

УДК 581.112.4'6

ПОГЛОЩЕНИЕ ИОНИЗИРОВАННЫХ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ КРАСИТЕЛЕЙ ЛИСТЬЯМИ И КОРНЯМИ *ELODEA CANADENSIS* MICHX

Т. Н. БИБИКОВА

(Лаборатория биофизики растений)

С использованием низкомолекулярных флуоресцентных красителей обнаружена сегрегация поглощения катионовых и анионовых красителей в гидропотах листа элодеи канадской. Выявлено уменьшение относительного числа гидропот с возрастом листа. Отмечена сегрегация поглощения указанных красителей и в корневых трихобластах элодеи. Установлены особенности поглощения красителей клетками корня при наличии и отсутствии корневых волосков на нем.

Известно, что в плазматической клеточной мембране растений имеются ионные каналы и метаболически активные насосы, обуславливающие существование постоянной разности потенциалов между клеткой и окружающей средой. Сегрегация специализированных ионных каналов или насосов на плазмалемме приводит к появлению токов, протекающих либо в пределах одной клетки, либо между клетками. Экспериментально наличие таких токов вначале было доказано при использовании методики вибрирующего зонда [5, 6].

В ряде работ [1—3] показано, что для изучения ионных потоков, сопровождающих поглощение растениями минеральных веществ, можно применять ионные флуоресцентные красители. Ионы красителя, обладающие низкой молекулярной массой, являются маркера-

ми неспецифического транспорта ионов определенной полярности. Метод использовался для изучения специализации отдельных клеток корней разных видов наземных растений на поглощении ионов разного знака [3] и для анализа пространственной сегрегации анионных и катионных каналов в пределах одной клетки [1]. В тех случаях, когда методика использовалась для объектов, исследованных более прямым методом вибрирующего зонда [5, 6], результаты оказывались качественно близкими, что свидетельствует об адекватности оценки ионного транспорта методом флуоресцентных красителей.

Значительный интерес представляет применение указанного метода для изучения ионного транспорта у водных растений. Известно, что некоторые водные растения даже в отсутствие корней способны к интенсивному росту, требующему поглощения питательных веществ. Вопрос о механизме поглощения питательных веществ в этих условиях недостаточно изучен, то же

Автор выражает глубокую благодарность И. Ф. Злотниковой за научную консультацию при написании данной работы.

можно сказать и об особенностях корневого питания водных растений.

Целью настоящей работы было более подробное изучение особенностей поглощения анионов и катионов как листьями, так и корнями *Elodea canadensis* с использованием флуоресцентных красителей.

Методика

Элодея канадская — погруженное растение, способное к активному вегетативному размножению. Взрослые побеги элодеи образуют почки, дающие начало новым веточкам. Непосредственно под этими почками всегда образуются корни, в зависимости от условий среды несущие или не несущие корневые волоски. Предполагается, что в процессе бескорневого роста питание этого растения осуществляется через специализированные бесцветные клетки листа — гидропоты, которые, по данным Штруггера [4], активно поглощают катионный краситель нейтральный красный.

Основные методические приемы, примененные в работе, не отличались от тех, которые использовались при исследовании наземных растений [1, 3]. Исходный материал был собран в прудах Подмосковья. После сбора элодею канадскую выращивали в течение месяца в водопроводной воде, состав которой соответствовал требованиям ГОСТ 2874—82 (рН 7,2), при температуре 20 °С и 10-часовом световом дне (освещенность 200 лк). В качестве флуоресцентного катионного красителя использовали акридиновый оранжевый (разведение 1:10 000), приготовленный на десятикратно разбавленном буфере Бриттона — Робинсона II при рН 3,8. Кроме того, использовали нейтральный красный, приготовленный на том же буфе-

ре, в разведении 1:10 000 при рН 5,6. В качестве анионного красителя применяли флуоресцеин натрия (уранин), приготовленный на том же буфере, в разведении 1:10 000 при рН 8,2.

Объект погружали в раствор красителя на 2 мин, после чего отмывали в чистом буфере соответствующего рН в течение 1 мин. Окрашивание нейтральным красным производили в течение 1 ч, затем объект отмывали в чистом буфере 1 мин. Наблюдение и фотофиксацию осуществляли с помощью флуоресцентного микроскопа фирмы Zeiss с фотонасадкой МНФ-12. Для проверки гипотезы о роли гидропот в питании осуществляли подсчет их относительного количества у листьев разного возраста (по 6 шт.): у молодых (до 5 тыс. клеток в листе), среднего возраста (5—20 тыс. клеток в листе) и закончивших рост (20—30 тыс. клеток в листе). Гидропоты выявляли по их окраске нейтральным красным в соответствии с [4].

Результаты

Относительное число гидропот уменьшалось с возрастом листа, так что у молодых листьев на одну гидропоту приходилось 70—80 зеленых клеток, у листьев среднего возраста — 110—120, а у закончивших рост — 160—180. Эти данные косвенно подтверждают определяющую роль гидропот в обеспечении роста листьев.

После выдержки листьев в растворах красителей и затем их отмывки красители можно было обнаружить в полном объеме некоторых гидропот.

В нашем эксперименте с помощью флуоресцентного красителя акридинового оранжевого была подтверждена способность гидропот накапливать катионные красители

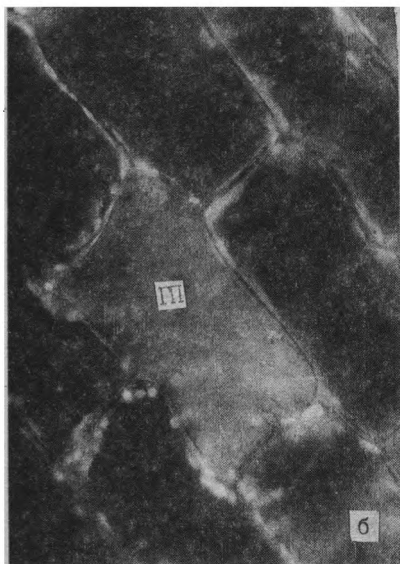


Рис. 1. Поглощение катионного (а) и анионного (б) красителей гидротомами (ГП) листа элодеи.

(на рис. 1, а видна гидропота, окрашенная акридиновым оранжевым), однако обнаружилось, что краситель накапливается не во всех бесцветных клетках листа. При повторном анализе растений, окрашенных катионным красителем нейтральным красным, также были выявлены неокрашенные гидропоты.

В варианте с анионным красителем уранином наблюдалась та же картина: некоторые гидропоты оказались окрашенными (рис. 1), некоторые — нет. Зеленые клетки листа не содержали красителя. Это позволяет допустить, что в листе элодеи есть по крайней мере 2 типа морфологически близких, но функционально различающихся клеток, одни из которых поглощают из раствора катионы, другие — анионы.

В настоящее время у нас нет достаточно точных количественных данных для сравнения относительного числа гидротов с разной ионной проводимостью, но предварительные оценки показывают примерное равенство этих двух клеточных популяций. Из-за невозможности повторных измерений на одном и том же растении мы не можем окончательно решить вопрос, являются ли эти группы принципиально различными или одна и та же клетка может изменять характер поглощения либо во времени, либо в зависимости от ионного окружения.

Полученные результаты потребовали переоценки данных об относительном числе гидротов в разные стадии развития листа. Однако, поскольку не были отмечены изменения в пропорции между клетками, поглощающими уранин и акридин, в процессе развития растения, основной вывод о снижении относительного числа гидротов

с возрастом листа должен оставаться справедливым.

Перейдем теперь к рассмотре-



Рис. 2. Поглощение катионного (а) и анионного (б) красителей корнем элодеи с корневыми волосками.

Корневой волосок указан стрелкой.

нию особенностей ионного транспорта при корневом питании элодеи. В случае, когда у корня, формирующегося под новообразовавшейся почкой, были корневые волоски, в последних мы наблюдали интенсивное и селективное поглощение как анионного, так и катионного красителя. При этом анионный краситель всегда поступал в основание корневого волоска, катионный — в его кончик (рис. 2, а, б), а также в отдельные клетки ближе к основанию корня. Отметим, что именно такое распределение ионных потоков отмечено у наземных растений [1, 3].

Несколько иной характер ионного транспорта наблюдался в клетках безволосковых корней элодеи: анионный и катионный красители поступали в отдельные клетки ризодермиса, морфологически не отличавшиеся от их окружающих (рис. 3, б), но первые были локализованы исключительно в непосредственной близости от апекса корня (рис. 3, б), а последние — ближе к основанию корня (рис. 3, а).

Полученные в работе данные свидетельствуют о том, что пространственная сегрегация мест поглощения анионов и катионов характерна для листьев и корней элодеи канадской. Ранее внутриклеточная пространственная сегрегация ионного транспорта наблюдалась в корневых волосках ряда наземных растений [3, 4]. У них, как и у элодеи канадской, катионы поглощались кончиком волоска, а анионы — его основанием. Представляет несомненный интерес анализ вопроса об универсальности такой сегрегации ионного транспорта корневыми волосками растений разных групп.

Поскольку механизмы ионного транспорта разных водных растений с безволосковыми корнями до настоящего времени специально не

изучались, трудно сказать, определяется ли выявленная нами селективность поглощения ионов отдельными клетками безволоскового корня спецификой элодеи канадской как водного растения или такое распределение селективно поглощающих клеток является универсальным.

Принцип пространственной сегрегации поглощения анионов и катионов был подтвержден нами и на примере листового питания элодеи канадской. В листьях этого растения среди морфологически подобных бесцветных клеток — гидропот — обнаружены 2 функционально различающиеся группы: одни клетки поглощают катионы, другие — анионы.

Выводы

1. Сегрегация поглощения катионов и анионов характерна не только для наземных, но и для водных растений.

2. Сегрегация поглощения ионов разного знака возможна не только в корнях растений, но и в листьях, если последние находятся в воде и способны поглощать минеральные вещества.

3. При отсутствии корневых волосков поглощение анионов и катионов осуществляется в корне тоже раздельно, причем они поглощаются отдельными клетками, расположенными на противоположных концах корня.

ЛИТЕРАТУРА

1. Вахмистров Д. Б., Злотникова И. Ф. Функциональная специфика корневых волосков.— Физиол. раст., 1990, т. 5, с. 946—954.— 2. Демкив О. Т., Федык Я. Д. Полярность клеточной проницаемости и ее контроль фитохромом.— Биофизика, 1977, т. 22, № 5, с. 824.— 3. Злотникова И. Ф., Вахмист-

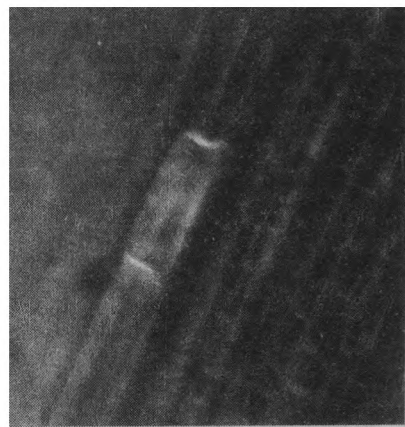
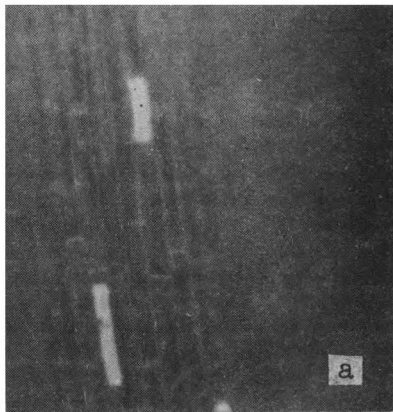


Рис. 3. Поглощение катионного (а) и анионного (б) красителей клетками корня элодеи без корневых волосков.

ров Д. Б. Сегрегация мест поглощения анионов и катионов в корневых клетках.— Докл. АН СССР, 1989, т. 307, № 4, с. 1016—1019.— 4. Штруггер З. Практикум по физиологии растительных клеток тканей. М.: ИЛ, 1953.— 5. Weisenseel M. N., Dorn A., Jaffe L. F. Plant Physiol., 1979, vol. 64, p. 512—518.— 6. Weisenseel M. N., Nuccitelli R., Jaffe L. F.— J. Cell. Biol., 1975, vol. 66, p. 556—567.

Статья поступила 2 декабря 1992 г.

SUMMARY

The segregation of absorption sites of cationic dye (acridin orange) and anionic dye (uranin) has been demonstrated in *Elodea canadensis* Minch by fluorescent method. The dyes were absorbed both by roots and by leaves of *Elodea canadensis* Minch. Segregation of the uptake of cationic and anionic dyes was demonstrated in special transparent cells — hydropots that are in leaves. Some of these cells absorbed acridin orange, and other ones — uranin. Proportion of hydropots decreased with the leaf's age. In root hair cells the cationic dye was uptaken by the tip of a root hair, and anionic dye was uptaken by the basic part of a cell which is in the risodermis. In the roots without root hair cells cationic dye was absorbed by single cells near the root base and anionic dye was absorbed by single cells near the root apex.