

А. П. Кравец, Н. Б. Гуменная, Л. М. Кузьменко, М. М. Ермак

## ИОНООБМЕННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ПОЛИМЕРОВ ПЕРВИЧНЫХ КЛЕТОЧНЫХ СТЕНОК ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ КАК ФАКТОР ПОГЛОЩЕНИЯ НЕБИОГЕННЫХ ЭЛЕМЕНТОВ И ВОЗМОЖНОСТИ ИХ МОДИФИКАЦИИ \*

*Установлено значительное влияние облучения в дозе 50 Гр и осмотического шока на физиологическое состояние первичной клеточной стенки (ПКС). Выявлено возрастание ионообменной способности как биомассы растений в целом, так и отдельных ПКС. Показана корреляция между увеличением ионообменной способности и аккумуляцией радионуклидов.*

**Введение.** Интерес к изучению механизмов и факторов, определяющих взаимодействие растительных организмов с минеральным окружением, выходит далеко за рамки чисто теоретического, поскольку невысокая избирательность растений является основой загрязнения всех без исключения трофических цепочек человека, неизбежно начинающихся с растений.

Исследования поглощения воды и физиологически значимых макро- и микроэлементов дали важнейшую информацию и для понимания возможных механизмов, обуславливающих поступление и накопление небиогенных элементов, причем есть основания полагать, что этот же комплекс факторов определяет и степень избирательности. Согласно современным представлениям, первый этап поглощения зависит от физико-химических процессов в так называемом свободном Доннановском пространстве растения, или апопласте, т. е. диффузии с последующим ковалентным или слабым взаимодействием элемента с компонентами первичных клеточных стенок (ПКС) [1—3].

Проведенный нами ранее статистический анализ взаимосвязи 12 количественных физиологических параметров и коэффициентов накопления  $^{137}\text{Cs}$  и  $^{90}\text{Sr}$  для водных растворов этих изотопов на группе из 28 сельскохозяйственных растений показал высокую скоррелированность накопления радионуклидов и КОЕ, а также содержания полисахаридов клеточной стенки [4].

Если физико-химический этап является определяющим в накоплении небиогенных элементов, то, варьируя химический состав, механическую прочность и, следовательно, КОЕ ПКС можно направленно модифицировать поглотительную способность растений, тем самым контролируя уровень накопления небиогенных элементов, включая радионуклиды.

Важную информацию, необходимую для выяснения этого вопроса, могло бы дать изучение факторов, заведомо приводящих к перестройкам химического состава и КОЕ ПКС, с точки зрения их способности вызывать изменения (того же знака) и в накоплении радионуклидов, а факторов, действующих на уровень накопления радионуклидов, — в отношении перестроек химического состава и КОЕ ПКС.

Настоящая статья посвящена попытке решения такого рода прямой и обратной задачи, т. е. исследованию, с одной стороны, эффектив-

\* Работа выполнена по проекту 6.2/4 ГКНТ Украины.

ности фактора (назовем его фактор 1), *a priori* влияющего на состояние и ионообменные характеристики ПКС, в отношении накопления радионуклида  $^{137}\text{Cs}$  и, с другой, — действия фактора, усиливающего накопление радионуклидов (фактор 2), на состояние ПКС.

Среди разнообразных экологических факторов мы остановили свой выбор на осмотическом шоке (тип 1) и остром облучении (тип 2). Известно, что осмотический шок (концентрации раствора  $10^{-3}$ — $10^{-2}$  моль/л) приводит к изменению биохимического состава и механических свойств ПКС [5]. Выбор второго фактора обусловлен не только сравнительно легкой дозируемостью, но и имеющимися многочисленными косвенными свидетельствами возможного влияния облучения на состояние клеточных стенок, проявляющегося в снижении полегания злаков после предпосевного облучения [6], повышении устойчивости к пероноспорозу [7] и влияния облучения на прочность древесины.

**Материалы и методы.** Исследования проводили на горохе сорта Юбилейный. Замачивание в течение первых суток проводили в растворах  $\text{NaCl}$ ,  $\text{KCl}$  и  $\text{K}_2\text{H}_2\text{PO}_4$  в концентрации  $10^{-2}$ — $10^{-3}$  моль/л. По достижении проростками двухнедельного возраста часть растительного материала отбирали, высушивали до суховоздушного состояния и готовили препараты для определения КОЕ интактных тканей, вторую часть материала использовали для выделения клеточных стенок, третью — для оценки накопления  $^{137}\text{Cs}$  из водных растворов.

После замачивания семена облучали в течение 1 ч в дозе 5 Гр. Выбор именно этой дозы обусловлен тем, что уже установлена ее эффективность в повышении устойчивости к пероноспорозу [7], полеганию [6] и в усилении накопления радионуклидов [8].

Клеточные стенки корней выделяли на двухнедельных растениях методом Стессарда [9] с использованием 1%-го раствора тритона X-100. Навеска интактных корней (соотношение навески и раствора 1 : 10) замачивается на 5 сут с периодичной (через сутки) сменой раствора и проверкой на остаточное белковое загрязнение препарата по методу Лоури (цит. по [1]). Затем клеточные оболочки промывали на протяжении 1 сут 0,05 н. раствором  $\text{HCl}$ , а в дальнейшем — дистиллированной водой до  $\text{pH}=7$ .

КОЕ сухой биомассы корней растений и предварительно выделенных клеточных стенок оценивали по методу Донцова [10, 11], а также менее распространенным, но более технически доступным методом Крука [3] в модификации Блемея [12] с использованием рН-метра. По этому методу определения КОЕ, 100—200 мг высушенных корней переносят в химический стакан, прибавляют 25—50 мл (в зависимости от величины навески)  $\text{HCl}$  (0,1 моль/л) и выдерживают 15 мин. Затем кислоту сливают и навеску промывают 7 раз дистиллированной водой. Затем на навеску выливают 25—50 мл (в зависимости от ее величины)  $\text{KCl}$  в концентрации 1 моль/л,  $\text{pH}$  7, и выдерживают в течение 30 мин. Количество адсорбированных ионов водорода выявляют, измеряя изменившуюся величину  $\text{pH}$  этого же раствора  $\text{KCl}$ . КОЕ выражали в мг-экв/100 г сухого вещества и рассчитывали по формуле

$$\text{КОЕ} = [(10^{-x} - 10^{-7}) \cdot V \cdot 100] / m,$$

где  $V$  — объем раствора (л);  $m$  — навеска сухого материала: 100 — для перерасчета на 100 г сухих корней; 7 — значение  $\text{pH}$  исходного раствора  $\text{KCl}$ ;  $x$  — значение  $\text{pH}$  раствора после десорбции водородных ионов в опыте.

Накопление растениями различных вариантов  $^{137}\text{Cs}$  происходило из водных растворов этого изотопа в течение суток. Предварительно (до введения изотопа) корни растений всех вариантов отмывали так же, как на начальной стадии подготовки к измерению ионообменной емкости: в течение 15 мин в растворе  $\text{HCl}$  (0,1 моль/л), а затем дистиллированной водой.

Для определения кинетики поглощения цезия, т. е. зависимости величины потока в растительных тканях  $-dC_{in}/dt$  от внешней концентрации  $C_{out}$  [13], использовали шесть концентраций смеси  $^{137}\text{Cs}$  и  $^{133}\text{Cs}$  в соотношении 1 : 10.

Данные по оценке значений КОЕ и накопления радионуклида представлены в виде гистограмм, при этом каждый столбец соответствует одной повторности, а значимость различий (на уровне 0,95) между сериями (вариантами опыта) оценивали по  $t$ -критерию Стьюдента.

**Результаты и обсуждение.** Как свидетельствуют полученные результаты, использованные типы воздействия существенно изменяют общую ионообменную емкость биомассы растений (рис. 1, а, б).

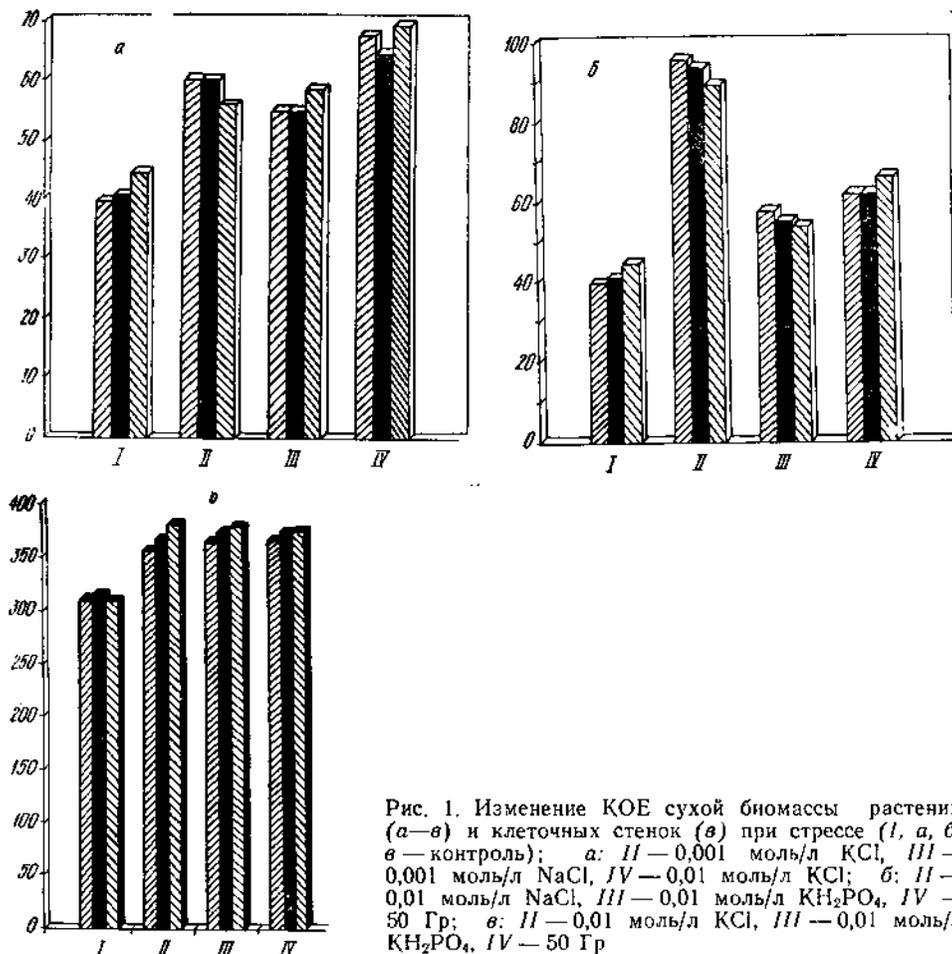


Рис. 1. Изменение КОЕ сухой биомассы растений (а-б) и клеточных стенок (в) при стрессе (I, а, б, в — контроль); а: II — 0,001 моль/л KCl, III — 0,001 моль/л NaCl, IV — 0,01 моль/л KCl; б: II — 0,01 моль/л NaCl, III — 0,01 моль/л  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , IV — 50 Гр; в: II — 0,01 моль/л KCl, III — 0,01 моль/л  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , IV — 50 Гр

Осмотический шок вызывали при двух концентрациях используемых солей, и для этих значений наблюдается монотонное возрастание ионообменной емкости биомассы, причем наиболее эффективным при одинаковых концентрациях в этом отношении является NaCl, очевидно, в силу большей токсичности этого катиона для растительных клеток.

Известно, что именно полимеры клеточных стенок служат барьером, в значительной мере снимающим или смягчающим токсическое действие небиогенных элементов, и существует обратнопропорциональная зависимость между величиной этого эффекта и ионообменной емкостью клеточных стенок [12].

Важно отметить, что использование двух солей  $\text{K}^+$  с более или менее токсичным анионом и полученные одинаковые значения КОЕ для этих вариантов свидетельствуют об эффективности в формировании катионообменной емкости именно типа катиона. Мы считаем, что данный

результат не является тривиальным, поскольку не исключена возможность того, что воздействие токсического аниона также может вызвать такого рода неспецифические адаптивные биохимические перестройки ПКС, которые косвенным образом повлияют и на катионообменную емкость.

Облучение семян в дозе 50 Гр также оказывается эффективным в отношении повышения ионообменной емкости сухой биомассы растений (рис. 1, б).

Выделение полимеров клеточной стенки, точнее ее полисахаридного каркаса, и оценка характера изменения его ионообменной емкости показывают значимое ее повышение при всех выбранных способах воздействия.

Изменения катионообменной емкости ПКС также весьма значительны при этих видах воздействий (рис. 1, в).

Следующий этап нашего исследования заключался в оценке влияния анализируемых факторов на повышение способности растений накапливать радионуклиды. Как следует из приведенных гистограмм (рис. 2), заметное увеличение накопления радионуклидов коррелирует с повышением ионообменной емкости сухой биомассы интактных корней растений и КОЕ выделенных клеточных стенок.

Изучение кинетики поглощения цезия (рис. 3) показало нетипичность аналитического вида зависимости  $dC_{in}/dt = F(C_{out})$  в исследованном диапазоне концентраций этого элемента. Как известно [1, 13], для макро- и микроэлементов в области так называемых слабых (менее  $10^{-6}$  моль/л) растворов эта зависимость имеет вид прямоугольной па-

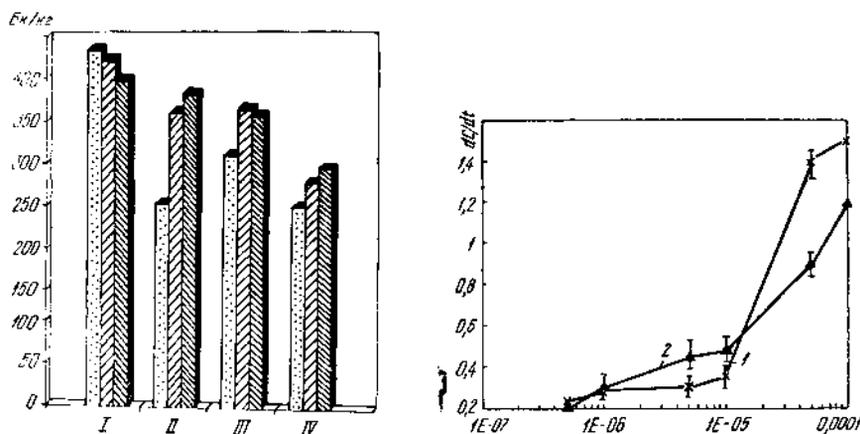


Рис. 2. Накопление радионуклидов при стрессе: I — 0,01 моль/л KCl; II — 0,01 моль/л NaCl; III — 50 Гр; IV — контроль. По оси ординат — удельная активность сырой массы

Рис. 3. Поглощение цезия проростками: 1 — гороха; 2 — кукурузы. По оси ординат — интенсивность потока; по оси абсцисс — внешняя концентрация

рабобы, а наблюдаемый в данном случае сигмоидный, близкий к ступенчатому, вид, свидетельствующий о кооперативном характере процесса, нетипичен. Мы полагаем, что такой характер зависимости объясним, если исходить из положения о ведущей роли в процессе поглощения первичной клеточной стенки как полифункционального сорбента. Помимо разнообразия функциональных групп, обуславливающих сильное ковалентное связывание металлов, необходимо учитывать сложную [2, 14] объемную ячеистую структуру полисахаридного каркаса апопласта, возможность слабого стерического взаимодействия, обусловленного соответствием диаметра ячеек и гидратированного (ных) иона (нов). Не исключено, что такое соответствие достижимо лишь при условии взаимодействия с ячейкой одновременно нескольких ионов, что и проявится в кооперативном характере концентрационной зависимости.

Таким образом, полученные результаты подтверждают наши данные по статистической оценке роли разнообразных физиологических факторов в накоплении радионуклидов [4] и указывают эффективный путь к его направленной модификации. Факт определяющей роли ионообменной емкости первичных клеточных стенок «скелета» растений в аккумуляции небιοгенных ионов может быть рассмотрен в контексте различных задач, возникающих при хозяйственном использовании загрязненных почв.

В частности, для контроля чистоты продуктов питания возможен двоякий подход к учету этой характеристики: при использовании биомассы растений в качестве кормов желательнее снижение ее ионообменной емкости, что достигается подбором соответствующих видов и сортов кормовых трав; для получения чистых хозяйственно ценных частей растений этот показатель, обуславливающий сопротивление транспорту элементов-загрязнителей по органам растения, должен быть достаточно высоким.

*О. П. Кравець, Н. В. Гуменна, Л. М. Кузьменко, М. М. Ермак*

### ІОНООБМІННІ ХАРАКТЕРИСТИКИ ПОЛІМЕРІВ ПЕРВИННИХ КЛІТИННИХ ОБОЛОНОК ВИЩИХ РОСЛИН ЯК ФАКТОР ПОГЛИНАННЯ НЕБІОГЕННИХ ЕЛЕМЕНТІВ І МОЖЛИВІСТЬ ІХ МОДИФІКАЦІЇ

#### Резюме

Встановлено значний вплив опромінення у дозі 50 Гр та осмотичного шоку на фізіологічний стан первинної клітинної оболонки (ПКО).

Виявлено підвищення іонообмінної здатності як біомаси рослини у цілому, так і окремих ПКО. Показано кореляцію між зростанням іонообмінної здатності та акумуляцією радіонуклідів.

*A. P. Kravetz, N. V. Gumenная, L. M. Kuzmenko, M. M. Ermak*

### CATION EXCHANGE CAPACITY OF PLANTS PRIMARY CELLS WALLS AS FACTOR OF ACCUMULATION NONBIOGENIC IONES AND ITS MODIFICATION

#### Summary

Osmotic and gamma-radiation stress alterations of state primary cells walls of *Pisum sativum* have been investigation.

Significant increasing cation exchange capacity have been demonstrated. Correlation between levels of cation exchange capacity and radionuclides accumulation have been demonstrated.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. *Микроэлементы: поступление, транспорт и физиологические функции в растениях.*— Киев: Наук. думка, 1987.— 180 с.
2. *Салеев Р. К., Швецова И. В.* Адсорбционные свойства изолированных стенок растительной клетки // Физиология растений.— 1969.— № 16.— С. 447—451.
3. *Knight A. M., Crooke W. M., Inkson R. H. E.* Cation-exchange capacities of tissues of higher and lower plants and their related uronic acid contents // *Natu.e.*— 1961.— 192.— P. 142—143.
4. *Kravetz A.* Physiological factors absorption nonbiogenic ions by higher plants // *Physiol. Plant.*— 1992.— 85, N 5.— P. 238—239.
5. *Iraki N. M., Bressan R. A., Hasegawa P. M., Carpita N. C.* Alterations of physical and chemical structure of the primary cell walls of growth-limited plant cells adapted to osmotic stress // *Plant Physiol.*— 1989.— 91.— P. 39—47.
6. *Палкина Т. А.* Эффект радиостимуляции семян озимой пшеницы и устойчивость к полеганию // Пробл. прикл. радиобиологии растений.— Чернигов, 1990.
7. *Дмитриев А. П., Гродзинский Д. М.* Влияние ионизирующего излучения на индукцию защитных реакций и устойчивость лука к болезням // Докл. АН УССР. Серия Б.— 1986.— № 9.— С. 62—64.
8. *Антропогенная радионуклидная аномалия и растения /* Под ред. Д. М. Гродзинского.— Киев: Лыбидь, 1991.— 189 с.

9. *Stassari J. M., Neirinckx L., Dejaegere R.* The interactions between monovalent cations during their adsorption on isolated cell walls and adsorption by intact barley roots // *Ann. bot.*—1981.—47, N 5.—P. 647—652.
10. *Донцов М. Б.* Ионнообменные свойства корней и их взаимосвязь с минеральным питанием растений // *Агрохимия.*—1976.—№ 9.—С. 142—151.
11. *Донцов М. Б.* Метод вивчення іонообмінної ємності коренів та інших органів рослин // *Доп. АН УРСР. Сер. Б.*—1977.—№ 1.—С. 73—75.
12. *Vlahey F. P. C.* Role of root cation-exchange capacity in differential aluminium tolerance of litus species // *J. Plant Nutr.*—1990.—13, N 6.—P. 729—745.
13. *Курский М. Д., Костерин С. А., Рыбальченко В. И.* Биохимическая кинетика.—Киев: Вища шк., 1977.—261 с.
14. *Милько И. А., Лузинов А. С., Воронов П. К.* Строение адсорбционных поверхностей полимерных пленок поли(мет)акрилатов // *Докл. АН Украины.*—1993.—№ 9.—С. 148—152.

Ин-т клеточ. биологии и генет. инженерии  
НАН Украины, Киев

Получено 25.07.94

Ин-т физиологии растений и генетики НАН Украины, Киев