

УДК 581.632.121

ДИНАМИКА НАКОПЛЕНИЯ АКТИВНОГО НАТРИЯ В ПРОРОСТКАХ РАСТЕНИЙ КУКУРУЗЫ, ОТЛИЧАЮЩИХСЯ ПО СТЕПЕНИ СОЛЕУСТОЙЧИВОСТИ

Кабузенко С.Н., Омельченко А.В.

Засоление почвы в значительной мере ограничивает растениеводство во многих странах, в частности на юге Украины и в Крыму. Преобладающим катионом на засоленных почвах является Na^+ , который в сочетании с анионами Cl^- , SO_4^{2-} , CO_3^{2-} , накапливаясь в избыточном количестве в растительных тканях, оказывает токсическое действие [1, 2]. При произрастании в условиях высокой концентрации солей растению необходимо уменьшение токсичности Na^+ и сохранение ионного гомеостаза [3]. Известно, что ионы Na^+ и Cl^- поглощаются корнем и транспортируются по растению при помощи разных механизмов и с различной скоростью [4]. Способность растений-гликофитов не допускать повышения содержания натрия в листьях и других жизненно важных органах является существенным моментом при их выращивании на обогащенных натрием засоленных почвах. Высшие растения имеют механизмы защиты от повышенной концентрации NaCl как на уровне целого растения, так и на клеточном уровне.

На уровне целого организма «стратегия» ионного гомеостатирования проявляется в поддержании низких концентраций ионов Na^+ и Cl^- в молодых активно метаболизирующих частях растений, в первую очередь, в меристеме и генеративных органах.

Защита от соли на клеточном уровне в значительной мере связана с работой Na^+/H^+ -антипортеров, H^+ -насосов и белков, регулирующих их активность [3].

Поступающий в цитоплазму Na^+ , проявляющий токсический эффект при его повышенных концентрациях, выводится из клеток против градиента его электрохимического потенциала с затратами метаболической энергии. Считается, что наиболее вероятным механизмом, ответственным за выведение из цитоплазмы ионов Na^+ , является Na^+/H^+ обмен на плазматической мембране клеток через Na^+/H^+ -антипортер за счет использования энергии трансмембранного протонного градиента [3, 5 – 7].

Другим возможным механизмом выведения избытка ионов Na^+ из цитоплазмы растительных клеток является транслокация этих катионов через плазматическую или вакуолярную мембрану за счет прямого использования энергии АТФ в ходе работы Na^+ -транспортирующей АТФазы [8]. В результате повышается содержание Na^+ в свободном пространстве ткани.

ДИНАМИКА НАКОПЛЕНИЯ АКТИВНОГО НАТРИЯ В ПРОРОСТКАХ РАСТЕНИЙ

Следовательно, распределение содержания Na^+ в органах и тканях растительного организма имеет большое значение в приспособлении к высоким концентрациям «засоляющих» ионов в среде [9 – 11].

Поэтому целью нашей работы явилось изучение распределения Na^+ в надземных органах и корнях растений кукурузы, отличающихся по степени солеустойчивости, а также роли свободного пространства в адаптивной реакции к засолению указанных растений.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследований служили 10-дневные проростки кукурузы отличающиеся по степени солеустойчивости: гибрид Шаланда МВ, выведенный в Селекционно-генетическом институте УААН (г. Одесса) и сорт Одесская 10, широко районированный на юге Украины и в частности в Крыму.

Солеустойчивость сравниваемых объектов была определена способом проращивания семян на солевых растворах (метод разработан в лаборатории солеустойчивости Санкт-Петербургского института растениеводства).

Нами было установлено, что гибрид Шаланда МВ обладает более высокой солеустойчивостью по сравнению с сортом Одесская 10.

Семена кукурузы в количестве 100 штук выкладывали в кюветах на фильтровальной бумаге, смоченной отстоянной водопроводной водой (контроль) и растворами хлорида натрия концентрации 100 и 200 мМ (опыт). Проращивали их в термостате при температуре 27°C . На 5, 7 и 10 день определяли динамику содержания Na^+ в гомогенате и свободном пространстве тканей корня и надземной части с помощью атомно-адсорбционного спектрофотометра («Karl Zeiss», Германия).

Для определения выхода натрия из свободного пространства навеску весом 1 г из ткани листа и корня тщательно ополаскивали несколько раз дистиллированной водой, а последний раз – бидистиллятом. Ткань помещалась на 1 час в бидистиллированную воду (по 10 мл на каждую навеску). В полученном растворе измеряли содержание ионов натрия, затем ткань извлекали из воды, ополаскивали и растирали в ступке с постепенным добавлением 15 мл дистиллята. Гомогенат центрифугировали в течение 20 минут при 3000 об/мин. В надосадочной жидкости определяли содержание ионов натрия, которое включало активный Na^+ цитоплазмы и клеточного сока.

При определении параметров апопласта руководствовались методикой, описанной Д.Б. Вахмистровым [12].

Эксперименты проводили в трехкратной биологической повторности. В таблицах представлены средние арифметические значения и их стандартные ошибки.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Данные таблиц 1 и 2 показали, что в условиях хлоридного засоления растения гликофитного типа аккумулируют ионы Na^+ в корнях до значительно более высоких концентраций, чем в листьях.

Таблица 1.
Содержание Na^+ в водной вытяжке из тканей растения кукурузы гибрида Шаланда МВ (мкг/мл на 1 г сырой массы)

Вариант опыта	Гомогенат			
	5 день	7 день	10 день	
	Корень			
Контроль	0,062±0,001	0,090±0,005	0,082±0,001	
100 мМ NaCl	2,21±0,01	2,44±0,02	2,66±0,03	
200 мМ NaCl	3,0±0,1	3,05±0,06	3,84±0,09	
Вариант опыта	Надземная часть			
	5 день	7 день	10 день	
	Контроль	0,046±0,002	0,060±0,008	0,058±0,002
	100 мМ NaCl	0,69±0,04	0,60±0,06	0,36±0,02
200 мМ NaCl	1,42±0,01	1,22±0,02	0,60±0,05	

Таблица 2.
Содержание Na^+ в водной вытяжке из тканей растения кукурузы сорта Одесская 10 (мкг/мл на 1 г сырой массы)

Вариант опыта	Гомогенат			
	5 день	7 день	10 день	
	Корень			
Контроль	0,25±0,02	0,10±0,04	0,14±0,01	
100 мМ NaCl	1,91±0,03	2,49±0,07	2,95±0,04	
200 мМ NaCl	3,82±0,02	4,77±0,05	5,25±0,05	
Вариант опыта	Надземная часть			
	5 день	7 день	10 день	
	Контроль	0,12±0,01	0,085±0,004	0,21±0,03
	100 мМ NaCl	0,52±0,02	0,55±0,03	0,42±0,02
200 мМ NaCl	1,11±0,03	1,15±0,02	1,40±0,04	

Концентрация Na^+ в корнях растений у обоих генотипов возрастала с увеличением концентрации соли, однако накопление Na^+ было выше у кукурузы сорта Одесская 10, чем у кукурузы гибрида Шаланда МВ.

Анализ таблиц 1 и 2 показал, что при действии экстремальной концентрации хлорида натрия (200 мМ) растения кукурузы сорта Одесская 10 накапливают в гомогенате корня значительно больше «засоляющих» ионов Na^+ по сравнению с растениями гибрида Шаланда МВ. Причём, в динамике опыта в корне растений сорта Одесская 10 идёт увеличение содержания Na^+ и в клетках надземной части, в то время как у гибрида Шаланды МВ – уменьшение. Таким образом, барьерная роль корня больше выражена у гибрида Шаланда МВ.

Как показывают данные таблиц 1 и 2, гибрид Шаланда МВ на начальных этапах развития обладает большей способностью удалять Na^+ как из листа, так и корня, что можно рассматривать как один из механизмов солеустойчивости данного растения.

ДИНАМИКА НАКОПЛЕНИЯ АКТИВНОГО НАТРИЯ В ПРОРОСТКАХ РАСТЕНИЙ

Изучение динамики содержания натрия в растениях кукурузы в зависимости от концентрации NaCl показало, что при засолении 100 мМ и 200 мМ у обоих генотипов проявляется барьерная роль корня, в тканях которого накапливается активного натрия больше, чем в надземных органах.

Растения гликофиты в отличие от галофитов способны реабсорбировать Na^+ клетками корня из ксилемы и этим ограничивать поток этого иона в надземные органы [13].

Этот феномен получил название явления «декремент натрия». Он характерен для растений гликофитного типа [10, 11].

Солеустойчивые сорта кукурузы способны сдерживать поток ионов натрия из корней в надземную часть, ответственную за репродукцию, что наглядно прослеживается в динамике опыта на 10-й день. Из данных таблиц 1 и 2 можно сказать, что у выращенных при экстремальном засолении хлорида натрия (200 мМ) растений кукурузы гибрида Шаланда МВ содержание активного натрия в корне по сравнению с кукурузой сорта Одесская 10 снижено в 1,4 раза, а в надземной части в 2,3 раза - соответственно. В корне растений гибрида Шаланда МВ накапливалось натрия в 6,4 раза больше, чем в надземной части, в то время как у сорта Одесская 10 - в 3,7 раза.

Наблюдаемые нами различия в способности растений кукурузы к накоплению ионов позволяют предположить, что сортовая устойчивость к засолению может зависеть от эффективности функционирования в корнях и листьях ионных транспортеров, таких как H^+ -АТФаза, Na^+/H^+ -антипортеры тонопласта и плазмалеммы.

По данным литературы, роль мембранной H^+ -АТФазы состоит в том, что благодаря деятельности этого фермента создается протонный градиент на мембране, который используется для последующего выведения из клеток «избыточного» натрия за счет работы Na^+/H^+ -антипортера, существование которого предполагается у многих растений [14, 15].

Благодаря этому механизму «засоляющие» ионы поступают в свободное пространство ткани или в вакуоль (при локализации фермента H^+ -АТФазы на тонопласте клеток).

В таблицах 3 и 4 показано, что содержание засоляющего катиона натрия в свободном пространстве корня и надземной части у растений кукурузы гибрида Шаланда МВ и сорта Одесская 10 распределяются неодинаково. В свободном пространстве корня обоих растений содержание натрия значительно выше, чем в надземной части.

У солеустойчивого гибрида Шаланда МВ в динамике опыта возрастает содержание активного натрия в свободном пространстве корня и надземной части, в то время как у сорта Одесская 10 в корне оно уменьшается.

Мы объясняем это тем, что у менее устойчивого сорта Одесская 10 по мере накопления натрия в растениях в динамике опыта раньше происходит ингибирование клеточного механизма удаления натрия из клеток корня, в результате чего возрастает его содержание в гомогенате клеток (см. табл. 2).

Таблица 3.
Содержание Na^+ в свободном пространстве тканей растения кукурузы гибрида Шаланда МВ (мкг/мл на 1 г сырой массы)

Вариант опыта	Свободное пространство		
	5 день	7 день	10 день
	Корень		
Контроль	0,0050±0,0007	0,015±0,0014	0,01±0,0057
100 мМ NaCl	0,13±0,01	0,23±0,022	0,31±0,064
200 мМ NaCl	0,28±0,02	0,44±0,085	0,61±0,044
	Надземная часть		
Контроль	0,0010±0,0001	0,0060±0,0003	0,0060±0,0012
100 мМ NaCl	0,0060±0,0014	0,0070±0,0006	0,012±0,001
200 мМ NaCl	0,028±0,004	0,033±0,005	0,075±0,007

Таблица 4.
Содержание Na^+ в свободном пространстве тканей растения кукурузы сорта Одесская 10 (мкг/мл на 1 г сырой массы)

Вариант опыта	Свободное пространство		
	5 день	7 день	10 день
	Корень		
Контроль	0,024±0,002	0,015±0,001	0,010±0,001
100 мМ NaCl	0,24±0,02	0,31±0,02	0,23±0,01
200 мМ NaCl	0,43±0,01	0,65±0,03	0,42±0,02
	Надземная часть		
Контроль	0,0087±0,0001	0,010±0,001	0,025±0,002
100 мМ NaCl	0,0089±0,0003	0,027±0,002	0,026±0,002
200 мМ NaCl	0,043±0,002	0,041±0,002	0,047±0,001

При локализации «избыточных» ионов в свободном пространстве корня и листа действие засоления на растение проявляется в меньшей степени, чем при их поступлении в клетку, но, адсорбируясь стенками клетки, ионы должны оказывать влияние на структурные параметры ткани.

Из данных таблицы 5 видно, что хлоридное засоление оказывало влияние на структурно-функциональные свойства свободного пространства (толщина клеточных стенок, соотношение объема клеток и межклетников) растения кукурузы.

В варианте хлоридного засоления наблюдается увеличение площади (объема) клеточных стенок по сравнению с контролем. Причиной этого явления может быть некоторое их разрыхление в результате адсорбции «избыточных» ионов. Относительный объем межклетников может возрастать вследствие изменения тургоресцентности клеток. Кроме того, увеличение в условиях засоления объема клеток может служить доказательством того, что рост клеток растяжением в этих условиях не ингибируется [16].

Таблица 5.
Относительная площадь структурных компонентов свободного пространства паренхимы корня кукурузы Одесская 10 (в % к общей площади среза)

Вариант	Отн. площадь клеточных стенок	Отн. площадь межклеточников	Отн. площадь апопласта суммарная
Контроль	3,59±0,21	3,07±0,47	5,34±0,68
Засоление по хлориду 0,4%	4,44±0,05	6,95±0,05	9,15±0,04

Таким образом, одним из механизмов, обуславливающих барьерную функцию корня у соленепроницаемых гликофитов на засолении является накопление в свободном пространстве корневых тканей «избыточного» натрия. По-видимому, в мембранах корневых клеток наиболее активен механизм Na^+/H^+ антипортера, функционирующего у растений гликофитного типа, т.е. наблюдается механизм «откачки» натрия из клеток корня в свободное пространство, и его ионы в меньшей степени поступают в надземную часть, о чем свидетельствуют данные, предложенные выше.

Повышение концентрации натрия в свободном пространстве тканей по данным литературы, обеспечивается работой ферментов H^+ -АТФаз.

На основе определения мРНК белка H^+ -АТФазы установлено, что в условиях засоления усиливается его генная экспрессия, причём в органах высших растений накопление ферментативного белка происходит в плазмалемме клеток, локализованных в местах изменения путей дальнего транспорта ионов [17].

По данным В.К. Педченко [18], фермент H^+ -АТФаза в пределах тканей корня локализуется преимущественно в клетках эпидермы и периферийной части центрального цилиндра, которые являются как бы естественными барьерами, контролирующими проникновение в корень «избыточных» ионов с помощью механизма активного транспорта.

Было показано также, что активация H^+ -АТФазы в тонопласте клеток корня и листа положительно влияет на солеустойчивость растений, поскольку благодаря ей на мембране тонопласта возрастает движущая сила для удаления Na^+ из цитозоля в вакуоль [3].

Более выраженная активность H^+ -АТФазы, обнаруженная в клетках корневой эпидермы, может свидетельствовать о важной роли этого фермента в поддержании гомеостаза и определенного равновесия в системе почва - растение в условиях высокого содержания засоряющих ионов в почве [18].

Поддержание низкой концентрации ионов Na^+ в цитоплазме является, по-видимому, общим свойством растений гликофитного типа. Полученные нами данные свидетельствуют о том, что в корневой системе гликофитного растения кукурузы функционирует механизм, способствующий выведению токсических «засоряющих» ионов натрия в свободное пространство, что зависит от солеустойчивости сорта.

ВЫВОДЫ

1. У растений кукурузы свойство солеустойчивости обеспечивается во многом барьерной ролью корня, ограничивающей поступление «засоляющих» ионов Na^+ в надземную часть.

2. Барьерная роль корня реализуется за счет накопления избыточных ионов в свободном пространстве его тканей, что приводит к изменению анатомических параметров свободного пространства.

Список литературы

1. Полевой В.В. Физиология растений: Учеб. для биол. спец. вузов. – М.: Высш. шк., 1989. – 464 с.
2. Удовенко Г.В. Солеустойчивость культурных растений. – Л.: Колос, 1977. – 213 с.
3. Ершов П.В., Репетова О.С., Трофимова М.С., Бабаков А.В. Активность ионных транспортеров и солеустойчивость ячменя // Физиология растений. – 2005. – Т. 52, №6. – С. 867-875.
4. Рудашевская Е.Л., Кириичникова А.А., Шишова М.Ф. Активность H^+ -АТФазы плазмалеммы клеток coleoptилей в процессе развития проростка кукурузы // Физиология растений. – 2005. – Т. 52, №4. – С. 566-572.
5. Hassidim Miriam, Braun Yael, Lerner Henry R., Reinhold Leonora. Na^+/H^+ and K^+/H^+ - antiport in root membrane vesicles insolated from the halophyte *Atriplex* and gliscophyte cotton // Plant Physiol. – 1990. – №4. – P. 1795-1801.
6. Луньков Р.В., Андреев И.М., Мясоедов Н.А., Хайтова Г.Ф., Куркова Е.Б., Балнокин Ю.В. Функциональная идентификация H^+ -АТФазы и Na^+/H^+ -антипортера в плазматической мембране, выделенной из клеток корня солезакапывающего галофита *Suaeda altissima* // Физиология растений. – 2005. – Т. 52, №5. – С. 715-725.
7. Padan E., Schuldiner S. Na^+/H^+ Antiporters, Molecular Devices That Couple the Na^+ and H^+ Circulation in Cells // J. Bioenerg. Biomembr. – 1993. – V.25. – P. 647-669.
8. Пагис Л.Я., Попова Л.Г., Андреев И.М., Балнокин Ю.В. Ионная специфичность Na^+ -транспортирующих систем в плазматической мембране галотолерантной водоросли *Tetraselmis (Platymonas) viridis* Kouch. // Физиология растений. – 2001. – Т. 48, №3. – С. 334-340.
9. Леонова Т.Г., Гончарова Э.А., Ходоренко А.В., Бабаков А.В. Солеустойчивые и солечувствительные сорта ячменя и их характеристика // Физиология растений. – 2005. – Т. 52, №6. – С. 876-881.
10. Захарин А.А. Быстрые реакции водообмена растений при воздействии на корни растворов солей различных концентраций // Физиология растений. – 2001. – Т. 48, №2. – С. 291-297.
11. Захарин А.А. Механизмы солеустойчивости растений // Тез. Докл. II съезда Всесоюзного об-ва физиологов растений. – Ч. I. – М., 1990. – 34 с.
12. Вахмистров Д.Б. К вопросу о локализации свободного пространства корней растений // Физиология растений. – 1967. – Т. 14, №3. – С. 397.
13. Балнокин Ю.В., Котов А.А., Мясоедов Н.А., Хайлова Г.Ф., Куркова Е.Б., Луньков Р.В., Котова Л.М. Участие дальнего транспорта Na^+ в поддержании градиента водного потенциала в системе средя-корень-лист у галофита *Suaeda altissima* // Физиология растений. – 2005. – Т. 52, №4. – С. 549-557.
14. Батов А.Ю., Максимов Г.Б. Роль рН в регуляции мембранного транспорта протонов у растений // 2 съезд Всесоюзного общества физиологов растений. – Ч. 2. – Минск, 1992. – С. 22.
15. Matoh Toru, Ishikawa Takayuki, Takahashi Eiichi. Collapse of ATP-induced pH-gradient by sodium ions in microsomal membrane vesicles prepared from *Atriplex gmelini* leaves. Possibility on Na^+/H^+ - antiport // Plant Physiol. – 1989. – №1. – P. 180-183.
16. Кабузенко С.Н. Влияние засоления и экзогенных фитогормонов на рост и некоторые физиолого-биохимические функции растений на ранних этапах онтогенеза: Дис... докт. биол. наук. – Киев, 1996. – 385 с.
17. Палладіна Т.О., Симчук О.Є. Функціонування H^+ -насосу в плазмалемі рослинних клітин за умов сольового стресу // Матеріали міжнародної конференції «Онтогенез рослин в природному та трансформованому середовищі». – Львів, 1998. – С. 225.
18. Предченко В.К. Очищення, властивості та регуляція H^+ -АТФази плазматичних мембран клітин коренів кукурудзи: Автореферат дис. ... канд. біол. наук. – Київ, 1993. – 17 с.

Поступила в редакцію 20.02.2006 г.