

МЕЖКЛЕТОЧНЫЙ ВОДООБМЕН ВО ВСАСЫВАЮЩЕЙ ЗОНЕ СЕГМЕНТА КОРНЯ: ИССЛЕДОВАНИЕ ГРАДИЕНТНЫМ МЕТОДОМ ЯМР

А.В. Анисимов, Т.И. Огородникова, М.А. Суслов

Казанский институт биохимии и биофизики – обособленное структурное подразделение Федерального исследовательского центра «Казанский научный центр Российской академии наук», Казань, Россия, anisimov@kibb.knc.ru

Аннотация. На примере всасывающей зоны корней проростков кукурузы методом спин-эхо ЯМР показано отсутствие драматических изменений в диффузионном радиальном транспорте воды в сегменте корня после его отсечения от интактного растения.

Ключевые слова: водообмен сегментов корня, ЯМР, диффузия, релаксация, парамагнитный допинг

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-89-92

Сегменты корней являются удобным и часто незаменимым объектом исследования транспорта воды в растениях. Всасывающая зона по своему предназначению – адекватный объект для исследования влияния на водоперенос различных физиологически активных соединений. Значительная часть результатов по транспорту воды получены на сегментах органов растений неинвазивными методами спинного эха ЯМР [Анисимов, 1992]. Последний позволяет регистрировать такие прямые характеристики переноса воды как коэффициент диффузии [Tanner, Stejskal, 1968], скорость трансмембранного обмена воды [Балла, 1985], разделять вклады различных путей водного переноса в растительных тканях [Ishida, 2000; Анисимов, 2004; Ионенко, 2012; Velikanov et al., 2015]. Возможность влияния на водообмен сегмента очевидного факта прерывания потока воды и сброса давления во ксилемных и флоэмных каналах при интерпретации данных зачастую по умолчанию сбрасывается со счетов. Последние соображения в рамках настоящей работы мотивировали предметное исследование релаксационным и диффузионным методами спинного эха ЯМР влияние отсечения на межклеточный радиальный диффузионный перенос воды в корнях всасывающей зоны проростков кукурузы.

Схема исследования построена на регистрации релаксационного и диффузионного затухания намагниченности воды в интактных корнях и сегментах корней 7-дневных проростков кукурузы. Эксперименты проводились на всасывающей зоне корней: 1 – интактных растений; 2 – на сегментах полноразмерной всасывающей зоны этих же корней; 3 – после фрагментации корней на отрезки длиной 3мм. Для сохранения первоначальной упаковки проростков в ампулах при их рассечении в последних, изготовленных из тефлона, были пропилены щели, с помощью которых упаковка проростков рассекалась непосредственно в измерительной ампуле. Для релаксационного подавления сигнала намагниченности от внеклеточной воды использовался парамагнитный допинг непроникающего в клетки комплекса GdDTPA 0,025 М (соль диэтилтриаминпентауксусной кислоты). Эксперименты на сегментах проводились в течение 10-20 мин после отсечения их от материнского растения. В релаксационных экспериментах импульсной последовательностью Карра-Парселла-Мейбума-Джилла регистрировалось релаксационное затухание (РЗ) поперечной намагниченности, обязанное спин-спиновой релаксации [Meiboom, Gill 1958].

В диффузионных экспериментах с помощью трехимпульсной р/ч последовательности (90°-90°-90°) с импульсным градиентом магнитного поля, регистрировалось диффузионное затухание (ДЗ) стимулированного эха [Tanner, 1970]. Измерялась относительная амплитуда сигналов эха – фактор $R=A(g,t_d)/A(g=0,t_d)$ в

зависимости от величины g и длительности δ импульсов градиента магнитного поля ($b = \gamma^2 \delta^2 g^2 t_d$) при вариации времени диффузии t_d как параметра [Tanner, Stejskal, 1968].

Серийный образец составлялся из 30 корней интактных проростков. Эксперименты проводились при температуре 23 °С.

Отсечение листовой зоны не привело к изменениям РЗ, и это вполне объяснимо слабым развитием суммарной площади листовой зоны 7 дневных проростков и, соответственно, малым уровнем транспирации (рис. 1). Незначительные изменения (снижение) скорости РЗ наблюдаются только при отсечении зоны меристемы корня, что, по-видимому, связано с потерей части корневого давления. Результаты диффузионных измерений (рис. 2) демонстрируют рост диффузии воды в сегментах. Данное увеличение, надо полагать, связано с отключением сопротивления переносу со стороны меристематической и листовой зоны. Инкубация в гадолинии приводит к исключению из рассмотрения быстро спадающего компонента ДЗ (рис. 2). Оставшаяся часть ДЗ характеризует воду симпласта. Высечение зоны всасывания (рис. 2) и последующее ее фрагментирование (рис. 3) также не приводят к кардинальным изменениям в поведении ДЗ. Таким образом, результаты диффузионных и релаксационных экспериментов на всасывающей зоне корней интактных растений кукурузы и на сегментах корней свидетельствуют об отсутствии драматических изменений в диффузионном радиальном транспорте воды в сегментах и трансмембранным и симпластным путями, по крайней мере, в интервале 20 мин после отсечения и в условиях низкого уровня транспирации, что позволяет считать сегменты корня самодостаточным объектом для исследования ближнего транспорта воды.

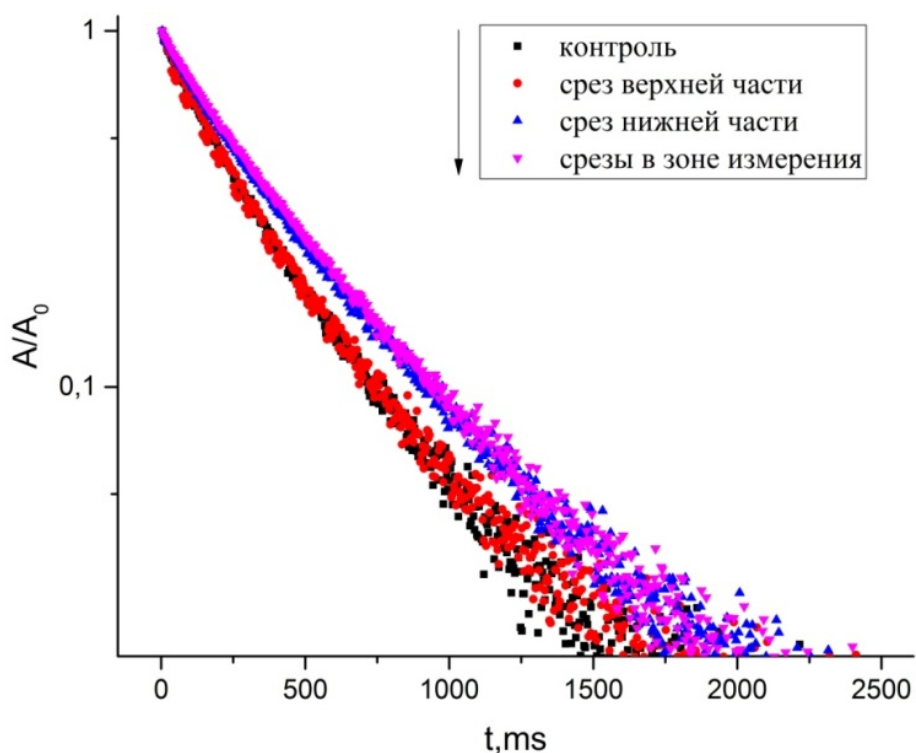


Рис. 1. Релаксационные затухания сигналов спинового эха при последовательном срезании листовой зоны проростков, зоны меристемы корней и после фрагментации зоны всасывания на 3 мм отрезки (срезы в зоне измерения).

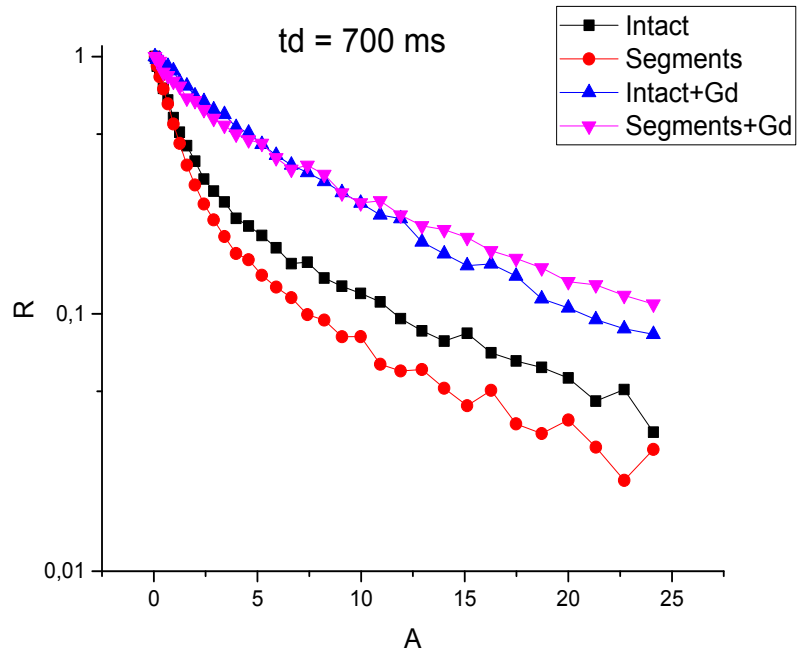


Рис. 2. Диффузионные затухания сигналов спин-эхо для корней интактных проростков и сегментов в норме и под допингом GdDTPA.

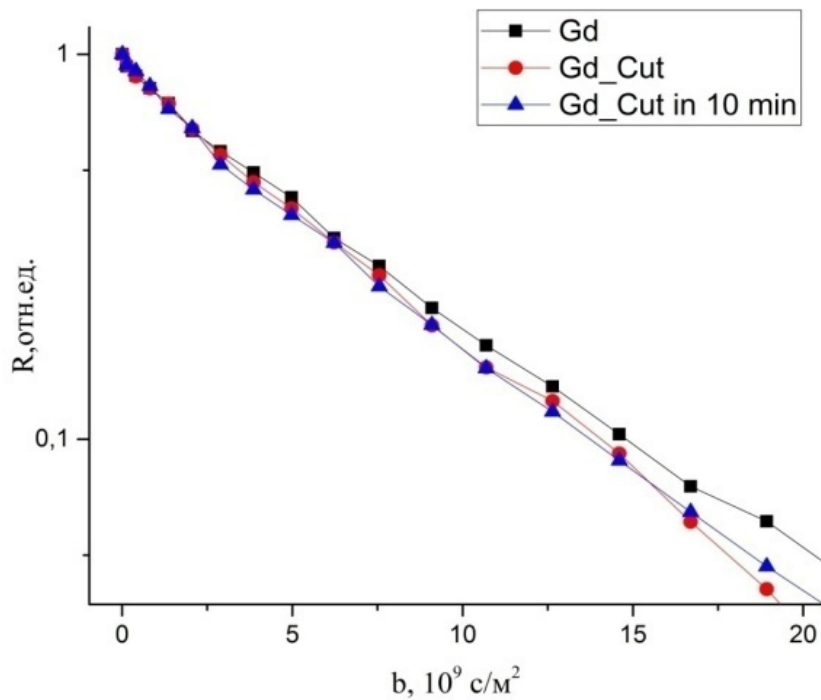


Рис. 3. Диффузионные затухания для сегментов корней под допингом GdDTPA при фрагментации на 3 мм отрезки в зависимости от времени после фрагментации.

Литература

Анисимов А.В., Раткович С. Транспорт воды в растениях. Исследование импульсным методом ЯМР. – Москва: Наука, 1992. – 144 с.

Анисимов А.В., Ионенко И.Ф., Романов А.В. Метод спин-эхо ЯМР в исследованиях трансляционной диффузии воды селективно по апопласту, цитоплазматическому и вакуолярному симпласту растений // Биофизика. – 2004. – Т. 49. – С. 891–896.

Балла Ю. И. Исследование состояния воды и процесса её кристаллизации в тканях растений методом ЯМР. – Тбилиси: 1985. – 127 с.

Ionenko I.F., Dautova N.R., Anisimov A.V. Early changes of water diffusional transfer in maize roots under the influence of water stress // Environ. Exp. Bot. – 2012. – V.76. – P. 16–23.

Ishida N., Koizumi M., Kano H. The NMR microscope: a unique and promising tool for plant science // Ann. Bot. – 2000. – V. 86. – P. 259–278.

Meiboom S., Gill V. Spin-echo method for measuring nuclear magnetic relaxation times // Rev. Sci. Instrum. – 1958. – V. 29, No. 8. – P. 688–691.

Tanner J.E. Use of the stimulated echo in NMR diffusion studies // J. Chem. Phys. – 1970. – V. 2. – P. 2523–2526.

Tanner J.E., Stejskal E.O. Restricted self-diffusion of protons in colloidal systems by the pulsed-gradient, spin-echo method // J. Chem. Phys. – 1968. – V. 19. – P. 1768–1777.

Velikanov G.A., Sibgatullin T.A., Belova L.P., Ionenko I.F. Membrane water permeability of maize root cells under two levels of oxidative stress // Protoplasma. – 2015. – V. 252. – P. 1263–1268.

INTERCELLULAR WATER EXCHANGE IN ABSORBING ZONE OF ROOT SEGMENTS: NMR GRADIENT METHOD STUDY

A.V. Anisimov, T.I. Ogorodnikova, M.A. Suslov

Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics of Kazan Science Center of the Russian Academy of sciences, Kazan, Russia, anisimov@kibb.knc.ru

Abstract. The lack of dramatic changes in diffusional radial water transport in root segment after their excision from intact plants is shown on the example of the absorbing zone of maize seedling roots using NMR spin-echo method

Keywords: *root segment water exchange, NMR, diffusion, relaxation, paramagnetic doping*