

УДК 581.1.03+631.531.173

М. П. Моцний, Н. П. Боцьва, С. В. Власова, О. В. Єліна, І. П. Матвій

Дніпропетровський національний університет ім. Олесь Гончара

ВПЛИВ ТЕРМІЧНОЇ СТИМУЛЯЦІЇ НА БІОПОТЕНЦІАЛИ ЛИСТЯ КУКУРУДЗИ

Охарактеризовано закономірності динаміки біопотенціалів листя проростків кукурудзи, які спричиняються тепловими та холодними подразненнями при двох частотах ритмічної стимуляції 0,05 і 0,10 Гц. Виявлено залежність амплітуди потенціалу від швидкості зміни температури у разі теплової стимуляції та інтервалу часу між першим і наступним стимулами для обох видів стимуляції. У разі теплової стимуляції рівень послідовних потенціалів із часом зростає, а у разі холодової стимуляції – зменшується. Виявлено якісно різну динаміку виходу потенціалу на рівень стабілізації для двох частот стимуляції та проаналізовано можливі причини такої різниці. Кількісно оцінено рівні стабілізації потенціалу у кожній серії дослідів.

М. П. Моцний, Н. П. Боцьва, С. В. Власова, Е. В. Еліна, І. П. Матвій

Днепрпетровский национальный университет им. Олесь Гончара

ВЛИЯНИЕ ТЕРМИЧЕСКОЙ СТИМУЛЯЦИИ НА БИОПОТЕНЦИАЛЫ ЛИСТЬЕВ КУКУРУЗЫ

Охарактеризованы закономерности динамики биопотенциалов листьев проростков кукурузы, вызванных тепловыми и холодными раздражениями при двух частотах ритмической стимуляции 0,05 и 0,10 Гц. Выявлена зависимость амплитуды потенциала от скорости изменения температуры в случае тепловой стимуляции и от интервала времени между первым и последующими стимулами для обоих видов стимуляции. В случае тепловой стимуляции уровень последовательных потенциалов со временем возрастает, а в случае холодовой стимуляции – уменьшается. Выявлена качественно различная динамика выхода потенциала на уровень стабилизации для двух частот стимуляции и проанализированы возможные причины этих различий. Количественно оценены уровни стабилизации потенциала в каждой серии экспериментов.

М. Р. Мотснуй, Н. Р. Ботсва, С. В. Власова, О. В. Елина, І. Р. Матвій

Oles' Gonchar Dnipropetrovsk National University

EFFECT OF TERMOSTIMULATION ON MAIZE LEAVES' BIOPOTENTIALS

Dynamics of maize leaves' biopotentials evoked by cold- and heat stimuli with two frequencies 0.05 and 0.1 Hz is analyzed. Potential amplitude dependence of heating rate and time interval between first and following stimuli during both heating and cooling was discovered. It is ascertained that following potentials' amplitude increases in time during heat stimulation and decreases in time during cold stimulation. Qualitative difference in the reaching of potential stabilization is established for both stimulation frequencies; and probable reasons of the difference are analyzed. Potential stabilization levels are fixed for each series of experiment.

Вступ

Останнім часом для оцінки функціонального стану рослин широко застосовують біофізичні методи, один з яких – метод аналізу біоелектричної активності рослин [5; 7; 9; 10]. Він дозволяє оперативнo та відносно просто дослідити основні життєво важливі функції рослини. Основа методу – аналіз біоелектричних потенціалів у тканинах вищих рослин, спричинених різними факторами-подразниками (зміною температури, освітленості, електричним струмом тощо) [1; 2; 11–14]. Зовнішня стимуляція викликає електричні відповіді, функціонально пов'язані з рівнем процесів метаболізму у тканинах рослин [6; 8]. Вказаним методом визначається вміст гербцидів та інших хімічних речовин у рослинах [3; 4]. Для цього порівнюють параметри біопотенціалів (амплітуду, тривалість, час досягнення максимуму тощо) до і після обробки рослин хімічними препаратами.

Найбільшого поширення набули методи, пов'язані з термостимуляцією, оскільки термостимули адекватніші та менш травматичні для рослин [1; 2]. На практиці частіше застосовують методики, пов'язані зі зниженням температури, оскільки вони дозволяють використовувати значно більші перепади температур. Методи теплової стимуляції, а також процеси, які відбуваються у рослинах під час такої стимуляції, вивчені недостатньо, тому мета даної роботи – аналіз динаміки біопотенціалів рослин, що викликані як холодovими, так і тепловими подразненнями, залежно від інтервалу часу між першим та наступним стимулами під час ритмічної стимуляції.

Матеріал і методи досліджень

Досліди проводились на паростках кукурудзи сорту «Кадр» *in vivo*. Відібране здорове, без зовнішніх пошкоджень насіння висівали у торфоперегнійні горщики, заповнені землею, та пророщували протягом трьох тижнів.

Для зменшення впливу зовнішніх електромагнітних завад горщик із добре сформованими паростками встановлювали в екрановану камеру. Листок рослини розташовували між контактами спеціально виготовленого термостимулятора, робота якого основана на ефекті Пельтьє. Температура на контактах термостимулятора могла змінюватися в інтервалі ($t_k - -10\text{ }^\circ\text{C}$; $t_k + 10\text{ }^\circ\text{C}$), де t_k – температура у камері. Кінцеву температуру та швидкість зміни температури під час стимуляції регулювали та контролювали за допомогою термopарі, яку попередньо калібрували.

На листок накладали приєднані до входу підсилювача електроди, що не поляризувалися. Після підсилення сигнал подавали на самописний прилад «Endim». Калібрування тракту підсилення здійснювали сигналом синусоїдальної форми частотою 1 Гц амплітудою 20 мВ.

Результати та їх обговорення

У першій серії дослідів теплові та холодovі стимули наносили на листок кукурудзи з частотою 0,05 Гц і відводили сумарні біопотенціали (рис. 1). Під час холодovої стимуляції (різниця температур $5\text{ }^\circ\text{C}$, швидкість зміни температури $1\text{ }^\circ\text{C}/\text{c}$) реєстрували біопотенціал тривалістю понад 40 с та амплітудою порядку 60 мВ (рис. 1А). У разі повторної стимуляції з інтервалом 20 с амплітуда потенціалу зменшувалась до 15 мВ, а потім стабілізувалась на рівні близько 20 мВ. Слід відзначити помітне пригнічення у цьому випадку другої довголатентної фази потенціалу. Отримані результати типові для даної методики стимуляції [1; 2].

На теплові стимули рослини реагували зовсім по-іншому. Під час теплової стимуляції з різницею температур $5\text{ }^\circ\text{C}$ та швидкістю зміни температури $1\text{ }^\circ\text{C}/\text{c}$ потенціали

були практично відсутні, тому інтенсивність стимуляції збільшили. У разі різниці температур 10 °С та швидкості зміни температури 2 °С/с реєстрували потенціал тривалістю 10 с та амплітудою порядку 4 мВ (рис. 1Б). При повторній тепловій стимуляції з інтервалом 20 с спостерігалось повільне збільшення амплітуди потенціалу до 5 мВ.

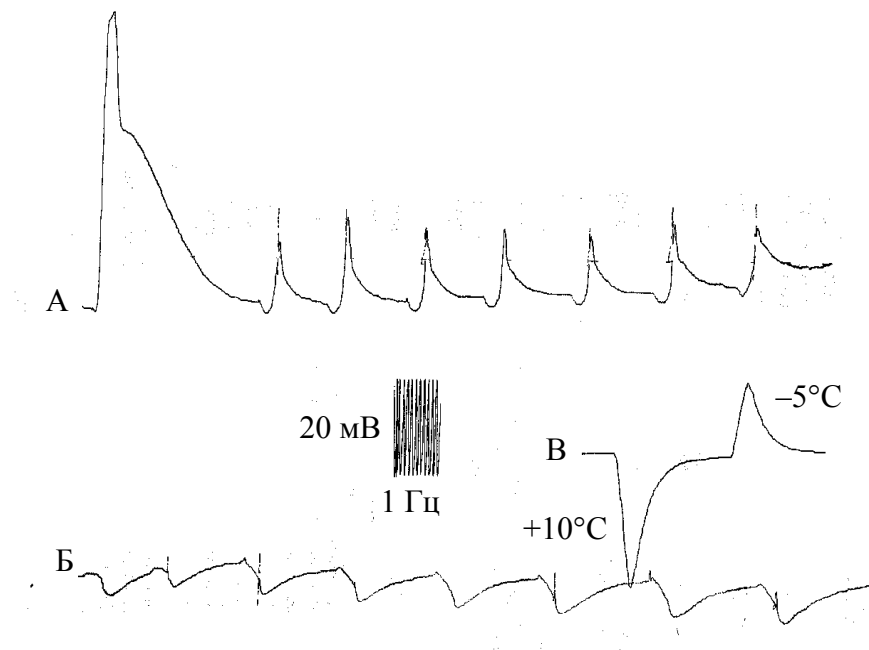


Рис. 1. Біопотенціали листка кукурудзи під час ритмічної стимуляції з частотою 0,05 Гц:

A – холодова стимуляція зі швидкістю зміни температури 1 °С/с, *Б* – теплова стимуляція зі швидкістю зміни температури 2 °С/с, *В* – динаміка температурних стимулів

За усередненими даними першої серії дослідів проаналізували залежність амплітуди біопотенціалу від інтервалу часу між першим та наступними стимулами (рис. 2). Під час ритмічної холодової стимуляції амплітуда відповіді мала мінімальне значення через 20 с після першого стимулу, далі вона стабілізувалась на рівні 26 % від значення амплітуди першої відповіді (рис. 2, крива 2). Під час ритмічної теплової стимуляції амплітуда відповіді зростала та досягала максимального значення через 40 с після першого стимулу, а потім стабілізувалась на рівні 140 % від значення амплітуди першої відповіді (рис. 2, крива 1).

У другій серії дослідів холодову та теплову стимуляцію здійснювали з частотою 0,1 Гц. За такої частоти стимуляції інтервал між стимулами менший, ніж тривалість відповіді, тому відповіді накладались одна на іншу (рис. 3). Під час холодової стимуляції амплітуди всіх відповідей, починаючи з другої, були значно меншими за першу амплітуду (рис. 3А), а під час теплової стимуляції, навпаки, – помітно більшими (рис. 3Б).

За узагальненими результатами другої серії дослідів (рис. 4) бачимо, що під час ритмічної холодової стимуляції з частотою 0,1 Гц амплітуда потенціалу різко пригнічувалась через 10 с після першої відповіді, дещо поновлювалась через 20–30 с, а потім монотонно зменшувалась (рис. 4, крива 2). У цілому зафіксована динаміка потенціалів характерна для обраних частот холодової стимуляції. У процесі ритмічної теплової стимуляції кожний наступний потенціал мав більшу амплітуду, ніж перший, і через 70 с спостерігався на рівні 190 % початкового значення (рис. 4, крива 1).

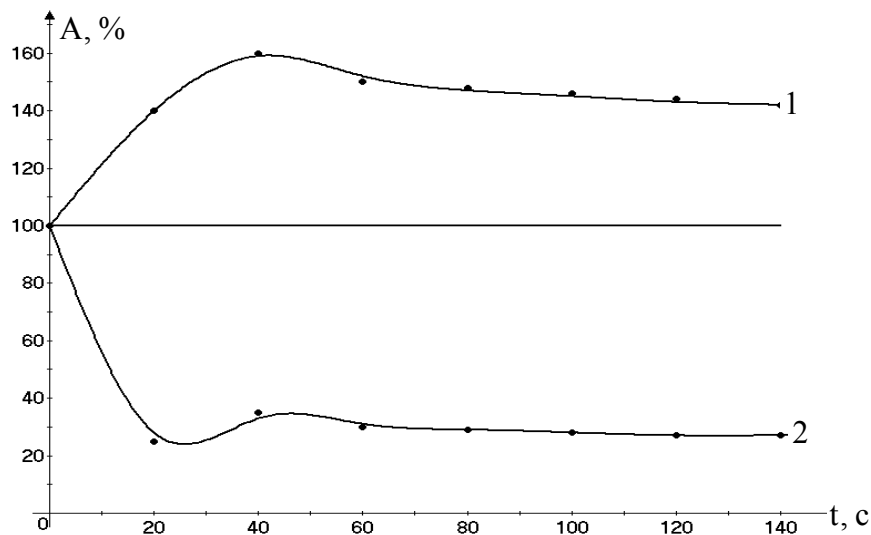


Рис. 2. Залежність амплітуди біопотенціалу листка кукурудзи від інтервалу часу між першим та наступними стимулами під час ритмічної стимуляції з частотою 0,05 Гц: 1 – теплова стимуляція зі швидкістю зміни температури 2 °C/c, 2 – холодова стимуляція зі швидкістю зміни температури 1 °C/c; вісь абсцис – інтервал часу між першим і наступним стимулами, с; вісь ординат – амплітуда потенціалу порівняно з амплітудою першої відповіді, %

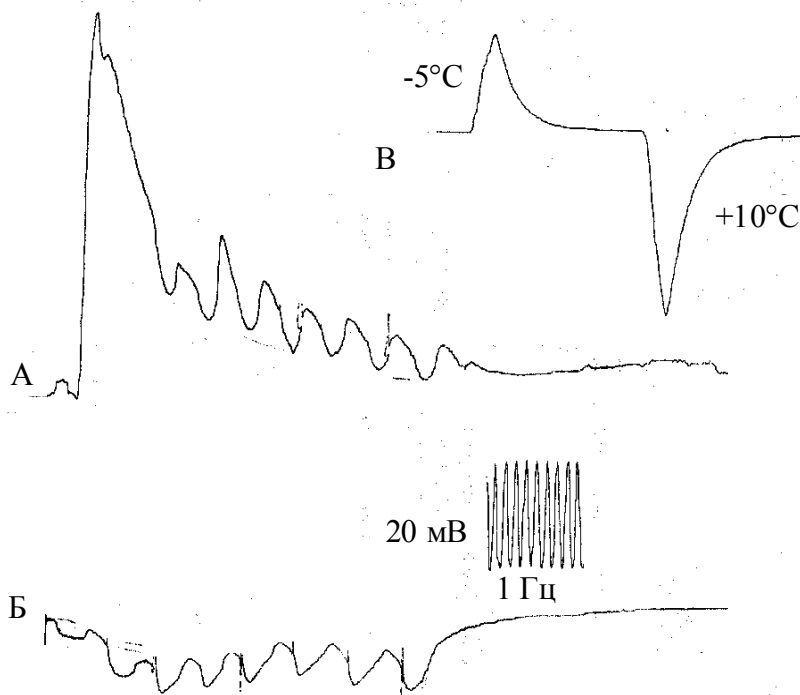


Рис. 3. Біопотенціали листка кукурудзи під час ритмічної стимуляції з частотою 0,1 Гц: А – холодова стимуляція зі швидкістю зміни температури 1 °C/c, Б – теплова стимуляція зі швидкістю зміни температури 2 °C/c, В – динаміка температурних стимулів

Аналіз отриманих результатів, зокрема знака біопотенціалів, дає підстави стверджувати, що теплове подразнення листя кукурудзи приводить до гіперполяризаційних змін мембранного потенціалу, що, скоріше за все, пов'язано з активацією дії протонно-

го насоса, який забезпечує перенесення іонів водню крізь мембрани клітин, що містяться під відвідним електродом [6; 8].

Важливо відзначити, що потенціали, спричинені тепловим подразненням, мають більш високий «поріг» збудження порівняно з «холодовими» потенціалами та не пригнічуються у процесі частотної стимуляції.

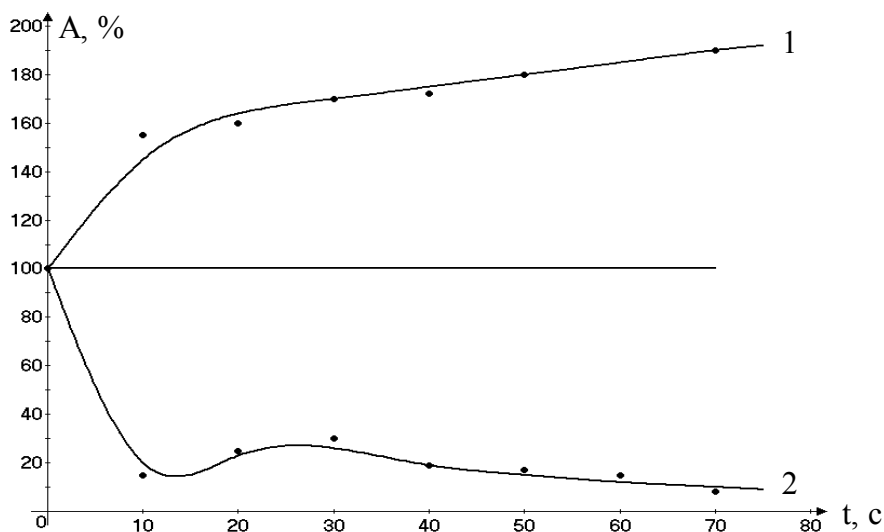


Рис. 4. Залежність амплітуди біопотенціалу листка кукурудзи від інтервалу часу між першим та наступними стимулами під час ритмічної стимуляції з частотою 0,1 Гц: позначення див. рис. 2.

Біопотенціали, спричинені холодним стимулом, – потенціали деполяризаційного типу, які є результатом сумарної деполяризації клітинних мембран під відвідним електродом. Зменшення та наступна стабілізація рівня амплітуди під час ритмічної стимуляції, імовірно, пов'язані зі значним (понад 20 с) часом поновлення мембранного потенціалу після генерації попередньої відповіді.

Висновки

Холодова стимуляція листа паростка кукурудзи спричиняє появу біопотенціалу деполяризаційного типу, тоді як теплове подразнення приводить до гіперполяризаційних змін потенціалу. У разі теплової стимуляції амплітуда відповіді суттєво залежить від швидкості зміни температури.

За результатами аналізу біопотенціалів під час ритмічної теплової та холодової стимуляції встановлені відміни у динаміці амплітуди залежно від виду та частоти нанесення подразнення.

У разі теплової стимуляції рівень послідовних потенціалів із часом зростає та стабілізується на рівні 140 та 190 % значення амплітуди першої відповіді при частотах стимуляції 0,05 та 0,10 Гц відповідно.

У разі холодової стимуляції рівень послідовних потенціалів із часом зменшується, стабілізується на рівні 26 % і менше від значення амплітуди першої відповіді.

Бібліографічні посилання

1. **Анализ** возможности участия местных биоэлектрических реакций в рецепции охлаждения высшими растениями (на примере *Cucurbita pepo* L.) / В. А. Опритов, С. А. Лобов, С. С. Пятыйгин, С. А. Мытьягин // Физиол. раст. – 2005. – Т. 52. – С. 905–912.

2. **Исследование** биопотенциалов растений, вызванных холодowymi стимулами / М. П. Моцный, С. В. Власова, Е. В. Елина, Л. Я. Садовская // *Materialy IV Mezinarodni vedecko-prakticka konference «Zpravu vedecke ideje – 2008»*. – Praha, 2008. – Dil. 10. – P. 87–89.
3. **Моцный М. П.** Исследование влияния биоктрила на биоэлектрическую активность проростков кукурузы / М. П. Моцный, Е. В. Елина, С. В. Власова // *Матер. Міжнар. науково-практ. конф. «Україна наукова '2003»*. – Т. 13. – Д. : Наука і освіта, 2003. – С. 14.
4. **Моцный М. П.** Об изменении биоэлектрической реакции растений, вызванной гербицидами / М. П. Моцный, В. Т. Белан // *Матер. Міжнар. науково-практ. конф. «Україна наукова '2003»*. – Т. 14. – Д. : Наука і освіта, 2003. – С. 27–28.
5. **Опритов В. А.** Биоэлектrogenез у высших растений / В. А. Опритов, С. С. Пятыйгин, В. Г. Ретивин. – М. : Наука, 1991. – 216 с.
6. **Пятыйгин С. С.** Сопряжение генерации потенциала действия в клетках растений с метаболизмом: современное состояние проблемы / С. С. Пятыйгин, В. А. Воденев, В. А. Опритов // *Успехи соврем. биол.* – 2005. – Т. 125. – С. 534–542.
7. **Смит К. Ю. М.** Биология сенсорных систем. – М. : Бином, 2005. – 583 с.
8. **Тарчевский И. А.** Метаболизм растений при стрессе. – Казань : Наука, 2001. – 448 с.
9. **Тарчевский И. А.** Сигнальные системы клеток растений. – М. : Наука, 2002. – 294 с.
10. **Davies E.** New functions for electrical signals in plants // *New Phytol.* – 2004. – Vol. 161. – P. 607–610.
11. **Effects** of ion channel inhibitors on cold- and electrically-induced action potentials in *Dionaea muscipula* / E. Krol, H. Dziubinska, M. Stolarz, K. Trebacz // *Biol. Plant.* – 2006. – Vol. 50. – P. 411–416.
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. **Variation** and action potentials evoked by thermal stimuli accompany enhancement of ethylene emission in distant non-stimulated leaves of *Vicia faba* minor seedlings / H. Dziubinska, M. Filek, J. Koscielniak, R. Trebaez // *J. Plant Physiol.* – 2003. – Vol. 160. – P. 1203–1210.

Надійшла до редколегії 12.07.2010