

УДК 581.133.8:581.144.2:621.039.85

## ИЗУЧЕНИЕ ПОТОКОВ ИОНОВ КАЛЬЦИЯ В КЛЕТКАХ КОРНЕЙ КУКУРУЗЫ РАЗЛИЧНОГО ВОЗРАСТА РАДИОИНДИКАТОРНЫМ МЕТОДОМ

М. Н. БАРАБАНЩИКОВ, Ю. Я. МАЗЕЛЬ

(Кафедра применения изотопов и радиации в сельском хозяйстве)

Рассчитывали потоки ионов кальция в корневых клетках, находящихся на различных этапах дифференцировки, используя трехкомпартментальную модель клетки и параметры, полученные при графическом разложении кинетических кривых выхода меченого элемента из ткани. По уравнению Уссинга — Теорелла оценивали характер транспорта иона кальция через мембраны и определяли соответствующие коэффициенты проницаемости.

Среди работ по физиологии растений значительное место занимают исследования функциональной морфологии клеток и тканей, результаты которых дают возможность наиболее полно охарактеризовать протекающие в них процессы и выявить специфику отношений, сложившихся между структурой и функцией клетки.

Рост и формирование поглотительного аппарата клетки являются взаимосвязанными процессами, происходящими в течение всего периода деятельности корня. Имеющиеся данные позволяют составить достаточно четкое представление о структурных изменениях и особенностях метаболизма клеток корня, находящихся на различных этапах дифференциации [1, 7]. Однако взаимосвязи указанных явлений изучены недостаточно. Практически отсутствуют сведения и о характере транспорта ионов через соответствующие мембраны.

Целью настоящей работы было исследование ионных потоков и характера транспорта иона кальция в клетках корней растений различного возраста. Объектом изучения служили корни проростков кукурузы (*Zea mays* L.) сорта Стерлинг. Семена проращивали в течение 2 дней при 28 °С на фильтровальной бумаге, смоченной водопроводной водой, в дальнейшем проростки высаживали на 1/4 раствора Кнопа при ежедневной смене раствора, на этой среде они находились до 7- и 14-дневного возраста. Ионные потоки в клетках корня рассчитывали по кинетическим кривым вымывания меченого элемента из ткани. В качестве радиоиндикатора кальция использовали <sup>65</sup>Са. Для насыщения клеток корня меченым кальцием интактные проростки перенесли на среду с объемной удельной активностью (4—10) • 10<sup>3</sup> Бк/мл. Время насыщения (17 ч) было достаточным для установления изотопного равновесия [6].

После окончания периода насыщения клеток корня отделяли участки, соответствующие изучаемым зонам, и отмывали их немеченым раствором того же состава. В опытах использовали следующие участки корня (мм от его кончика): 2—4, 50—60, 100—110, 190—200, у 2-недельных растений — 310—315.

Радиоактивность промывного раствора измеряли в сцинтиллаторе «Unisolve 1» на β-спектрометре «Рак-бета-1217». Количество клеток и их размеры определяли под микроскопом. Экспериментальные данные обрабатывали по методике, описанной в работе [6]. Значения потоков ионов рассчитывали, исходя из представлений о трехкомпартментальной модели клетки, находящейся в квазистационарном состоянии.

В этих условиях чистый поток ионов в клетку устанавливали исходя из равенства

$$\Phi_{netto} \neq 0 \text{ и } \Phi_{netto} = \Phi_{oc} - \Phi_{co} = \Phi_{cv} - \Phi_{vc},$$

где  $\Phi$  — поток;  $o, c, v$  — соответственно внешний раствор, цитоплазма и вакуоль.

Электрохимическое состояние иона на мембране оценивали по кривую активного транспорта — уравнению Уссинга — Теорелла. При этом в случае активного транспорта должно выполняться неравенство

$$0,5 > \frac{A}{B} > 2,0; \quad A \text{ и } B \text{ — соответственно отношение потоков, рассчитанное}$$

по уравнению Уссинга — Теорелла и найденное экспериментально [6].

Разность потенциалов (РП) в клетках 2-дневных проростков измеряли с помощью стандартной микроэлектродной техники [4]. Полученные данные обрабатывали по составленной нами программе на мини-компьютере «Голден-II» (США).

Ионные потоки в клетке можно рассчитать только при наличии квазистационарных условий, т. е. когда имеется постоянный поток через систему. В этом случае кинетические параметры, получаемые при графическом разложении кривых выхода меченого элемента, можно увязать с представлениями о трехкомпарментальной модели клетки при последовательной организации транспорта между компартментами. Необходимо подчеркнуть, что из-за ограничений, налагаемых на модель, значения определяемых потоков зависят от содержания изотопно-обменного элемента в клетке ( $Q$ ), которое может изменяться в интервале  $Q_{\min} \leq Q \leq Q_{\max}$ . При этом в качестве максимального значения  $Q$  можно принять валовое содержание элемента, а минимального — величину, при которой поток на тонопласте  $\Phi_{\text{вс}} = 0$ , так как его отрицательная величина не имеет смысла [6]. Исходя из используемой математической модели, единственным потоком, не зависящим от  $Q$ , является поток из внешнего раствора в цитоплазму  $\Phi_{\text{ос}}$  (табл. 1).

Как следует из данных табл. 1, у растений независимо от возраста наибольший поток наблюдался в клетках зоны растяжения, который был в 2—4 раза больше, чем в клетках других зон корня. У проростков кукурузы одного возраста, начиная с зоны корневых волосков, ионный поток по длине корня достоверно не изменялся. Не отмечено также существенных различий по этому показателю в аналогичных участках корня у растений 7- и 14-дневного возраста. С помощью метода наименьших квадратов были установлены аналитические линейные зависимости потоков на тонопласте и потока из цитоплазмы во внешнюю среду ( $\Phi_{\text{со}}$ ) от  $Q$ .

Сравнительный анализ потоков различных зон корня, зависящих от  $Q$ , возможен путем сопоставления значений, полученных для выбранной фиксированной величины  $Q$ . Однако значения  $Q$  в клетках корня могут различаться, поэтому ионные потоки сопоставляли при условии, что значения  $Q$  в клетках разных зон корня могут быть различными — от  $Q_{\min}$  до  $Q_{\max}$ .

На основании полученных данных мы пришли к следующим выводам:

1) ионный поток из цитоплазмы во внешний раствор ( $\Phi_{\text{со}}$ ) в клетках зоны растяжения у растений разного возраста достоверно отличался от потока в клетках других зон корня в пределах всего диапазона

Таблица 1

Поток ионов меченого кальция из внешнего раствора в цитоплазму —  $\Phi_{\text{ос}}$   
(мэкв на 1 кг сырой массы\*ч)

Возраст растений, дни	Зона корня, мм				
	2—4 (3—5)*	50—60	100—110	190—200	310—315
2	1,96±0,19	0,51±0,03	—	—	—
7	2,58±0,65	0,63±0,02	0,45±0,05	0,57±0,05	—
14	1,06±0,15	0,40±0,01	—	0,34±0,03	0,41±0,05

\* Зона корня 2—4 мм у 2-дневных растений, 3—5 мм — у 7—14-дневных.

изменений значений  $Q$ ; для остальных участков корня, кроме меристемы, различий не установлено;

2) для ионного потока из цитоплазмы в вакуоль ( $\Phi_{\text{cy}}$ ) у 2- и 7-дневных растений достоверные различия наблюдались только между клетками зоны растяжения и клетками других зон корня, а также между клетками зоны растяжения в зависимости от возраста; у 2-недельных растений поток в клетках в начале зоны дифференциации достоверно отличался от потока в других зонах корня, где он был практически одинаковый;

3) по величине потока ионов кальция из вакуоли в цитоплазму ( $\Phi_{\text{cy}}$ ) у однонедельных растений достоверные различия отмечались между клетками зоны растяжения и клетками других зон корня, а также между различными участками зоны дифференциации; аналогичная картина наблюдалась и у 2-недельных проростков; для данного потока при переменной величине  $Q$  различия оказались достоверными только при больших значениях  $Q$ .

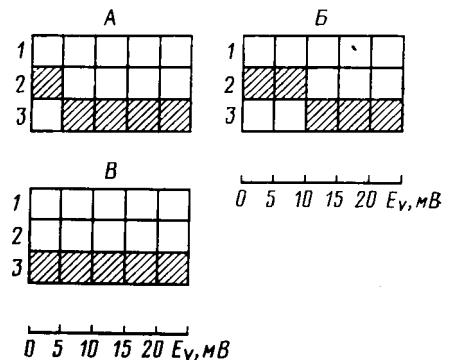
Возрастные структурные изменения в клетках корня в первую очередь проявляются в функционировании мембран [2]. Мембранный потенциал (МП) в клетках зон корня 2-дневных проростков кукурузы был практически одинаковый по всей длине корня ( $-114 \pm 16$  мВ). Эквипотенциальность клеток корня зарегистрирована и у тыквы [3]. Значения МП мало менялись и при 10-кратном увеличении концентрации внешнего раствора. По предварительным данным, у 2, 7 и 14-дневных проростков кукурузы значения РП различались незначительно. Поэтому для расчетов были выбраны значения МП, одинаковые для растений различного возраста. В связи с особенностями объекта, а также техническими и методическими сложностями непосредственные измерения МП тонопласта клеток нами не проводились. Однако, как следует из литературных данных, эта величина по сравнению с РП на плазмалемме незначительна и составляет, как правило, 5—15 мВ [8]. Для более полного учета возможных изменений МП на тонопласте нами был выбран именно этот диапазон значений.

Как известно, уравнение отношения потоков Уссинга — Теорелла выведено для независимого пассивного движения иона через мембрану. При равных или близких значениях экспериментально определенного и теоретически рассчитанного отношений потоков распределение иона на мембране имеет пассивный характер. Появление существенных различий в этих отношениях свидетельствует об активном транспорте иона. Уравнение Уссинга — Теорелла использовали для установления характера транспорта ионов кальция через мембраны клеток корня (рисунок).

У 2-дневных проростков характер транспорта ионов через плазмалемму не зависел от степени дифференцировки клеток, при этом  $\text{Ca}^{2+}$  активно транспортировался во внешний раствор. Аналогичная картина наблюдалась для этой мембраны клеток, различных зон корня 7- и 14-дневных растений.

Установлено, что ионы кальция активно поступают в вакуоль через тонопласт клеток различного возраста. Такое распределение иона свойственно для всего диапазона значений МП, за исключением базальной части корня, где при значениях  $\text{МП} < 10$  мВ транспорт через тонопласт был пассивным.

На основании полученных зна-



Электрoхимическое распределение ионов кальция на тонопласте клеток зон корня кукурузы различного возраста (заштрихованный квадрат — транспорт ионов).

1 — активный транспорт ионов наружу; 2 — пассивный транспорт; 3 — активный транспорт вовнутрь; А — участок корня 190—200 мм у однонедельных растений; Б — участок 310—315 мм у двухнедельных растений; В — зона растяжения, участок 50—60 мм у тех и других растений, 100—110 мм — у однонедельных, 190—200 мм — у двухнедельных растений.

Коэффициенты проницаемости плазмалеммы (числитель) и тонопласта (знаменатель) для ионов кальция ( $P_j \cdot 10^{-3} \text{ см} \cdot \text{с}^{-1}$ )

Возраст растений, дни	Зона корня, мм				
	2—4 (3—5)*	50—60	100—110	190—200	310—315
2	5,1	2,0	—	—	—
	0,8	0,6	—	—	—
7	1,3	0,4	0,3	0,3	—
	0,9	0,02	0,02	0,03	—
14	1,5	0,2	0,8	0,13	0,2
	0,3	0,012	0,07	0,02	0,09

\* Зона корня 2—4 мм у 2-дневных растений, 3—5 мм — у 7—14-дневных.

чений потоков ионов кальция и данных о характере транспорта через соответствующую мембрану были рассчитаны коэффициенты проницаемости плазмалеммы и тонопласта (табл. 2). Полученные результаты (по порядку величин) совпадают с коэффициентами проницаемости, установленными для клеток колеоптилей и корней овса, лука и корнеплодов моркови [10, 11].

Наибольшие значения коэффициента проницаемости плазмалеммы свойственны клеткам зоны растяжения, в частности клеткам 2-дневных растений. Характер изменения коэффициента проницаемости плазмалеммы у проростков по длине корня был одинаковым и не зависел от возраста растений. При этом в базипетальном направлении к середине зоны дифференциации он постепенно снижался, затем практически находился на одном уровне.

Коэффициенты проницаемости плазмалеммы для клеток зоны растяжения были на порядок выше, чем для клеток других зон корня. Наблюдалась существенные различия по коэффициентам проницаемости тонопласта между клетками 2-дневных проростков и более взрослых растений. Хотя значения этого коэффициента по длине корня неодинаковые, можно, по-видимому, с учетом ошибки в определении говорить об их практически постоянной величине.

Клетки корня высших растений на различных этапах структурообразования служат удобным объектом для изучения процессов формирования их поглотительного аппарата. Этот процесс начинается в меристематических клетках, обладающих низкими активностью ферментов и интенсивностью дыхания [7], энергонезависимым поглощением ряда биологически важных ионов [4, 8]. По мере перехода клетки в дифференцированное состояние усиливается обмен веществ, при этом формируются специализированные ткани, участвующие в поглощении и транспорте веществ.

Возрастные структурные изменения клетки должны проявляться в изменении функционирования мембран, их транспортных систем, ионных потоков. Данные об изменении последних и электрохимическом распределении ионов на мембране служат дополнительной информацией о происходящих в клетке процессах. Как показали результаты сравнения ионных потоков в клетках различных зон корня кукурузы одного возраста, наибольшие по величине потоки характерны для клеток зоны растяжения, эти клетки отличались и высокими значениями коэффициентов проницаемости плазмалеммы. Указанная закономерность свойственна и растениям разного возраста, что дополнительно подчеркивает различия между зонами корня. Как известно, в клетке поддерживаются весьма низкие концентрации ионов кальция [12]. Это достигается путем активного транспорта иона кальция во внешний раствор и вакуоль соот-

ответственно через плазмалемму и тонопласт, что характерно для клеток различных зон корня растений разного возраста.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Данилова М. Ф. Структурные основы поглощения веществ корнем. — Л.: Наука, 1974. — 2. Косули на Л. Г., Лапикова В. П. Становление поглощательной функции корня. — Вест. МГУ, сер. биология, 1985, № 1, с. 15. — 3. Красвина М. С. К вопросу о эквипотенциальности корневых клеток корня. — Физиология растений, 1974, т. 21, вып. 5, с. 5. — 4. Крастс И. В. Общая блок-схема установки и методы исследования клеток микроэлектродной техникой. — В кн.: Приборы и методы для микроэлектродных исследований клеток. Пушкино: ОНТИ НЦБИ АН СССР, 1975, с. 42. — 5. Мазель Ю. Я., Житнева Н. Н. Поглощение меченого рубидия отдельными участками корня кукурузы. — Изв. ТСХА, 1975, вып. 3, с. 3. — 6. Мазель Ю. Я., Ба-  
рабаншиков М. Н. Потоки калия и кальция в растущих и закончивших рост клетках корня кукурузы. — Физиология растений, 1985, т. 32, вып. 2, с. 239—247. — 7. Хавкин Э. Е. Обмен веществ растущих клеток корня, сер. физиология растений. Т. 1. Физиология корня. — М.: ВИНТИ, 1974, с. 106. — 8. Dunlop J. — Expt. Bot., 1976, vol. 27, N 100, p. 908. — 9. Handley R. D., Overstreet R. — Plant Physiol., 1961, vol. 36, N 6, p. 766—770. — 10. Higinbotham N. B. — Plant Physiol., 1967, vol. 42, p. 37—46. — 11. Macklon A. E. S. — Planta., 1975, vol. 122, p. 131—141. — 12. Mengel K., Kirby E. A. — Int. Potash. Inst., 1982, p. 450.

*Статья поступила 1 сентября 1987 г.*

#### SUMMARY

Calcium ion fluxes in root cells at different differentiation stages were calculated proceeding from the idea of three-compartmental cell model and using the parameters obtained from graphical resolution of kinetic curves showing the release of labelled element from the tissue. The nature of calcium ion transport through membranes was estimated and corresponding permeability coefficients were determined.