

УДК 581.13.133.8

## ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКОЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ИОНА КАЛИЯ НА ТОНОПЛАСТЕ КЛЕТОК ЗОН КОРНЯ КУКУРУЗЫ

М. Н. БАРАБАНЩИКОВ. Ю. Я. МАЗЕЛЬ

(Кафедра прикладной атомной физики и радиохимии)

В настоящее время при описании поглощения ионов клетками высших растений исходят из электрохимической концепции, рассматривающей движущие силы процесса. С точки зрения этой концепции об активном или пассивном механизме транспорта ионов можно судить по направлению электрохимического градиента, критерием которого для неравновесных условий является уравнение Уссинга — Теорелла.

В ряде исследований такой подход использовался при изучении поглощения клетками растений ионов калия, натрия, хлора, кальция и др. [10, 11, 14]. При этом было установлено активное поступление иона калия в клетки корней гороха [6], ячменя [14], колеоптилей овса [12] и пассивное — через плазмалемму клеток корней бобов [11]. Однако ни в одной из приведенных работ не уделялось внимания специфике транспорта в различных зонах корня, хотя ранее были показаны как количественные, так и качественные различия поглощения ионов калия клетками меристемы, зоны растяжения и корневых волосков [4, 13]. Поэтому нашей задачей было более детальное изучение поведения иона калия на тонопласте растущих и дифференцированных клеток корня.

Исследования проводили на корнях двухдневных проростков кукурузы сорта Стерлинг. В качестве радиондикатора иона калия был использован  $^{86}\text{Rb}$ . Хотя рядом авторов [8, 9] отмечена физиологическая разнокачественность ионов рубидия и калия, в непродолжительных опытах поглощение этих ионов корнем происходит, по всей видимости, аналогично. Потоки меченого рубидия определяли в клетках зон растяжения (3—5 мм от кончика корня) и корневых волосков (15—30 мм). Значения границ зон взяты из работы [3]. Определение потоков и обработку экспериментальных данных проводили методами, приведенными ранее [1, 2]. Для насыщения корней интактных растений меченым рубидием их высаживали на питательную среду (глюкоза 10 г/л; кальций и меченый рубидий —  $10^{-4}$  или  $10^{-3}$  молей). Время насыщения — 4 ч. Удельная активность раствора составляла 0,1—0,4 мКи/мл. Значения потоков вычисляли, исходя из представлений о трехкомпарментальной модели транспорта для квазистационарных условий ( $\Phi \neq 0$  и на каждой из мембран  $\Phi = \Phi_{oc} - \Phi_{co} = \Phi_{cv} - \Phi_{vc}$ , где  $\Phi$  — общий поток через систему,  $o, c, v$  — соответственно внешний раствор, цитоплазма и вакуоль), используя параметры графического разложения кинетических кривых вымывания меченого элемента из ткани.

Как известно, для функции  $\varphi(X_1, X_2)$ , где  $X_1$  и  $X_2$  — независимые случайные величины со средними значениями  $\bar{X}_1$  и  $\bar{X}_2$  и среднеквадратичными ошибками результатов  $\sigma_1$  и  $\sigma_2$ , среднеквадратичная ошибка функции определяется так:

$$\sigma_{\varphi} = [(\partial\varphi/\partial\bar{X}_1)^2\sigma_1^2 + (\partial\varphi/\partial\bar{X}_2)^2\sigma_2^2]^{1/2}. \quad (1)$$

где  $\partial\varphi/\partial\bar{X}_1$ ,  $\partial\varphi/\partial\bar{X}_2$  — значения частных производных при  $X_1 = \bar{X}_1$ ;  $X_2 = \bar{X}_2$ . Соответственно для уравнения Уссинга — Теорелла

$$\varphi(c_j^o, c_j^i, E) = \frac{c_j^o}{c_j^i \exp(zFE/RT)}, \quad (2)$$

среднеквадратичная ошибка может быть представлена следующим образом:

$$\sigma_{\varphi} = [(\partial\varphi/\partial c_j^i)^2 \sigma_{c_j^i}^2 + (\partial\varphi/\partial c_j^o)^2 \sigma_{c_j^o}^2 + (\partial\varphi/\partial E)^2 \sigma_E^2]^{1/2}. \quad (3)$$

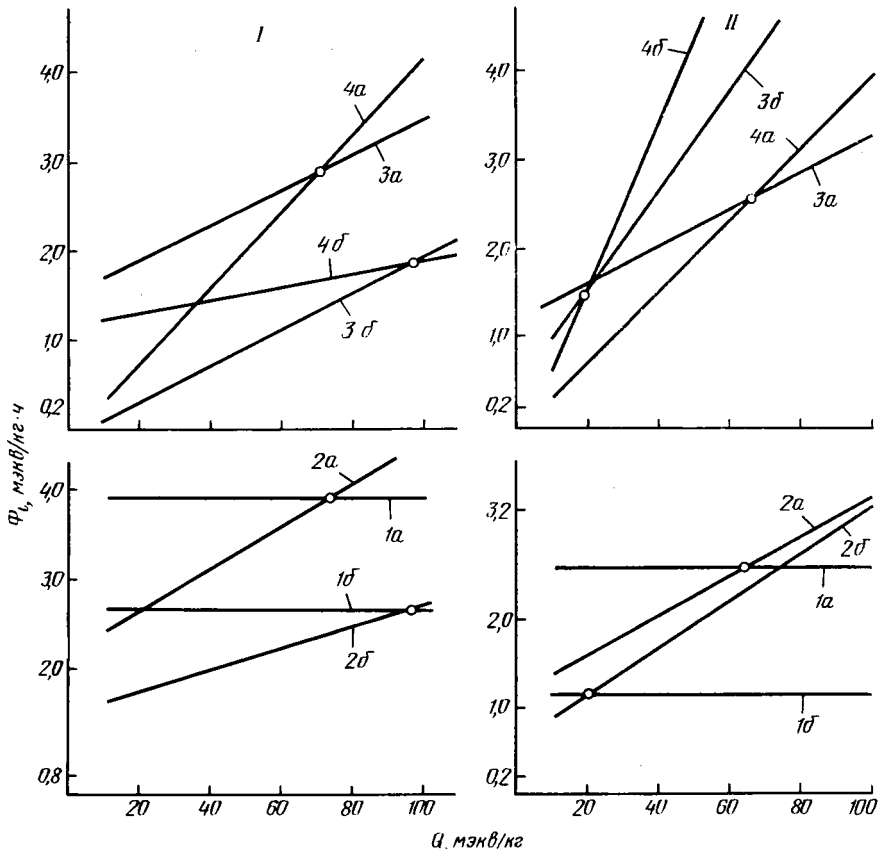
Вычисления согласно (3) показали, что в наших экспериментах ошибка для  $\varphi(c_j^o, c_j^i, E)$  может колебаться от 20 до 50 %.

Достоверность различий вариантов оценивали по критерию Стьюдента  $t$  [7]. Как уже было показано ранее [1, 2], более правильно рассчитывать потоки исходя из трехкомпарментальной модели транспорта в квазистационарных условиях. В этом случае необходимо знать значение общего потока ( $\Phi$ ), которое определяется по активности иона в клетке. Согласно измерениям с помощью ионспецифичных электродов, активность иона равна 100 ммолям [5], что близко к валовому содержанию иона и свидетельствует об отсутствии его связывания в клетке. Поскольку мы не проводили прямых измерений активности, то значения  $\Phi$  рассчитывали, исходя из выбранных пределов активности 10—100 мэкв на 1 кг сырой массы, где верхняя граница соответствует активности иона, равной содержанию, определенному химическим путем. При анализе кинетических кривых выхода меченого элемента из ткани возникает вопрос о полноте изотопного обмена  $K_i(\text{Rb}_i)/K_0(\text{Rb}_0)$  за выбранное нами время насыщения и возможности применения соответствующей математической модели для описания процесса. Для ответа на этот вопрос был поставлен опыт с продолжительным временем насыщения. Данные эксперимента указывают на то, что выбранное нами время насыщения (4 ч) является достаточным для установления изотопного равновесия в компартаментах клетки, поскольку рассчитанные для разного времени насыщения потоки на мембранах оказались близкими. Так, при общем содержании иона 10 мэкв на 1 кг сырой массы и времени насыщения 4 ч  $\Phi_{vc} = 0,28 \pm 0,01$ ;  $\Phi_{co} = 2,42 \pm 0,10$ ;  $\Phi_{cv} = 1,75 \pm 0,04$  мэкв/кг, а при насыщении 17 ч аналогичные потоки были  $0,25 \pm 0,01$ ;  $2,61 \pm 0,10$ ;  $1,68 \pm 0,06$  мэкв на 1 кг сырой массы за 1 ч.

Поток иона рубидия из внешнего раствора в цитоплазму  $\Phi_{oc}$  в клетках зоны растяжения при концентрациях внешнего раствора  $10^{-3}$  и  $10^{-4}$  молей соответственно составил  $3,88 \pm 0,08$  и  $2,43 \pm 0,37$  мэкв на 1 кг в 1 ч и был больше аналогичного потока в клетках зоны корневых волосков, равного  $2,61 \pm 0,06$  и  $1,18 \pm 0,06$  мэкв/кг·ч.

При концентрации  $10^{-4}$  молей разница в потоках между зонами составила 50 %. Десятикратное увеличение концентрации раствора приводило к возрастанию потока в клетках обеих зон корня. Следует отметить, что, хотя поток из цитоплазмы во внешний раствор  $\Phi_{co}$  при всех концентрациях раствора больше в клетках зоны растяжения, чем в клетках зоны корневых волосков, это различие не является достоверным. Разница в потоке  $\Phi_{cv}$  между клетками различных зон корня также не существенна. На тонопласте при концентрации раствора  $10^{-4}$  молей обнаружены достоверные различия в потоке из вакуоли в цитоплазму  $\Phi_{cc}$  для клеток различных зон корня, причем в клетках зоны растяжения он ниже, чем в клетках зоны корневых волосков. При увеличении концентрации внешнего раствора в 10 раз картина меняется на противоположную (рисунок).

Представляло интерес выяснить причину такого изменения потоков на тонопласте в зависимости от концентрации внешнего раствора. Анализ параметров, входящих в уравнение, применяемое для расчета потока  $\Phi_{vc}$ , показал, что при изменении концентрации раствора для клеток зоны корневых волосков константы выхода иона из вакуоли и цитоплазмы  $k_v$  и  $k_c$  возрастают приблизительно на порядок и существенно не меняются для клеток зоны растяжения. Это сказывается на значе-



Потоки иона рубидия в клетках зоны растяжения (а) и зоны корневых волосков (б) при концентрациях внешнего раствора  $10^{-3}$  (I) и  $10^{-4}$  молей (II). 1 — поток иона из внешнего раствора в цитоплазму; 2 — из цитоплазмы во внешний раствор; 3 — из цитоплазмы в вакуоль; 4 — из вакуоли в цитоплазму.

нии и знаке общего потока  $\Phi$ , который при концентрации  $10^{-3}$  молей больше 0, а при концентрации  $10^{-4}$  молей меньше 0.

Как следует из уравнения

$$\Phi_{vc} = (1 + Y_v / T k_c Y_c) (Y_v / T - \Phi), \quad (4)$$

где  $T$  — время насыщения,  $k$  — константа скорости выхода иона из компартмента,  $Y$  — содержание иона в компартменте при  $t=0$ , знак  $\Phi$  будет существенно влиять на значение  $\Phi_{vc}$  и соотношение потоков на тонопласте. Разница в параметрах  $k_v$  и  $k_c$  для клеток зоны корневых волосков свидетельствует, по всей видимости, об изменении проницаемости мембран дифференцированных клеток при возрастании концентрации.

Полученные значения потоков позволили при помощи уравнения Уссинга — Теорелла оценить электрохимическое состояние ионов калия на тонопласте клеток различных зон корня.

Одним из параметров, подставляемых в это уравнение, является значение мембранного потенциала.

Как известно, измерение разности потенциалов на тонопласте клеток высших растений связано со значительными техническими сложностями. Определенное рядом авторов [5, 16] значение мембранного потенциала тонопласта оказалось значительно меньше, чем разность потенциалов между средой и цитоплазмой. Измерение мембранного потенциала на тонопласте клеток различных зон нами не проводилось, в связи с этим при расчетах значение мембранного потенциала мы задавали от 5 до 25 мВ, что соответствует максимальному диапазону зна-

чений, определенных для разности потенциалов в исследованиях [5, 16].

Экспериментально определенное отношение потоков на тонопласте клеток зоны растяжения было больше теоретически рассчитанного, что указывает на существование активного транспорта иона из цитоплазмы в вакуоль. Это отношение находилось вне зависимости от значения мембранного потенциала на тонопласте от 5 до 25 мВ, причем выполнение неравенства  $(\Phi_{in}/\Phi_{out})_{\text{эксп}}/(\Phi_{in}/\Phi_{out})_{\text{теор}} \geq 2$  было нами принято в качестве критерия существования активного транспорта. Предлагаемое условие является достаточным для учета ошибок определения отдельных параметров, используемых в расчетах (см. методику).

Недооценка ошибок эксперимента приводит к сомнительным выводам, как это имело место в работе Пула [15], в которой измерялись потоки иона калия в клетках корня сахарной свеклы. В ней, в частности, указывается на существование активного транспорта иона наружу из клетки, хотя при сопоставлении приведенных отношений потоков

Отношения экспериментально полученных потоков к теоретическим для тонопласта клеток зон корня кукурузы при различных мембранных потенциалах

| Концентрация, моль | 5 мВ           |       | 25 мВ |       |
|--------------------|----------------|-------|-------|-------|
|                    | зона корня, мм |       |       |       |
|                    | 3—5            | 15—50 | 3—5   | 15—30 |
| $10^{-4}$          | 4,43           | 0,89  | 9,90  | 1,94  |
| $10^{-3}$          | 3,98           | 3,28  | 8,70  | 7,14  |

и электрохимических потенциалов видно их незначительное различие. Значения отношения для различных уровней мембранного потенциала на тонопласте приведены в таблице. В клетках зоны растяжения при обеих концентрациях раствора ион калия активно выводится из цитоплазмы в вакуоль. В клетках зоны корневых волосков при концентрации  $10^{-4}$  молей калий пассивно распределяется между цитоплазмой и вакуолью. При 10-кратном повышении концентрации поток калия из цитоплазмы становится активным. Этого следовало ожидать, так как в таком случае увеличивается поток иона в клетки и для поддержания концентрации калия в цитоплазме на определенном уровне необходимо его активное выведение в вакуоль или в наружный раствор. Несмотря на варьирование в расчетах значений мембранного потенциала тонопласта (от 5 до 25 мВ), играющего существенную роль в регуляции транспорта через мембрану, характер распределения иона калия на тонопласте был неизменным.

Таким образом, полученные результаты показывают, что переход клетки из зоны растяжения в зону корневых волосков сопровождается изменением потока иона калия из вакуоли в цитоплазму, который в клетках зоны корневых волосков при концентрации внешнего раствора  $10^{-4}$  молей больше, чем при концентрации  $10^{-3}$  молей. В клетках зоны растяжения осуществлялся активный транспорт калия в вакуоль вне зависимости от концентрации внешнего раствора, а в клетках зоны корневых волосков отмечены активный транспорт при концентрации  $10^{-3}$  молей и пассивное распределение иона на тонопласте при концентрации  $10^{-4}$  молей. Неодинаковое электрохимическое состояние иона калия на тонопласте клеток изученных зон корня может быть обусловлено либо изменением проницаемости тонопласта вследствие завершения его формирования, либо особенностями транспорта в интенсивно растущих клетках.

В настоящее время достаточно подробно изучены анатомические и биохимические изменения при дифференцировке клеток, однако пока связать эти изменения с изменениями потоков не представляется возможным.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Барабаншиков М. Н., Мазель Ю. Я. Применение компарментанализа для определения потоков иона кальция в клетках корня кукурузы. — Изв. ТСХА, 1979, вып. 1, с. 10—15. — 2. Барабаншиков М. Н., Мазель Ю. Я. Потоки иона кальция в зонах корня кукурузы. — Изв. ТСХА, 1979, вып. 5, с. 3—9. — 3. Бибергаль Е. А., Мазель Ю. Я. Анатомические особенности главного корня ку-

курузы и их связь с поглощением ионов. — Докл. ТСХА, 1975, вып. 213, с. 77—79. — 4. Мазель Ю. Я., Житнева Н. Н. Поглощение меченого рубидия отделенными участками корня кукурузы. — Изв. ТСХА, 1975, вып. 13, с. 3—8. 5. Bowling D. J. — *Planta*, 1972, vol. 108, N 2, p. 147. — 6. Etherton B. — *Plant Phys.*, 1967, vol. 42, N 5, p. 685. — 7. Handbook of Chem., p. 490. — 8. Johansen C. — *Aust. J. Plant Phys.*, 1975, vol. 2, N 1, p. 75. — 9. Laüchli A. — *Plant Phys.*, 1970, vol. 45, p. 635. — 10. MacRob-

bie E. A. C. — *J. Gen. Phys.*, 1964, vol. 47, p. 859. — 11. Pállaghy C. K. — *Aust. J. Biol. Sci.*, 1969, vol. 22, p. 585. — 12. Pierce W. C. — *Plant Phys.*, 1970, vol. 46, p. 666. — 13. Prevot P. — *Plant Phys.*, 1936, vol. 11, p. 503. — 14. Pitman M. G. — *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 1967, vol. 57, p. 44. — 15. Poole R. J. — *Plant Phys.*, 1969, vol. 44, p. 485. — 16. Walker N. A. — *Aust. J. Biol. Sci.*, 1955, N 8, p. 476.

*Статья поступила 16 декабря 1982 г.*

#### SUMMARY

Using three compartment model and parameters received in the graphical analysis of the summary radioactive kinetic curve, ion fluxes of rubidium were calculated in the cells of maize roots. It was shown that there is a difference in an electrochemical distribution of ion at the tonoplast in the cells of different root's zones. At the tonoplast of elongating cells distribution of the ion is characterised by an active pumping from the cytoplasm in vacuole, when the concentration of the external solution is  $10^{-4}$  M, and by passive distribution for the membrane of differentiated cells. Observed difference in ion fluxes and electrochemical distribution at the tonoplast is discussed in connection with the differentiation of the root.