

Вісник Дніпропетровського університету. Біологія. Екологія. – 2011. – Вип. 19, т. 2. – С. 103–108.
Visnyk of Dnipropetrovsk University. Biology. Ecology. – 2011. – Vol. 19, N 2. – P. 103–108.

УДК 581.1.03+631.531.173

М. П. Моцний, Н. П. Боцьва, О. В. Єліна, Є. А. Уланова

Дніпропетровський національний університет ім. Олесь Гончара

ВПЛИВ ФОТОСТИМУЛЯЦІЇ НА БІОЕЛЕКТРИЧНУ РЕАКЦІЮ ЛИСТЯ КУКУРУДЗИ

Охарактеризовано закономірності динаміки біопотенціалів листя паростків кукурудзи, що спричиняються фотостимулами білого, синього, зеленого та червоного кольорів освітленістю 90 лк. Виявлено якісно подібну динаміку біоелектричної реакції рослини на білий і кольорові стимули. Кількісно оцінено рівні гіперполяризації у кожній серії дослідів. Установлено залежність рівнів сумарної гіперполяризації від довжини хвилі фотостимулу. Із зменшенням довжини хвилі середня амплітуда потенціалу гіперполяризації зменшується з 57,7 для червоного до 27,7 мВ для синього світла. Проаналізовано можливі механізми виникнення біоелектричної реакції рослини на світлове подразнення.

М. П. Моцний, Н. П. Боцьва, Е. В. Еліна, Е. А. Уланова

Днепрпетровский национальный университет им. Олесь Гончара

ВЛИЯНИЕ ФОТОСТИМУЛЯЦИИ НА БИОЭЛЕКТРИЧЕСКУЮ РЕАКЦИЮ ЛИСТЬЕВ КУКУРУЗЫ

Охарактеризованы закономерности динамики биопотенциалов листьев проростков кукурузы, вызванных фотостимулами белого, синего, зеленого и красного цветов освещенностью 90 лк. Выявлена качественно схожая динамика биоэлектрической реакции растения на белый и цветные стимулы. Количественно оценены уровни гиперполяризации в каждой серии опытов. Установлена зависимость уровней суммарной гиперполяризации от длины волны фотостимула. При уменьшении длины волны средняя амплитуда потенциала гиперполяризации уменьшается от 57,7 для красного до 27,7 мВ для синего света. Проанализированы возможные механизмы возникновения биоэлектрической реакции растения на световой стимул.

M. P. Motsnij, N. P. Botsva, O. V. Elina, Y. A. Ulanova

Oles' Honchar Dnipropetrovsk National University

EFFECT OF PHOTOSTIMULATION ON MAIZE LEAVES' BIOELECTRICAL RESPONSE

Dynamics of the maize leaves' biopotentials evoked by white, blue, green and red light stimuli with an intensity of 90 Lx illumination is analyzed. Qualitative similarity in dynamics of plant's bioelectrical response to white and colored stimuli is determined. Hyperpolarization levels are quantitatively estimated for each experimental series. Dependence of the total hyperpolarization levels on the photostimulus wave length is detected. Mean amplitude of the hyperpolarization potentials lessens when the wave length decreases: from 57.7 mV under the red light to 27.7 mV under the blue one. Probable forms of bioelectrical response initiation in photostimulated plants are analyzed.

Вступ

Останнім часом електрична активність вищих рослин все частіше стає об'єктом дослідження. Достатньо повно описані електрогенез, види електричної активності та ти-

пи розповсюдження сигналів, розглянуто різні види стимуляції, які викликають електрогенез [3; 4; 8; 10; 12]. Виявлено основні відмінності електрогенезу рослинних і тваринних клітин [6; 7; 11]. Відомо, що значний внесок в електричний потенціал мембрани рослинної клітини робить активний транспорт іонів, пов'язаний із перетворенням енергії [5; 9].

Адекватний подразник для фотосинтезувальних зелених рослин – зміна інтенсивності світла. Однак потенціали дії при світловому подразненні виникають не завжди, тому деякі автори вважають, що біоелектричні реакції вищих рослин при світловому збудженні принципово відрізняються від потенціалів дії [14]. За механізмом, який пропонується, такі потенціали більш близькі до хімічного способу збудження.

Термін «фотоіндуковані потенціали дії» деякі автори використовують стосовно звичайних потенціалів дії вищих рослин [5–7]. Фотоелектричні відповіді у цих рослинах розповсюджуються у базилярному напрямку від листка до кореня та спричинюються білим світлом або світлом певних довжин хвиль, значення яких збігаються з довжинами хвиль фотосинтезу. Тому за виникнення таких відповідей, скоріш за все, відповідає хлорофіл. Висловлюється припущення про особливий механізм генерації фотоіндукованих потенціалів дії, пов'язаний зі світловою активацією АТФ-фази хромопластів [13; 14]. Ці відповіді пригнічуються діуроном і не підкоряються правилу «все або нічого». Тому вважають, що фотоіндуковані потенціали дії – не справжні потенціали дії в загальноприйнятому розумінні.

Однак до теперішнього часу роль фотостимуляції в електрогенезі рослин і зв'язок електрогенезу із процесом фотосинтезу досліджені недостатньо. Тому мета даної роботи – оцінити динаміку сумарних потенціалів, що виникають під час фотостимуляції листка кукурудзи світлом різної довжини хвилі.

Матеріал і методи досліджень

Досліджували листки кукурудзи сорту «Кадр». Насіння кукурудзи висаджували в горщики з ґрунтом і пророщували у вологому середовищі. Через 20 діб після появи сходів паростки використовували в експериментах. Дослідження проводили *in vivo*.

Горщик із ґрунтом і рослиною розташовували в темній екранованій камері та витримували у темряві 30 хвилин для адаптації. Потім на листок рослини спрямовували випромінювання стимулятора, спеціально сконструйованого на основі світлодіодів чотирьох кольорів: білого, синього ($\lambda = 470$ нм), зеленого ($\lambda = 540$ нм), червоного ($\lambda = 690$ нм). Для запобігання термічному нагріванню листка використовували інфрачервоні фільтри. Освітленість, створену діодами, регулювали силою струму в них, реєстрували каліброваним люксометром і для всіх діодів підтримували на рівні 90 лк. За допомогою реле часу встановлювали тривалість фотостимуляції – 600 с.

Відвідні електроди, що не поляризуються, розміщували на листку: активний – безпосередньо на ділянці світлової плями від фотостимулятора, пасивний – на індіферентній частині листка. Сигнал з електродів подавали на підсилювач постійного струму з регульованим коефіцієнтом підсилення (1–10) та регульованим постійним рівнем, а потім на самописець «Endim». Калібрування вимірюваного сигналу здійснювали за допомогою спеціального калібрувального генератора.

Результати та їх обговорення

Під час експериментів фотостимулятор за допомогою реле часу вмикали у момент часу t_0 . Під дією білого світла з освітленістю 90 лк у листі виникали складні електричні потенціали (рис. 1а). У початковій фазі цього потенціалу спостерігали коротколатентну двофазну деполаризацію з амплітудою 5–8 мВ. Її змінювала повільно

наростаюча фаза гіперполяризації, яка сягала максимальної величини на 150-й секунді від початку стимуляції. Потім рівень гіперполяризації практично стабілізувався на значенні 55–60 мВ. У момент вимкнення фотостимулятора (t_1) спостерігали різкий стрибок потенціалу амплітудою 10–12 мВ у бік гіперполяризації. Далі потенціал відновлювався на рівні, який в експериментах нерідко перебільшував нульовий рівень на 4–5 мВ. Період відновлення складав приблизно 250–300 с.

У наступній групі дослідів фотостимуляцію проводили світлом із різними довжинами хвиль при такій самій фіксованій освітленості 90 лк (рис. 1б, в, г). У цілому динаміка потенціалів не відрізнялась від динаміки відповідей на стимуляцію білим світлом, але простежували чітку тенденцію до зменшення амплітуди потенціалів зі зменшенням довжини хвилі стимулювального світла.

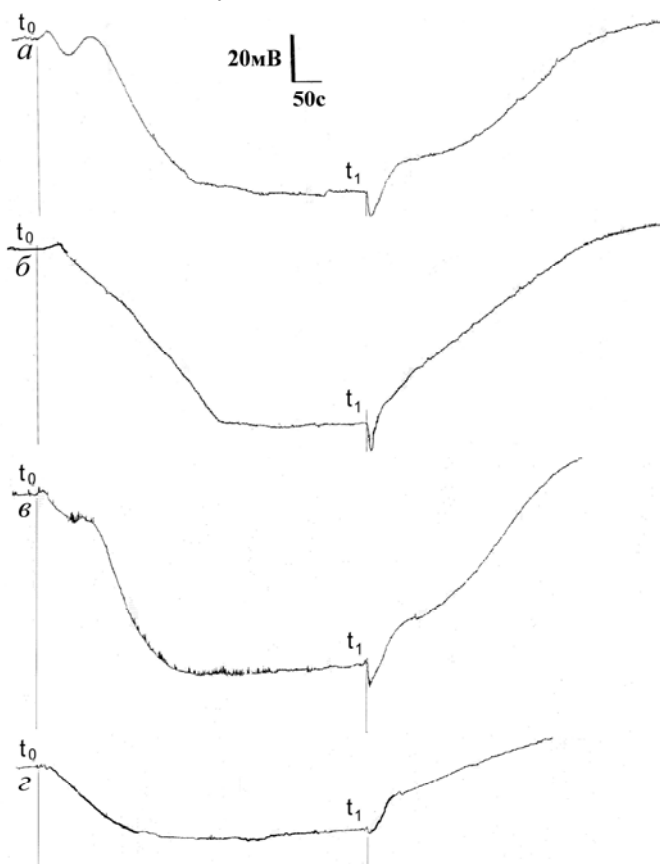


Рис. 1. Біопотенціали листка кукурудзи під час фотостимуляції з освітленістю 90 лк:
a – біле світло, *б* – 690 нм, *в* – 540 нм, *г* – 470 нм

За усередненими результатами експериментів проаналізували залежність амплітуди фотопотенціалу від довжини хвилі (рис. 2). Зі зменшенням довжини хвилі середня амплітуда потенціалу гіперполяризації зменшилась з 57,7 мВ для червоного світла (690 нм) до 27,7 мВ для синього (470 нм).

Отримані результати дають підстави стверджувати, що наявність біоелектричної реакції на світлове подразнення напевно пов'язана з процесами фотосинтезу у клітинах листка. Показано [2], що при освітленні зелених клітин зростає метаболічна складова їх мембранного потенціалу, яку у нашому випадку реєстрували як гіперполяризацію

освітленої частини листка, що контактувала з активним електродом. Ця складова пов'язана з діяльністю електрогенного H^+ насоса [4].

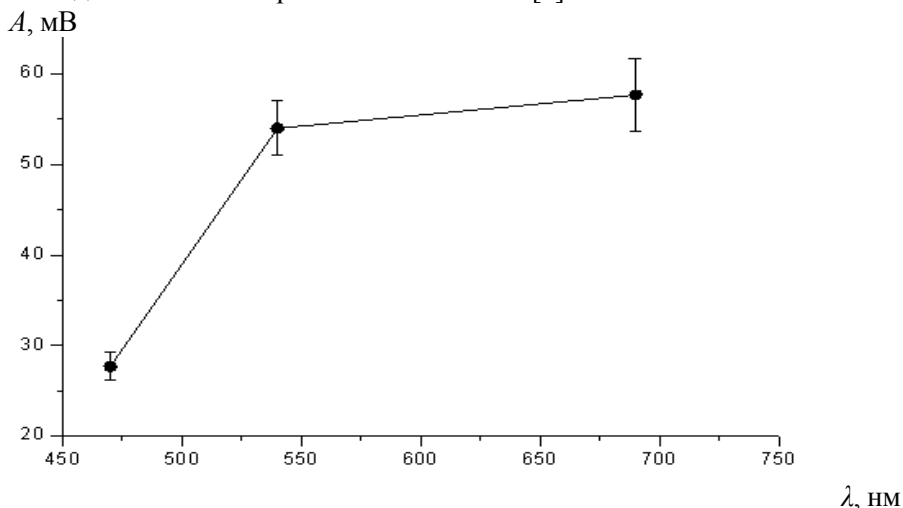


Рис. 2. Залежність амплітуди біопотенціалу (A) від довжини хвилі (λ) світла фотостимулятора

Деполаризація клітин, що викликається імпульсом світла, може бути пов'язана з сумарним потоком H^+ з міжклітинного середовища всередину клітин. Виникнення потоку H^+ усередині клітини після короткого освітлення може бути зумовлене низкою чинників: зростанням швидкості пасивного надходження H^+ до цитоплазми, уповільненням активного транспорту з цитоплазми до міжклітинного середовища або споживанням CO_2 з мікрошару середовища у темнових реакціях фотосинтезу. Разом із цим, одержані результати не виключають можливості того, що поглинання світла хлоропластами викликає активацію локалізованих у плазмолемі іонних каналів, проникних для протонів і, як наслідок, зміну pH поверхні клітини [1; 5; 15].

Розглянута деполаризація може бути також сумарним потенціалом дії, що викликається локальним освітленням ділянки листка під активним електродом. Для з'ясування цього питання під час реєстрації потенціалів збільшили коефіцієнт підсилення амплітуди та швидкість каретки самописця (рис. 3). При фотостимуляції листка зеленим і синім світлом під активним електродом реєстрували потенціали деполаризаційного типу амплітудою 8–10 мВ і тривалістю близько 160 с, по закінченні яких спостерігалась фаза гіперполяризації.

Фотоіндукована складова потенціалу в зелених листках вищих рослин уже через декілька хвилин після дії освітлення суттєво зростає і може сягати більше половини сумарного мембранного потенціалу [4]. Таким чином, фотостимульований потенціал зелених клітин вищих рослин може відігравати важливу роль у формуванні загальної метаболічної компоненти в цілому. Це припущення підтверджується результатами інгібіторного аналізу. Такі агенти як діурон і тентоксин блокують різні фази фотостимулу, що зумовлює зменшення сумарного мембранного потенціалу до темнового рівня. Джерелом енергії для генерації фотоіндукованого потенціалу можуть бути як АТФ, так і відновлені піридиннуклеотиди [5].

Послідовність подій, що відбуваються у плазматичній мембрані рослинних клітин при їх стимуляції світловими імпульсами, можна показати таким чином. Первинна активація H^+ -АТФази спричинює зниження мембранного потенціалу до порогового рівня, потім відкриваються потенціалзалежні Ca^{++} -канали, вхід іонів кальцію у клітину

активує Cl^- -канали, за участі яких генерується фаза деполяризації світлоіндукованої біоелектричної реакції. У генерації фази реполяризації беруть участь іони K^+ .

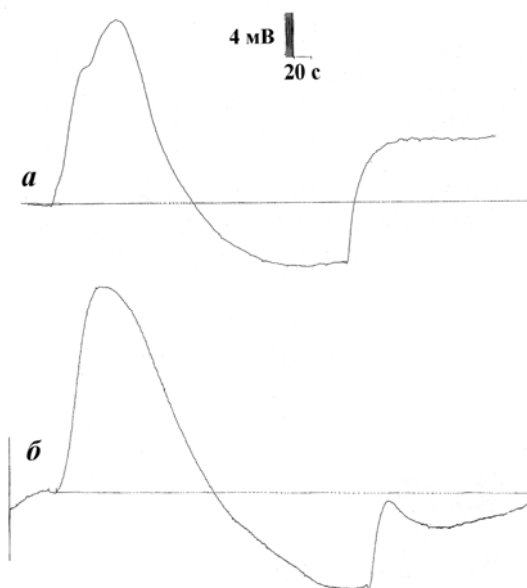


Рис. 3. Біопотенціали листка кукурудзи під активним електродом при локальному освітленні інтенсивністю 90 лк: а – 540 нм, б – 470 нм

Коротколатентну деполяризацію, амплітуда якої сягала десятків мілівольт, можна пояснити на основі моделі, що зв'язує потенціал плазмолеми з фотосинтезом [5; 6]. Необхідно відзначити, що цей потенціал не був стабільним і мав максимальну амплітуду при першій реєстрації. При повторних реєстраціях його амплітуда різко зменшувалась, що також підтверджує цю гіпотезу.

Фаза короткої (10–15 с) гіперполяризації, яка завжди виникала після вимкнення стимулу, ймовірно, пов'язана з перехідними процесами при зміні освітлення. Ці процеси, у свою чергу, залежать від зміни pH цитоплазми [1; 15].

Отримані результати добре узгоджуються з відомими даними [14], відповідно до яких максимальне поглинання світла у процесі фотосинтезу припадає на діапазон 540–690 нм (червоне та зелене світло).

Висновки

Фотостимуляція листка паростка кукурудзи білим світлом освітленістю 90 лк спричинює появу складного біопотенціалу з початковою коротколатентною фазою деполяризації та гіперполяризацією, яка стабілізується у кінцевій фазі потенціалу та повільно наростає протягом 150–200 с. Вимкнення фотостимулу зумовлює різкий стрибок фотоіндукованого потенціалу у бік ще більшої гіперполяризації з його подальшим відновленням практично на початковому рівні. У разі стимуляції листя червоним, зеленим і синім світлом освітленістю 90 лк динаміка потенціалу в цілому не відрізняється від динаміки відповіді на стимуляцію білим світлом. За результатами аналізу залежності амплітуди потенціалу від довжини хвилі фотостимулу встановлено зменшення середньої амплітуди потенціалу гіперполяризації з 57,7 для червоного до 27,7 мВ для синього світла.

Бібліографічні посилання

1. **Воденеев В. А.** Обратимое изменение внеклеточного *pH* при генерации потенциала действия у высшего растения *Cucurbita pepo* / В. А. Воденеев, В. А. Опритов, С. С. Пятыйгин // Физиол. раст. – 2006. – Т. 53. – С. 538–545.
2. **Исследование** биоэлектрических реакций листьев кукурузы при фотостимуляции / М. П. Мощный, Н. П. Боцьва, Е. В. Елина, Л. Я. Садовская // Новости передовой науки. Матер. междунар. научн.-практ. конф. – Д., 2011. – С. 23–26.
3. **Мощный М. П.** Исследование биоэлектрической реакции растений, вызванной ритмической стимуляцией / М. П. Мощный, Е. В. Елина, С. В. Власова // Наука і освіта. Матер. VII Міжнар. наук.-практ. конф. – Д., 2004. – С. 37–38.
4. **Опритов В. А.** Биоэлектрогенез у высших растений / В. А. Опритов, С. С. Пятыйгин, В. Г. Ретивин. – М. : Наука, 1991. – 216 с.
5. **Пятыйгин С. С.** Сопряжение генерации потенциала действия в клетках растений с метаболизмом: современное состояние проблемы / С. С. Пятыйгин, В. А. Воденеев, В. А. Опритов // Успехи соврем. биол. – 2005. – Т. 125. – С. 534–542.
6. **Пятыйгин С. С.** Деполяризация плазматической мембраны как универсальная первичная биоэлектрическая реакция растительных клеток на действие различных факторов / С. С. Пятыйгин, В. А. Воденеев, В. А. Опритов // Успехи соврем. биол. – 2006. – Т. 126. – С. 493–502.
7. **Пятыйгин С. С.** Сигнальная роль потенциала действия у высших растений / С. С. Пятыйгин, В. А. Опритов, В. А. Воденеев // Физиол. раст. – 2008. – Т. 55. – С. 312–319.
8. **Смит К. Ю. М.** Биология сенсорных систем. – М. : Бином, 2005. – 583 с.
9. **Тарчевский И. А.** Метаболизм растений при стрессе. – Казань : Наука, 2001. – 448 с.
10. **Тарчевский И. А.** Сигнальные системы клеток растений. – М. : Наука, 2002. – 294 с.
11. **Davies E.** New functions for electrical signals in plants // New Phytol. – 2004. – Vol. 161. – P. 607–610.
12. **Mironova E. A.** Effect of low-intensity infrared and millimeter radiation of higher plants' biopotentials / E. A. Mironova, Y. M. Romanovskii // Crit. Rev. Biomed. Eng. – 2001. – Vol. 29. – P. 430–439.
13. **Shade-induced** action potentials in *Helianthus annuus* L. originate primarily from the epicotyl / R. Stahlberg, N. R. Stephens, R. E. Cieland, E. Van Volkenburgh // Plant Signal. Behav. – 2006. – Vol. 1. – P. 15–22.
14. **Trebacz K.** Action potentials evoked by light in traps of *Dionaea muscipula* / K. Trebacz, A. Sievers // Ellis. Plant Cell Physiol. – 1998. – Vol. 39. – P. 369–372.
15. **Vodeneev V. A.** Reversible change of extracellular *pH* at the generation of mechano-induced electrical reaction in a stem of *Cucurbita pepo* / V. A. Vodeneev, S. S. Pyatygin, V. A. Opritov // Plant Sign. Behavior. – 2007. – P. 267–268.

Надійшла до редколегії 30.06.2011