыльями, а также клетками крыши, но входил только в кольцевые клетки (рис. 2, справа).

Рис. 4. Поглощение катионного красителя молодым ризоидом *Fontinalis* sp. (слева) и анионного красителя растущей почкой *Fontinalis* sp.



Избирательного поглощения красителей неспециализированными клетками стебля обнаружено не было.

Мочковатая корневая система водного гиацинта состоит из множества отдельных корней, каждый из которых несет на себе большое количество мелких боковых корешков. Катионный краситель акридиновый оранжевый выявлялся исключительно в поверхностных клетках боковых корешков (рис. 3, слева). Клетки основного корня, находящиеся непосредственно вокруг вышедшего на поверхность бокового корешка, окрашивались уранином (рис. 3, справа).

Водный мох состоит из побегов, несущих на себе ризоиды. Катионный краситель обнаруживался только в клетках растущих ризоидов, особенно интенсивно он накапливался в ризоидах, состоящих из 2—3 клеток (рис. 4, слева). С увеличением длины ризоида плотность красителя падала, а в сформировавшихся ризоидах он отсутствовал. Анионный краситель поглощался исключительно растущим концом побега (рис. 4, справа).

### Обсуждение

Результаты проведенных нами с использованием методики флуоресцентных зондов экспериментов показывают, что в водных растениях и растениях, поглощающих минеральные вещества из дождевых капель и тумана, существует пространственная сегрегация транспорта ионов с разными знаками.

Так, у Тилландсии усневидной электрическая поляризация кольцевых клеток и клеток-крыльев должна обуславливать существование внутри трихомы постоянного тока, соответствующего переносу положительно заряженных ионов от клеток-крыльев к кольцевым клеткам и (или) отрицательно заряженных ионов — в противополож-

ном направлении (рис. 1). При этом клетки-крылья, неспецифически поглощающие катионы, могут быть уподоблены растущим корневым волоскам.

Существующие гипотезы о механизме поглощения воды и питательных веществ трихомами бромелиевых [4—6] сводятся к тому, что при увлажнении клетки-крылья поглощают влагу, которая затем по осмотическому градиенту переходит в кольцевые клетки и далее в специализированную водоносную ткань паренхимы листа. Судя по нашим данным, такое перемещение должно сопровождаться попутным движением положительно заряженных ионов или (и) обратным движением отрицательных ионов.

Одной из важных функций кольцевых клеток, видимо, является избирательное поглощение анионов.

Таким образом, трихома бромелиевых представляет собой многоклеточный орган, служащий для поглощения питательных веществ. Наиболее активной ее частью, которую можно уподобить корневым волоскам, являются клетки-крылья. Возникающий при этом ток, по видимому, функционально соответствует току между кончиком корневого волоска и его основанием.

Механизмы поглощения ионов корневой системой водного гиацинта также имеют черты сходства с механизмами ионного транспорта в корнях наземных растений. При этом функции корневых волосков, поглощающих катионы, переходят к многолеточному боковому корешку, а поглощение анионов осуществляется клетками основного корня, окружающими вышедший на поверхность боковой корешок. Такой же тип поглощения наблюдался ранее у некоторых наземных растений [3].

Интересно отметить, что точно такое же распределение мест погло-

щения красителей мы наблюдали (неопубликованные данные) у *Pistia stratiotes* (семейство Pistioideae). Это водное растение, хотя и относится к совершенно иному семейству, имеет много общих черт с водным гиацинтом и также обычно встречается в заболочиваемых водоемах.

Можно допустить, что наличие мощного электрохимического градиента в корневой системе непосредственно связано с высокой устойчивостью этих растений к неблагоприятным факторам внешней среды (прежде всего к недостатку кислорода) и, возможно, способствует их пандемичному распространению.

У водного мха фонтиналис места поглощения катионов оказались локализованными в растущих ризоидах. В этом случае особенно ярко проявляется связь процессов роста и питания. Ризоиды, уже достигнувшие полного развития, не способны к активному поглощению ионов безотносительно к тому, прикреплены ли они к субстрату или свободно плавают в водной среде. Видимо, данное растение может служить удобным объектом для изучения количественной связи между интенсивностью поглощения катионов и степенью развития ризоида.

Несмотря на то, что число объектов, исследованных на наличие электрохимических градиентов, остается незначительным, представляется возможным сделать некоторые общие заключения, касающиеся ионных потоков в поглощающих органах различных растений. Так, во всех случаях анион- и катионпоглощающие локусы оказываются расположенными на поверхности растения, контактирующей в норме с участком жидкой фазы.

У Тилландсии уснеевидной, поглощающей питательные вещества из водных капель, поглощение анио-

нов и катионов осуществляется разными клетками. Клетки эти, однако, расположены настолько близко друг к другу, что они, несомненно, должны находиться в пределах одной капли раствора.

У полуводного растения водного гиацинта локусы поглощения анионов и катионов разнесены уже значительно дальше, оставаясь, однако, в одной и той же жидкой фазе и на одном и том же участке корневой системы.

Наконец, у полностью водных растений ионы разного знака могут поглощаться через клетки, либо расположенные в пределах одного органа (гидропitys листа элодеи канадской), либо даже находящиеся в совершенно разных органах растения (клетки ризоидов и почки у мха фонтиналис).

Наличие во всех случаях локусов поглощения ионов противоположного знака в пределах одного участка жидкой фазы свидетельствует в пользу того, что процессы поглощения питательных веществ растением всегда сопровождаются возникновением постоянного электрического тока, цепь которого во внешней среде замыкается через раствор. Ясно, что этот результат повышает достоверность гипотезы о причинной связи процессов питания с электрохимическими градиентами внутри растения.

На основании полученных данных можно высказать некоторые предварительные соображения относительно основных характеристик потоков ионов, сопутствующих процессу питания растений. В значительном большинстве случаев положительные ионы поступают в наиболее активно растущие участки поглощающего органа: корневые волоски, ризоиды, боковые корни, клетки-крылья.

Дальнейшие исследования должны прояснить вопрос о конкрет-

ной функциональной роли электрохимического градиента и постоянного электрического тока, сопровождающих процесс питания растения. Несомненный интерес представляет также проблема динамики рассматриваемых явлений в процессе развития целого растения, а также его отдельных органов и тканей.

### Выводы

1. Метод флуоресцентных зондов применим для изучения ионного транспорта у растений, резко различающихся как по систематическому положению, так и по особенностям жизнедеятельности.

2. В трихоме бромелиевых катионы поглощаются клетками-крыльями, а анионы — кольцевыми клетками (на примере трихомы *Tillandsia usneoides*).

3. В корнях водного гиацинта — *Eichornia crassipes* — сегрегация поглощения ионов разного знака осуществляется таким образом, что катионы поглощаются боковыми корнями, а анионы — клетками основного корня, окружающими вышедший на поверхность боковой корень.

4. Ризоиды мха *Fontinalis* sp. избирательно поглощают катионы, а апикальная часть побега избирательно поглощает анионы.

5. Во всех исследованных растениях наблюдалась сегрегация погло-

щения анионов и катионов в пределах одного участка водной фазы, что предполагает участие постоянного ионного тока в процессах питания.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Бибикова Т. Н. Поглощение ионизированных флуоресцентных красителей листьями и корнями *Elodea canadensis* Minch.— Изв. ТСХА, 1993, вып. 2, с. 172—177.— 2. Вахмистров Д. Б., Злотникова И. Ф. Функциональная специфика корневых волосков.— Физиол. раст., 1990, т. 37, вып. 5, с. 946—955.— 3. Злотникова И. Ф., Вахмистров Д. Б. Сегрегация мест поглощения анионов и катионов в корневых клетках.— Докл. АН СССР, 1989, т. 307, № 4, с. 1016—1019.— 4. Коровин С. Е., Чеканова В. Н. Бромелии в природе и культуре. М.: Наука, 1984.— 5. Mez. C. Physiologische Bromeliaceen. Studien I.— Jb. Wiss., Bot., 1904, Bd 40, S. 157—229.— 6. Rauh W. Bromelien für Zimmer und Gewächshaus. Bd 2. Die Bromelioideen und Pitcairnioideen. Stuttgart, 1973.— 7. Robinson R. K., Jaffe R. F.— Ion movements in a developing fucoid egg. Dev. Biol., 1973, 35, p. 349—361.— 8. Weisenseel M. N., Dorn A., Jaffe L. F.— Plant Physiol., 1979, vol. 64, p. 512—518.— 9. Weisenseel M. N., Nuceitelli R., Jaffe L. E.— J. Cell. Biol., 1975, vol. 66, p. 556—567.— 10. Zlotnicova I.— Plant Roots and their Environment, 1988, vol. 5, p. 52.

Статья поступила 16 сентября 1992 г.

### SUMMARY

Spatial segregation of unspecific uptake of cations and anions has been demonstrated in *Tillandsia usneoides*, *Eichornia crassipes* and *Fontinalis* sp., the method of fluorescent probes having been used. In *Tillandsia* such an uptake can be seen only in cells of trichoma. The cationic dye (acridin orange) was taken up by celle-wings whereas anionic dyes (uranin) was taken up by circle cells. In *Eichornia crassipes* the cationic dye was taken up by lateral roots and the anionic dye — by cells of the main root that surrounded the lateral root. In *Fontinalis* sp. the cationic dye was taken up by young rhizoids and the anionic dye — by growing ends of shoots. The results show that in many different plants ions of opposite signs are taken up within one volume of the liquid phase that allows to close the direct current circuit.