

ЭКОЛОГО-ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ КАЛЬЦИЕФИЛЬНОСТИ ТРАВЯНИСТЫХ РАСТЕНИЙ

Показаны высокие потребности в кальции и способность к его накоплению в больших количествах в ионной форме у видов, ранее не упоминавшихся в литературе в качестве растений-кальцефилов. Прежде всего это относится к виду *Urtica dioica* L. Обнаружены порядковые различия в содержании ионизированного кальция у дикорастущих растений, обитающих в одинаковых почвенных условиях. Показаны существенные различия в распределении ионов кальция по органам у растений разных групп. Установлено наличие разных (по крайней мере, двух) типов поглощения ионов кальция дикорастущими травянистыми растениями.

Ключевые слова: кальциевое питание растений; кинетика поглощения; кальцефильность.

Поглощение минеральных веществ из почвы занимает одно из центральных мест в системе взаимоотношений «растительный организм – среда обитания». Известно, что нормальный рост и развитие конкретного растения обеспечивается не только достаточным количеством микро- и макроэлементов минерального питания, но и их надлежащим соотношением [1]. На специфичности таких соотношений построена концепция «биомоля» как одной из возможных индивидуальных характеристик надвидовых таксонов [2]. Однако в изучении видовых особенностей минерального питания существует явный дисбаланс: потребности культурных растений изучены достаточно хорошо, дикорастущих – очень незначительно. Между тем, как указывает В. Лархер, «...именно такого рода сведения (т.е. касающиеся дикорастущих видов – прим. автора) помогли бы лучше понять причины, определяющие характерный видовой состав того или иного сообщества».

Кальций, безусловно, относится к числу наиболее «противоречивых» элементов минерального питания растений. В ионизированной форме он проявляет высокую биологическую активность, обладая способностью в ничтожных концентрациях (порядка 10^{-6} – 10^{-7} М) оказывать воздействие на многие процессы, протекающие на мембранном, субклеточном, клеточном уровнях. Существующие на сегодняшний момент данные позволяют говорить об ионах кальция как об «универсальном триггере клеточных реакций» [3]. С другой стороны, как макроэлемент кальций характеризуется инертностью, малоподвижностью, низкой способностью к реутилизации [4].

В экологии растений принято традиционным делением растений по отношению к кальцию на кальцефилов и кальцефобов [5]. Иногда в эту классификацию добавляють среднюю группу нейтральных по отношению к кальцию растений [6]. К явным кальцефобам обычно относят виды, встречающиеся только на кислых, бедных известью почвах (например, торфяные мхи), кальцефилы, напротив, произрастают на богатых известью почвах с нейтральной или слабощелочной реакцией. Однако кроме специфики местообитаний у растений разных по отношению к кальцию групп, по мнению В. Лархера, существует еще один критерий дифференцирования этих групп – способность или неспособность к накоплению в тканях высоких количеств ионизированного кальция. Следует отметить, что наряду с отсутствием более или менее полной систематической картины, позволяющей отнести конкретные таксоны дикорастущих растений к тем или иным экологи-

ческим (по отношению к кальцию) группам, остается практически не изученным вопрос о специфике функций, выполняемых кальцием в процессах жизнедеятельности растений – представителей этих групп (прежде всего, это относится к растениям-кальцефилам). В этой связи представляется интересным и перспективным сочетание полевых исследований по изучению особенностей накопления и распределения кальция у растений разных экологических групп и лабораторных экспериментов, направленных на выяснение физиологических аспектов, связанных с этими особенностями.

Целью настоящей работы было изучение эколого-физиологических особенностей кальцевого питания у разных видов дикорастущих травянистых растений.

Материалы и методы исследований

В полевых и лабораторных экспериментах исследования проводились на травянистых растениях, произрастающих на территории Сибирского ботанического сада г. Томска. Всего на содержание ионов кальция было исследовано 8 видов растений: *Urtica dioica* L. (крапива двудомная), *Lamium album* L. (яснотка), *Aegopodium podagraria* L. (сныть обыкновенная), *Crepis sibirica* L. (скерда сибирская), *Leonurus cardiaca* L. (пустырник сердечный), *Sonchus arvensis* L. (осот полевой), *Conium maculatum* L. (болиголов пятнистый), *Matricaria recutita* L. (ромашка ободранная).

Содержание ионов кальция измеряли в экстрактах растительной биомассы комплексонометрическим методом и с помощью кальций-селективных мембранных электродов [7]. Содержание калия – с помощью калийных мембранных электродов.

Экстракцию ионов кальция и калия осуществляли кипячением на водяной бане в течение 15 мин, при этом величины pH полученных экстрактов составляли не менее 5,5. Для дальнейшей экстракции и остывания до комнатной температуры пробы помещали на шейкер.

В основе всей лабораторной части работы лежал эксперимент, который мы обозначаем как «концентрационный опыт». Растения выращивались в фитокамере при постоянных освещенности, температуре, светопериоде в течение месяца. В течение эксперимента производили анализ концентрационных кривых скорости поглощения ионов кальция растениями. В качестве питательных сред использовали растворы, близкие по составу к раствору Кнопа [8]. Растворы соответствовали методическому принципу – «все неизменно, кроме одного»: изменяемым параметром была концентрация

ионов кальция. Результаты экспериментов обрабатывали с помощью методов описательных статистик, непараметрических критериев, регрессионного анализа [9].

Результаты и обсуждение

Данные о накоплении ионов кальция в органах травянистых растений, произрастающих в условиях одно-

го биотопа в одинаковых почвенных условиях, представлены в табл. 1. Для исследований был выбран участок площадью около 500 м² с однородными условиями рельефа и освещенности, на котором совместно произрастали интересующие нас виды растений. Содержание ионов кальция в почвенных пробах, взятых из разных мест экспериментального участка, было примерно одинаковым – 5–7 мэкв/кг сухого веса.

Таблица 1

Содержание Ca^{2+} в разных органах у дикорастущих травянистых растений, произрастающих в одном биотопе

Растения	Среднее содержание в растении	Орган			
		Корень	Стебель	Черешок	Листовая пластинка
Крапива	89,5±19	4,5±3,9	12,6±7	63,2±32	166±49
Скерда	72±10	2±1	55±18	70±33	94±21,7
Пустырник	8,6±2,3	2,5±2,2	2±1,8	50±14,5	2±1,8
Осот	6,8±5	2,5±2,5	6±2,2	7,5±2,5	6,5±6
Яснотка	6,6±2,5	0,63±0,9	6,15±6	13±10,4	1±1,4
Ромашка	5,3±1,5	2±1,7	3±2,2	26,5±8,5	3,5±1
Болиголов	0,5±1,2	сл.	сл.	сл.	1±0,5
Сныть	0,1±0,1	1±0,5	сл.	сл.	сл.

Примечания. Сл. – следы; величины содержания Ca^{2+} ниже предела чувствительности электрода ЭМ-Са-01. Содержание Ca^{2+} приводится в мэкв/кг сырого веса. Среднее арифметическое, стандартная ошибка среднего.

По величине среднего содержания в биомассе Ca^{2+} все исследованные растения можно расположить в ряд, характеризуемый более или менее однородной тенденцией к увеличению. Тем не менее можно выделить виды с явно низким (0,1–0,5 мэкв/кг сырого веса у сныти и болиголова) и явно высоким (до 110 мэкв/кг у скерды и крапивы) содержанием Ca^{2+} . Значения среднего содержания Ca^{2+} у остальных видов лежат в пределах 5–10 мэкв/кг (см. табл. 2). Это хорошо согласуется с литературными данными и данными наших собственных исследований о наличии разных групп растений по отношению к кальцию. Существенной особенностью в данном случае можно считать тот факт, что все исследованные нами виды произрастали в одинаковых поч-

венных условиях. Наибольшее варьирование по содержанию Ca^{2+} отмечалось в тканях листовых пластинок, наименьшее – в корнях. Величины накопления ионов кальция крапивой и скердой (в пересчете на сухой вес) были соизмеримы с величинами содержания *общего* кальция у многих культурных растений.

При изучении накопления Ca^{2+} в сырой биомассе растений одного биотопа для более четкого разделения на эколого-физиологические группы нами был выбран такой показатель, как отношение концентраций ионов калия и кальция в экстрактах тканей разных органов. На рис. 1 показано изменение отношения $\text{Ca}^{2+}/\text{K}^{+}$ в направлении корень – стебель – листовая пластинка для трех видов растений.

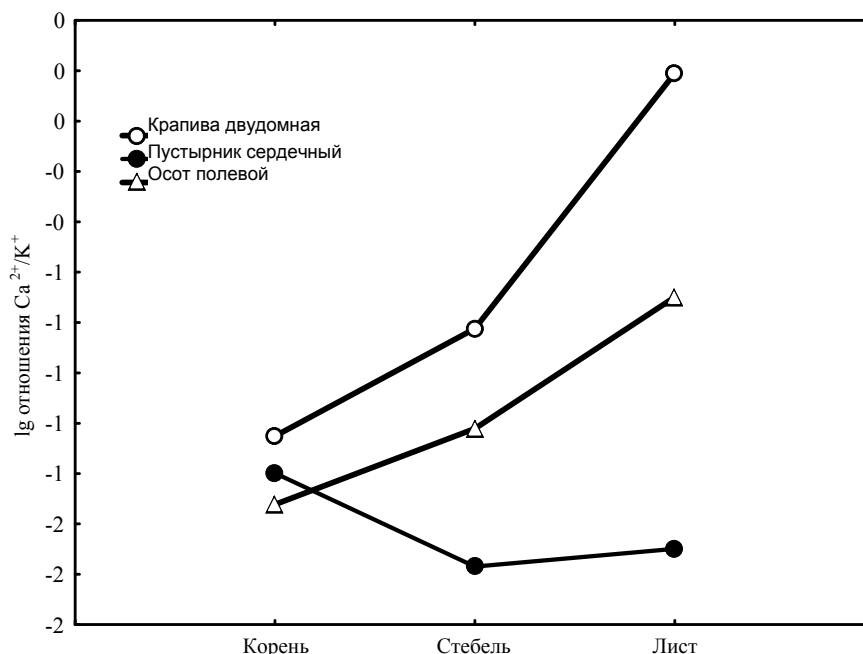


Рис. 1. Соотношения $\text{Ca}^{2+}/\text{K}^{+}$ в разных органах у трех видов растений

Мы исходили из известных данных о том, что у растений-кальцефилов кальция в золе содержится значительно больше, чем калия, а у растений-кальцефобов наблюдается противоположная картина [1]. Особенностью наших исследований можно считать то, что анализировалось соотношение не общих количеств указанных элементов, а их водорастворимых форм. Видно, что в тканях корней исследованных растений различия по этому показателю минимальны (если не отсутствуют вообще), в тканях листовых пластинок – максимальны. Как и ожидалось, катионный баланс в экстрактах листьев крапивы смещен в сторону преобладания ионов кальция, отношение $\text{Ca}^{2+} / \text{K}^{+} > 1$. У пустырника и осота полевого, напротив, калия в листьях накапливается гораздо больше чем кальция. Интересно, что соотношения калий/кальций в листьях осота и пустырника отличаются на порядок, в то время как достоверные различия в листовом содержании ионов кальция у этих видов отсутствуют. В ряде случаев, возможно, именно анализ соотношения кальция/калий может служить показателем истинных потребностей конкретного вида растений в ионизированной форме кальция.

На этапе лабораторных экспериментов по изучению поглощения ионов кальция растениями разных (по отношению к кальцию) экологических групп мы использовали не только дикорастущие виды, но и такой модельный объект как томат (*Lycopersicum Esculentum*).

Одним из общепринятых в настоящий момент способов изучения механизмов поглощения растениями того или иного вещества является анализ кинетических кривых зависимости скорости поглощения вещества от его концентрации в питательном растворе. Такой анализ основан на возможности применения математического аппарата ферментативной кинетики к изучению процессов мембранного транспорта у растений [10]. Так как в данном случае временно образующийся комплекс «переносчик–ион» считается аналогичным комплексу «фермент–субстрат», то скорость перемещения иона через мембрану связана с максимальной скоростью ($V_{\max}$) и константой Михаэлиса (K_m) следующим соотношением:

$$V = \frac{V_{\max} \times C}{K_m + C}.$$

Низкая величина K_m означает высокое сродство между ионом и переносчиком и наоборот.

Вышесказанное справедливо для описания моделей облегченной диффузии или активного транспорта, однако не следует забывать о наличии еще одного механизма поглощения ионов растительной клеткой – простой диффузии через водные поры в мембране. Этот процесс характеризуется кинетикой без насыщения и описывается уравнением диффузии Фика.

На рис. 2 представлены кинетические кривые концентрационной зависимости скорости поглощения ионов кальция корнями крапивы, пустырника и томата.

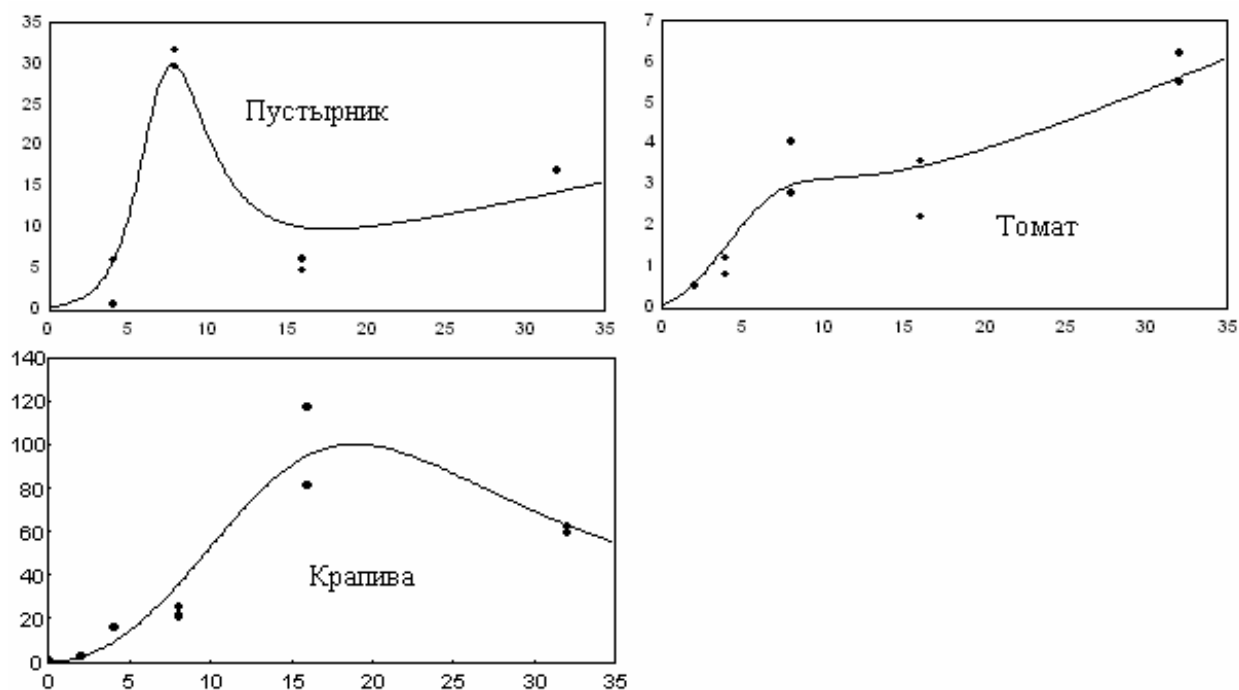


Рис. 2. Зависимость скорости поглощения кальция травянистыми растениями от его концентрации в питательном растворе. По оси Y – поглощение кальция растениями мэкв/г сырого веса; по оси X – концентрация кальция в питательном растворе, мэкв/л

Из рис. 2 видно, что для всех трех видов растений эта зависимость имеет смешанный характер и в чистом виде не может быть описана одним лишь уравнением Михаэлиса–Ментен или одним уравнением диффузии. Форма кривых у томата и пустырника наиболее вероятно указывает на наличие обоих вышеуказанных механизмов поглощения ионов кальция – облегченной и

простой диффузии. У крапивы компонент простой диффузии визуально выделить практически не удалось.

В целом форма концентрационных кривых скорости поглощения ионов кальция у всех трех исследованных видов растений позволила предположить наличие специфических транспортных систем, функционирующих в определенном диапазоне концентраций экзогенного

кальция. В этом диапазоне для всех растений наблюдался выраженный S-образный характер сначала увеличения, а потом уменьшения скорости поглощения кальция корнями. Это позволило предположить что, во-первых, кальций-транспортирующие системы этого типа ингибируются избытком субстрата (т.е. ионов кальция), и во-вторых – как активация, так и ингибирование при этом носят кооперативный характер. Исходя из этого, в качестве рабочей модели для формального описания кинетики поглощения ионов кальция для всех трех исследованных видов было выбрано уравнение вида [11]:

$$V = \frac{V_{\max} \times S^n}{(k_1 + k_2 \times S^n (1 + S^n / k_i))} + DS,$$

где V – скорость поглощения кальция корнями растения, мкэкв·г⁻¹·ч⁻¹; $V_{\max}$ – максимальная скорость поглощения, S – концентрация ионов кальция в питательном растворе, мэкв/л; n – число, взаимодействующих друг с другом мест связывания иона и переносчика; k_1 – коэффициент, соответствующий K_m в уравнении Михаэлиса–Ментен; k_2 – кинетический коэффициент, отражающий степень взаимодействия между субъединицами; k_i – константа ингибирования; DS – диффузионный член.

Методами нелинейного регрессионного анализа были получены оценки параметров данной модели для каждого растения (табл. 2) и рассчитаны соответствующие им теоретические зависимости, представленные на рис. 2 в виде сплошных линий. Коэффициент детерминации между этими теоретическими зависимостями и экспериментальными данными во всех случаях равнялся 0,97–0,98, что указывает на высокую степень адекватности выбранных моделей.

Из таблицы видно, что у всех трех растений поглощение Ca^{2+} осуществляется транспортными системами, имеющими как минимум два взаимодействующих между собой кальций-связывающих участка (субъединицы).

Таблица 2
Константы кинетических уравнений поглощения ионов кальция корнями некоторых травянистых растений

Растение	$V_{\max}$	k_m	k_i	D	n
Крапива	16,74 ± 1,57	29 ± 3,1	4,17 ± 0,3	0,01 ± 0,0007	2
Томат	0,82 ± 0,09	15,53 ± 1,4	0,5 ± 0,02	0,17 ± 0,009	2
Пустырник	7,0 ± 0,73	464,88 ± 57,5	2,3 ± 0,3	0,44 ± 0,052	4

Явление кооперативности в процессах трансмембранного транспорта кальция к настоящему времени описано как на животных, так и на растительных объектах. Это в равной степени может относиться как к функционированию кальциевых каналов разных типов [12], так и к функционированию кальциевых насосов [13]. В нашем случае, вероятнее всего, речь идет о разных количественных соотношениях (у разных растений) двух механизмов пассивного транспорта кальция – облегченной и простой диффузии. Последняя практически отсутствует в процессе поглощения ионов кальция корнями крапивы ($D = 0,01$), но достаточно выражена у пустырника и томата. Как видно из табл. 2, параметр $V_{\max}$ у крапивы примерно в 2,5 раза больше, чем у пустырника, и почти в 20 раз больше, чем у томата. О большей эффективности кальций-транспортирующих систем крапивы, на наш взгляд, также свидетельствует сравнение отношений величин суточного поглощения ионов кальция к величинам испаренной растениями воды. Для крапивы этот показатель варьировал в пределах 20–30 мкэкв Ca^{2+} /мл воды, для пустырника и томата – 5–7 мкэкв Ca^{2+} /мл воды.

ЛИТЕРАТУРА

1. Лархер Е. Экология растений. М.: Мир, 1978. 384 с.
2. Новак В.А., Осмоловская Н.Г. Фитомониторинг в физиологии растений: организация, устройство и возможности // Физиология растений. 1997. Т. 44, № 1. С. 138–145.
3. Иванова А.Б., Польшакова О.О., Гордон Л.Х. Ионы кальция в регуляции некоторых метаболических процессов растительной клетки // Цитология. 1997. Т. 39, № 4–5. С. 352–360.
4. Morgan L. Calcium and plant disorders in hydroponics // Hydroponics and greenhouses. 1998. Vol. 38. P. 61–71.
5. Красноборов И.М. Высокогорная флора Западного Саяна. Новосибирск: Наука, 1976. 365 с.
6. Каримова Ф.Г., Бунтукова Е.К., Ключкова Е.Е. Поглощение Ca^{2+} клетками растений // Цитология. 1991. Т. 33, № 11. С. 181–184.
7. Захарова Э.А., Килина З.Г. Электрохимические методы анализа. Томск: ТГУ, 1981. 133 с.
8. Гродзинский А.М., Гродзинский Д.М. Краткий справочник по физиологии растений. Киев: Наукова думка, 1973. 590 с.
9. Рокицкий П.Ф. Биологическая статистика. Минск: Высшая школа, 1973. 320 с.
10. Кларксон Д. Транспорт ионов и структура растительной клетки. М.: Мир, 1978. 368 с.
11. Варфоломеев С.Д., Гуревич К.Г. Биокинетика. М.: Фаир-пресс, 1999. 720 с.
12. Xiong H., Feng X., Gao L., Xu L., Pasek D.A., Seok J.H. and Meissinger G. Identification of a two EF-hand calcium binding domain in lobster skeletal muscle ryanodine receptor/calcium release channel // Biochemistry. 1998. № 37. P. 4804–4814.
13. Прокопьева В.Д., Болдырев А.А. Са-насос саркоплазматического ретикулума и регуляция сократительного цикла // Кальций – регулятор метаболизма: Сб. ст. Томск, 1987. С. 59–73.

Статья представлена научной редакцией «Биология» 15 сентября 2009 г.