



Н.В. ОБРУЧЕВА

Институт физиологии растений Российской академии наук
ул. Ботаническая, 35, г. Москва, 127276, Россия

ПОСТУПЛЕНИЕ ВОДЫ КАК ФАКТОР РАСТЯЖЕНИЯ КЛЕТОК ¹

Ключевые слова: рост растений, растяжение клеток, диффузия воды, водные каналы, аквапорины, плазмалемма, вакуоль, тонопласт

Растяжение клеток — это быстрое, необратимое их увеличение во много раз по сравнению с их размером. Оно присуще многоклеточным растениям в связи с прикрепленным образом жизни, при котором они нуждаются в интенсивном росте для получения доступа к свету, элементам минерального питания и воде. Преимущество растяжения клеток перед делением заключается в том, что при делении их размеры всего лишь удваиваются, тогда как при растяжении они увеличиваются в десятки раз.

Примеры решающей роли растяжения в жизни растения многочисленны. При прорастании семян именно растяжение клеток является тем обязательным процессом, благодаря которому не только прорывается семенная кожура, но и быстро растет в почве корень, обеспечивающий водой дальнейший рост проростка. Последующее быстрое удлинение гипокотилия и эпикотилия позволяет проростку пробиться через почву к

¹ Доклад на торжественном заседании Национальной академии наук Украины, посвященном 125-летию акад. Н.Г. Холодного.

свету; подобным образом тянутся этиолированные стебли, образовавшиеся в клубнях и корневищах. На поверхности почвы под действием света их рост замедляется. Быстрый рост почек, удлинение черешков листьев и междоузлий стеблей, годичный прирост в длину побегов тоже являются результатом интенсивного растяжения ранее образовавшихся клеток, вследствие которого сигмоидные кривые роста осевых органов растений и самого растения характеризуются длинной линейной частью, что принципиально отличает их от кривых роста микроорганизмов, у которых этот отрезок отсутствует [4].

Протяженность и архитектура корневой системы также зависят от растяжения клеток. Число боковых корней и порядков ветвления определяется делением клеток, тогда как длина корней каждого порядка и компактность ветвления (расстояние на главном корне между соседними боковыми корнями) зависит именно от длины растянувшихся клеток. Тем самым корневая система охватывает больший объем почвы и достигает водоносного горизонта. Концевой рост растяжением корневых волосков тоже способствует поступлению воды в корень, так как именно «отодвинутые» кончики корневых волосков поглощают воду, что было показано изящными экспериментами Cailloux [9], надевавшего порометры на кончики отдельных корневых волосков.

При репродуктивном развитии растяжение клеток также очень существенно: быстрый рост в длину цветоносного стебля, лепестков и тычиночных нитей, рост пыльцевой трубки внутри столбика пестика — наглядные примеры важности растяжения клеток. Другой пример — быстрое удлинение весной соцветий (сережек) у ветроопыляемых деревьев, позволяющее раздвинуть цветки и повысить эффективность опыления.

Наконец, хотелось бы привести пример быстрого реагирования растения на неблагоприятные условия произрастания путем усиления растяжения. При затоплении риса *Oryza sativa* усиливается выделение этилена клетками стебля и резко ускоряется растяжение, в результате чего удлиняются междоузлия и листья выносятся на поверхность воды [14]. У устойчивых к затоплению растений болотного щавеля *Rumex palustris* этилен резко усиливает удлинение черешков листьев уже через несколько часов после затопления [22].

Поступление воды является обязательным условием для растяжения клеток, поскольку, с одной стороны, происходит их вакуолизация, а с другой, — под давлением поступившей воды раздвигаются полимеры разрыхленной клеточной оболочки, она растягивается, а объем клетки увеличивается. При прорастании семян вода является триггером инициации растяжения [2, 17]. Если поместить семена в осмотик, препятствующий поступлению воды, они не прорастут, пока не окажутся в воде. Наглядный пример приводит А.Т. Мокроносов: в пустыне Монголии во время засушливого сезона неожиданно выпал дождь, и на следующий день вся земля зазеленела. Эти наблюдения говорят о запрограммированной готовности меристематических клеток к растяжению при наличии достаточного количества воды. Такая готовность

определяется, согласно гипотезе В.Б. Иванова [1], закончившимся «временем жизни клетки в меристеме». Клетка способна начать растяжение по завершении строго определенного времени пребывания в меристеме, независимо от того, делилась она или нет.

Поступление воды является результатом разницы осмотического давления между клеткой или органом и окружающей средой (почвенным раствором). Инициации растяжения в осевых органах прорастающих семян предшествует накопление эндогенных осмотиков, главным образом сахаров и ионов [3]. При поступлении воды происходит разбавление клеточного сока, т.е. снижается его осмоляльность (концентрация осмотиков), поэтому накопление осмотиков в клетке должно продолжаться для поддержания потока воды внутрь клетки. Соотношение доминирующих внутриклеточных осмотиков может варьировать в клетках разных органов, оно зависит от количества и состава поступивших извне ионов, от продуктов метаболизма притекшей сахарозы и от темпа деградации запасных веществ. В клетках эпидермиса листа в вакуолях накапливаются неорганические ионы, а в клетках мезофилла они находятся примерно в равном соотношении с сахарами и аминокислотами [12]. В зоне растяжения корня сахара накапливаются при расщеплении сахарозы инвертазой; кроме того, к поглощаемым ионам добавляется некоторый приток их из зоны корневых волосков, где происходит основное поглощение минеральных элементов. Тем самым поддерживается необходимый уровень осмотически активных веществ в растягивающейся клетке.

Вакуоль является осмотическим компартментом клетки, в котором в период растяжения накапливаются осмотически активные вещества. В выросших вакуолях клеток часто накапливаются разнообразные вторичные соединения. Считается, что вакуоль по составу метаболитов гораздо менее «разборчива», чем цитоплазма, состав соединений которой соответствует метаболическим запросам [12]. Следует иметь в виду, что вакуоль — динамичная система; ионы и метаболиты не просто накапливаются в ней, а непрерывно взаимодействуют и обмениваются с соединениями цитоплазмы.

Вода поступает в клетку через две мембраны — плазмалемму на поверхности цитоплазмы и тонопласт на поверхности вакуоли. Обе мембраны имеют сложный белковый состав: в плазмалемме, выделенной из листьев и черешков *Arabidopsis thaliana*, обнаружено 238 белков [8], а в тонопласте, помимо аквапоринов, 163 белка [20]. Значительная часть этих белков идентифицирована. Обе мембраны резко отличаются по осмотической проницаемости для воды — в тонопласте она выше в 10—50 раз, чем в плазмалемме [6, 16, 21]. Следовательно, поступление воды в клетку лимитируется плазмалеммой, тогда как в вакуоль она проходит почти беспрепятственно. Поэтому избыток воды легко сбрасывается в вакуоль.

Теперь уже хорошо известно, что скорость диффузии молекул воды через липиды мембран недостаточна для того, чтобы обеспечить потребность клетки в воде [11, 16]. Скорость диффузии в 10—20 раз ниже, чем реально

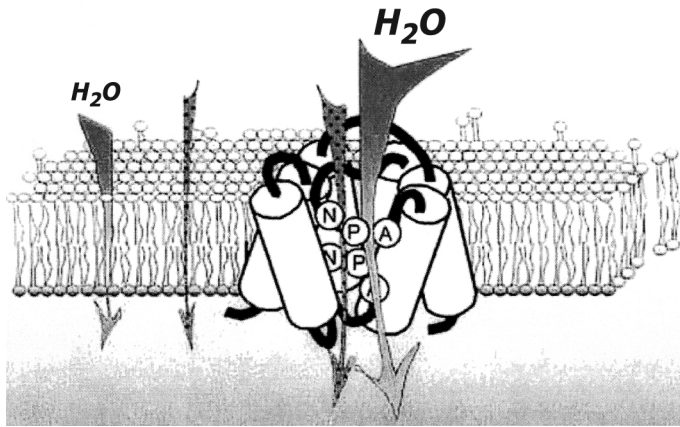


Рис. 1. Прохождение воды через мембрану растительной клетки (Maurel and Chripeels / Plant Physiol. — 2001. — 125. — P. 135—138.). Слева — диффузия воды через мембрану; справа — прохождение воды через водный канал в мембране, образованный мономером аквапорина

Fig. 1. Water transition through plant cell membrane (Maurel and Chripeels / Plant Physiol. — 2001. — 125. — P. 135—138.). Left — water diffusion through membrane, right — water transition through membrane water canal formed by aquaporine monomer

наблюдаемая скорость транспорта воды, что указывает на наличие в мембранах водных каналов (пор) [21] (рис. 1). Такие наблюдения привели к открытию аквапоринов — белков, формирующих водные каналы в мембранах [11, 16, 21]. Они составляют 5—10 % мембранных белков. Расчеты показывают, что, если разница наружной и внутренней концентраций составляет 100 мМ, каждый канал пропускает 106 молекул воды в секунду. Пропускная способность водных каналов может регулироваться метаболически: окисление сульфгидрильных групп цистеина в «узком» месте канала приводит к его замыканию, а фосфорилирование одного из серинов открывает его. Вода продвигается через мембрану пассивно, под действием перепада осмотического давления, как внутрь клетки, так и наружу.

В процессе роста клеток синтез аквапоринов регулируется на генном уровне. В растениях *Arabidopsis thaliana* идентифицировано 35 генов аквапоринов [18], у *Oryza sativa* — 33 [19], а у кукурузы *Zea mays* — 36 [10]. В сводке [12] приведено много примеров усиленной экспрессии генов аквапоринов в ряде растущих органов, причем высокий уровень транскрипции характерен для аквапоринов как плазмалеммы, так и тонопласта. Интенсивный синтез аквапоринов выявлен в зоне растяжения корней, а в меристеме он отсутствовал [13, 15]. Таким образом, количество аквапоринов увеличивается в плазмалемме и тонопласте растягивающихся клеток, что связано с усилением водного транспорта внутрь клетки, а также с увеличением площади поверхности тонопласта и плазмалеммы, вызванным увеличением объема вакуоли и протяженности пристенного слоя цитоплазмы. Судя по увеличению содержания белков количество цитоплазмы в ходе растяжения клетки примерно



Рис. 2. Кривая процесса набухания осевых органов в семенах кормовых бобов *Vicia faba minor*. I — набухание преимущественно за счет матричных сил; II — набухание преимущественно за счет осмотических сил; III — рост клеток осевых органов путем растяжения. Стрелки обозначают критическую влажность для начала процессов: 1 — распад запасного крахмала в пластидах; 2 — распад запасного белка в белковых телах; 3 — превращение белковых тел в вакуоль; 4 — увеличение площади вакуоли и деградация тонопластного аквапорина TP3, 1; 5 — накопление дополнительных осмотиков; 6 — инициация растяжения клеток; 7 — поступление воды через водные каналы мембран. I, II и III (до стрелки 7) — поступление воды через мембраны только за счет диффузии

Fig. 2. Imbibition of *Vicia faba minor* seeds axial organs curve. I — imbibition mainly due to matrix forces; II — imbibition mainly due to osmotic forces; III — axial organs cells growth by elongation. Arrows show critical moisture for processes beginning: 1 — store starch degradation in plastids; 2 — store protein degradation in protein bodies; 3 — protein bodies transformation into vacuole; 4 — vacuole area increasing and tonoplast aquaporine TP3 degradation, 5 — additional osmotics accumulation; 6 — initiation of cells elongation; 7 — water transition through membrane water canals. I, II and III (up to arrow 7) — water transition through membrane only due to diffusion

удваивается, а также возрастает оводненность цитоплазмы. Формирование центральной вакуоли меняет соотношение цитоплазма / вакуоль в пользу вакуоли, поскольку ее объем возрастает гораздо больше, чем объем цитоплазмы. Вместе с тем, поддерживая в клетке тургор, вакуоль обеспечивает соотношение поверхности и объема протоплазмы, способствующее интенсивному обмену веществами с окружающей средой и рецепции сигналов, поступающих к плазмалемме извне.

Рассмотрим в заключение, как связана инициация растяжения с поступлением воды в осевые органы прорастающих семян кормовых бобов *Vicia faba minor*, которые растут исключительно за счет растяжения (рис. 2.). Кривая набухания является трехфазной: быстрое набухание от 10—60 %, затем медленное возрастание влажности до 72—73 %, при которой происходит проклевание (инициация роста), и последующее повышение влажности в процессе роста. Первый этап — это так называемое физическое набухание за счет матричных сил, которое наблюдается даже у мертвых семян и определяется поступлением воды в семя как в капиллярно-пористое тело и последующей гидратацией всех гидрофильных групп биополимеров (белков, полимеров

клеточной стенки и крахмала). В этот период автоматически, в результате повышения оводненности, запускаются все процессы основного метаболизма [2, 17]. Однако 60 %-ной влажности недостаточно для прорастания; если воспрепятствовать дальнейшей гидратации, то инициации роста, то есть прорастания, не произойдет.

Второй этап связан с формированием физиологических механизмов, подготавливающих прорастание. Сначала накапливаются осмотики — сахара и ионы калия, что приводит к повышению осмотического давления и притоку воды. Постепенно увеличивается объем вакуоли за счет слияния белковых тел, подвергшихся протеолизу. Вакуолизация клетки предшествует инициации растяжения. Структура клеточных стенок разрыхляется в результате активации протонной H^+ -АТФазы и подкисления оболочки, приводящего к возрастанию ее растяжимости [2, 3, 6, 17]. Поступающая вода оказывает дополнительное давление на клеточные оболочки, которые начинают растягиваться, благодаря чему увеличивается объем клеток, то есть иницируется растяжение. На первом и втором этапах аквапорины плазмалеммы и тонопласта не участвуют в поступлении воды, она проникает в клетки за счет диффузии через эти мембраны; ко времени проклевывания деградирует аквапорин, характерный для тонопласта белковых тел [7].

На третьем этапе (после начала растяжения) вода продолжает поступать в клетку благодаря накоплению сахаров, теперь уже за счет притекающей из семядолей сахарозы и ее гидролиза инвертазой, а также поглощения ионов. Продолжается подкисление клеточных стенок, и рост растяжением происходит по типу кислого роста; параллельно — синтезируется целлюлоза и достраиваются оболочки, закрепляющие достигнутое увеличение размера клеток. Объем вакуоли продолжает возрастать, но в поступлении воды участвуют аквапорины плазмалеммы, количество которых увеличилось, и аквапорины тонопласта, представленные другими белками, характерными для растущих клеток [7].

Таким образом, пусковая роль воды в растяжении клеток заключается не только в гидратации всех биополимеров, создании среды для биохимических реакций и конформационных изменений всех ферментов и органелл клетки, что в совокупности обеспечивает активное протекание всех процессов метаболизма, но и в формировании вакуоли как осмотического компартамента и создании тургора, способствующего растяжению оболочки.

1. *Иванов В.Б.* Клеточные основы роста растений. — М.: Наука, 1974. — 223 с.
2. *Обручева Н.В., Антипова О.В.* Физиология инициации прорастания семян // Физиол. раст. — 1997. — **44**. — С. 287—302.
3. *Обручева Н.В., Антипова О.В.* Общность физиологических механизмов подготовки к прорастанию у семян с различным типом покоя // Физиол. раст. — 1999. — **46**. — С. 426—431.
4. *Обручева Н.В., Ковалев А.Г.* О физиологической интерпретации сигмоидных кривых роста растений // Физиол. раст. — 1979. — **26**, № 5. — С. 1029—1042.

5. Трофимова М.С., Жесткова И.М., Андреев И.М. и др. Осмотическая водная проницаемость вакуолярных и плазматических мембран, изолированных из корней кукурузы // Физиол. раст. — 2001. — **48**. — С. 341—348.
6. Шарова Е.И. Клеточная стенка растений. — С.-Пб.: Изд-во С.-Пб. ун-та, 2004. — 152 с.
7. Шиженева И.А., Новикова Г.В., Обручева Н.В. Аквапорины тонопласта и плазмалеммы из осевых органов семян бобов в процессе прорастания // Докл. акад. наук. — 2007. — **413**. — С. 1—4.
8. Alexandersson E., Saalbach G., Larsson C., Kjellbom P. Arabidopsis plasma membrane proteomics identifies components of transport, signal transduction and membrane trafficking // Plant Cell Physiol. — 2004. — **45**, № 11. — P. 1543—1556.
9. Cailloux M. Metabolism and the absorption of water by root hairs // Can. J. Bot. — 1972. — **50**. — P. 557—573.
10. Chaumont F., Barriue F., Wojcik E. et al. Aquaporins constitute a large and highly divergent protein family in maize // Plant Physiol. — 2001. — **125**. — P. 1206—1215.
11. Chrispeels M.J., Crawford N.M., Schroeder J.I. Proteins for transport of water and mineral nutrients across the membranes of plant cells // Plant Cell. — 1999. — **11**. — P. 661—675.
12. Fricke W., Chaumont F. Solute and water relations in growing plant cells // The expanding cell. — Berlin: Springer Verlag, 2006. — P. 7—31.
13. Hukin D., Doering-Saad C., Thomas C.R., Pritchard J. Sensitivity of cell hydraulic conductivity to mercury is coincident with symplasmic isolation and expression of plasmalemma aquaporin genes in growing maize roots // Planta. — 2002. — **215**. — P. 1047—1056.
14. Kende H., Van de Knaap E., Cho H.T. Deepwater rice: a model plant to study stem elongation // Plant Physiol. — 1998. — **118**. — P. 1105—1110.
15. Ludevid D., Hofte H., Himelblau E. et al. The expression pattern of the tonoplast intrinsic protein γ -TIP in Arabidopsis thaliana is correlated with cell enlargement // Plant Physiol. — 1992. — **100**. — P. 1633—1639.
16. Maurel C. Aquaporins and water permeability of plasma membranes // Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. — 1997. — **48**. — P. 399—429.
17. Obroucheva N.V. Seed germination: a guide to the early stages. — Leiden: Buckhuys Publishers, 1999. — 158 p.
18. Quigley F., Rosenberg J.M., Shachar-Hill Y., Bohnert H.J. From genome to function : the Arabidopsis aquaporins // Genome Biol. — 2001. — **3**. — P. 1—17.
19. Sakurai J., Ishikawa F., Yamaguchi T. et al. Identification of 33 rice aquaporin genes and analysis of their expression and function // Plant Cell Physiol. — 2005. — **46**. — P. 1568—1577.
20. Shimaoka T., Ohnishi M., Sazuka T. et al. Isolation of intact vacuoles and proteomic analysis of tonoplast from suspension-cultured cells of Arabidopsis thaliana // Plant Cell Physiol. — 2004. — **45**. — P. 672—683.
21. Tyerman S.D., Bohnert H.J., Maurel C. et al. Plant aquaporins : their molecular biology, biophysics and significance for plant water relations // J. Exp. Bot. — 1999. — **50**, spec. issue. — P. 1055—1071.
22. Voesenek L.A.C.J., Benshop J.J., Bou J. et al. Interactions between plant hormones regulate submergence-induced shoot elongation in the flooding-tolerant dicot Rumex palustris // Ann. Bot. — 2003. — **91**. — P. 205—211.

Рекомендует в печать
Л.И. Мусатенко

Поступила 16.02.2007

НАДХОДЖЕННЯ ВОДИ ЯК ФАКТОР РОЗТЯГУВАННЯ КЛІТИН

Розтягування клітин є невід’ємною складовою росту рослин, оскільки забезпечує швидке збільшення довжини і розміру всіх клітин, тобто швидке досягнення джерел води, мінеральних елементів і світла, що веде до зміни морфології рослин. У статті наведені численні приклади ролі розтягування клітин у рості та функціонуванні окремих органів. Компетентність клітин до розтягування закладається у період перебування клітини в меристемі, сам перехід клітини до розтягування відбувається швидко. Вода є пусковим механізмом розтягування: її надходження визначає підтримання активного метаболізму, формування вакуолі (осмотичного компонента) і створення тургорного тиску на розм’яклі клітинні оболонки, що сукупно і визначає хід розтягування клітин. Надходження води у клітину відбувається за рахунок осмотичних сил і лімітується її надходженням через плазмалему, осмотична проникність якої для води значно слабша, ніж у тонопласта. В цьому процесі беруть участь аквапорини — білки, які формують водні канали, вміст яких у клітинах, що розтягуються, збільшується. У результаті розтягування велика центральна вакуоля витісняє протоплазму до периферії клітини, що, в свою чергу, спричинює високий показник співвідношення поверхні протоплазми до її об’єму, сприяючи інтенсивному обміну клітини з навколишнім середовищем і рецепції сигналів, які надходять зовні. Розглянута пускова роль води в ініціації розтягування у процесі проростання насіння.

Ключові слова: *рост рослин, розтягування клітин, дифузія води, водні канали, аквапорини, плазмалема, вакуоль, тонопласт.*

N.V. Obroucheva

Institute of Plant Physiology, Russian Academy of Sciences, Moscow

WATER INFLOW AS A FACTOR OF CELL ELONGATION

Cell elongation is an unseparable component of plant growth because it provides rapid extension of all organs in length and size leading to successful plant contacts with the sources of light, water and mineral elements; in parallel, it modifies plant morphogenesis. The development of cell competence to elongation occurs during the cell life span in the meristem, and cell transition to elongation starts rapidly. In competent cells, water is a trigger of cell elongation. Water inflow maintains an active metabolism in elongating cells, results in vacuole, an osmotic compartment, enlargement and produces turgor pressure on loosened cell walls, that in concert provides cell elongation. Water entrance is driven by the osmotic forces and is limited by the osmotic permeability of the plasmalemma, but not of the tonoplast, in which the osmotic permeability for water is much higher. In elongating cells, water inflow through both membranes occurs not only by diffusion through the lipid bilayer, but through water channels made by aquaporins too. The content of aquaporins in elongating cells increases. As a result of cell elongation, the enlarged vacuole moves protoplasm aside to cell periphery that results in a much higher ratio of cell surface to protoplasm volume, and favors an active exchange of various compounds with external medium and reception of numerous signals. The trigger role of water in initiation of cell elongation in germinating seeds is considered.

Key words: *plant growth, cell elongation, water diffusion, water channels, aquaporins, plasmalemma, tonoplast, vacuole.*