Механизмы генерации электрических сигналов в растениях пшеницы при действии раздражителей различной природы

Шишкина Анна Михайловна

10 класс, МБОУ Школа № 24 Нижнего Новгорода, Научное объединение «Школа юного исследователя» АНО ДО «Академ клуб», ИПФ РАН

Научный руководитель Мудрилов М.А. младший научный сотрудник ННГУ им. Н.И. Лобачевского

Изучены механизмы генерации и распространения электрических сигналов в высших растениях при действии ожога и нагрева. С помощью общетеоретического анализа, макроэлектродной техники и ингибиторов выявлены различия в параметрах вариабельного потенциала при этих видах стимулов. Показано, что при ингибировании ортованадатом натрия, хлоридом лантана и хлоридом гадолиния реакция достоверно уменьшается и при нагреве, и при ожоге, причем для ортованадата и гадолиния реакция сильнее подавлялась при ожоге. В случае воздействия на растения такими ингибиторами как А-9-C, DPI и SHAM результаты противоречивы и нуждаются в дальнейших исследованиях.

Введение. На сегодняшний день известно, что параметры электрических сигналов в высших растениях проявляют зависимость от типа и интенсивности стимула. В их развитии принимают участие Ca^{2+} -каналы, протонная $AT\Phi$ аза, а также, отчасти, K^+ и анионные каналы, однако, соотношение их участия при действии различных стимулов не известно. Таким образом, целью данной работы является выявление характерных стимулспецифичных механизмов генерации и распространения электрических сигналов.

Материалы и методы. Исследование проводилось на растениях пшеницы мягкой (лат. *Triticum aestivum* L.) возрастом от двух до трех недель. В исследовании рассматривались различия в параметрах электрических сигналов, таких как амплитуда, длительность и скорость распространения, обусловленные различиями в механизмах их генерации и распространении при действии различных стимулов.

В качестве методов исследования использовались электрофизиологические измерения, и ингибиторный анализ. Электрофизиологические измерения вариабельного потенциала (ВП) проводились на макроэлектродной установке, к которой прикреплялись растения. Для проведения ингибиторного анализа в пшеницу с помощью вакуума вводились растворы следующих ингибиторов: хлорид лантана (LaCl₃) – блокатор Ca^{2+} -каналов; хлорид гадолиния (GdCl₃) – блокатор механочувствительных Ca^{2+} каналов; ортованадат натрия (Na₃VO₄) – ингибитор H^+ -АТФаз плазмалеммы; дифенилениодоний (DPI) – ингибитор НАДФН-оксидазы; салицилгидроксамиковая кислота (SHAM) – ингибитор альтернативной оксидазы митохондрий растений; 9-антраценкарбоновая кислота (A-9-C) – блокатор анионных каналов. Для проведения реакций было выбрано два стимула: ожог и нагрев.

По полученным в ходе эксперимента данным строятся графики, находится среднее значение, среднеквадратичное отклонение и выполняется t-тест Стьюдента (p<0.05), для последующего анализа результатов.

Результаты. Перед выполнением ингибиторного анализа была сделана оценка различий параметров электрической реакции, в форме вариабельного потенциала (ВП), между нагревом и ожогом в контрольной выборке. При нагреве реакция идет сильнее, чем при ожоге (Рис. 1).

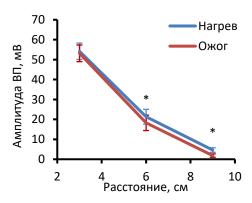


Рис. 1. Сравнение амплитуды вариабельного потенциала (ВП) при нагреве и ожоге

При ингибировании и Ca^{2+} -каналов, и H^+ -АТФазы реакция уменьшается, причем в случае выборки, ингибируемой ортованадатом, при ожоге реакция практически не фиксируется (Рис. 2).

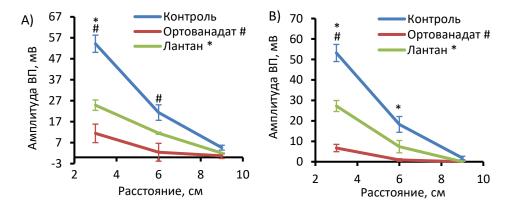


Рис. 2 А) Сравнение амплитуды ВП при нагреве между контролем, ортованадатом и лантаном В) Сравнение амплитуды ВП при ожоге между контролем, ортованадатом и лантаном

В случае ингибирования механочувствительных и анионных каналов, реакция также уменьшается. Следует отметить, что при ожоге реакция на выборке, ингибируемой гадолинием, уменьшается в большей степени по сравнению с нагревом (Рис. 3).

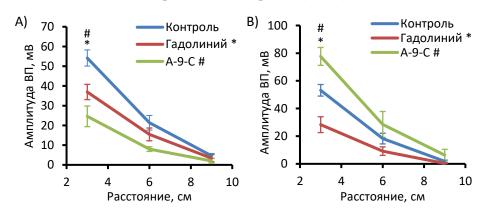


Рис. 3. A) Сравнение амплитуды ВП при нагреве между контролем, гадолинием и A-9-C B) Сравнение амплитуды ВП при ожоге между контролем, гадолинием и A-9-C

При ингибировании продукции активных форм кислорода, вырабатываемых НАДФН оксидазой и альтернативной оксидазой митохондрий растений, достоверных различий от контрольной выборки зафиксировано не было (Рис. 4).

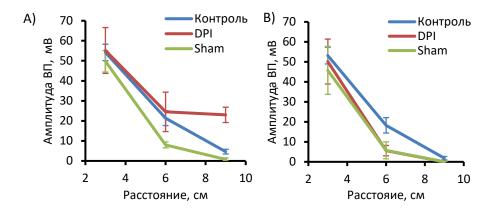


Рис. 4. A) Сравнение амплитуды ВП при нагреве между контролем, DPI и SHAM В) Сравнение амплитуды при ожоге между контролем, DPI и SHAM

Обсуждение. На первом этапе было обнаружено различие в параметрах электрических сигналов, в форме вариабельного потенциала (ВП) в контрольной выборке: при ожоге снижение амплитуды при распространении более выражено, чем при нагреве. В ходе дальнейшего сравнения ингибируемых выборок с контрольной, было выявлено активное подавление электрических реакций, что можно интерпретировать как участие в реакциях Ca^{2+} , механочувствительных и анионных каналов, а также H^+ -AT Φ азы.

Но при ингибировании компонент ВП DPI и SHAM не было обнаружено достоверного подавления реакции. В случае ингибирования анионных каналов А-9-С при ожоге реакция возрастает, по сравнению с контролем, что является довольно необычным явлением и нуждается в дальнейшем исследовании. Также были выявлены различия между реакцией ожога и нагрева, в виде большей степени подавления при ожоге ортованадатом и хлоридом гадолиния.

Выводы. Полученные результаты свидетельствуют о большем вкладе H^+ -АТФазы и механочувствительных Ca^{2+} каналов в реакцию при ожоге, что отличает его от нагрева. В дальнейших исследованиях можно будет узнать влияние особенностей механизмов ВП на физиологические процессы растениях.

Список литературы

- 1. Воденеев В.А., Опритов В.А., Пятыгин С.С. и др. Lистанционные электрические сигналы у растений. Учебно-методические материалы по программе повышения квалификации «Хранение и обработка информации в биологических системах» / 2007 г.
- 2. С. С. Медведев. Электрофизиология растений Учебное пособие // СПб.: Изд-во С. Петербургского университета, 1997 г.
- 3. Опритов В.А., Пятыгин С.С, Ретивин В.Г. Биоэлектрогенез у высших растений / М.: Наука, 1991 г.
- 4. Пятыгин С.С. Дистанционные электрические сигналы у растений / Цитология, Т.50, №2, С. 154-159, 2007 г.
- 5. Huber A.E., Bauerle T.L. Long-Distance Plant Signaling Pathways in Response to Multiple Stressors: The Gap in Knowledge. // J. Exp. Bot. 2016. V. 67. P. 2063–2079
- 6. Sukhov V., Sukhova E., Vodeneev V. Long-Distance Electrical Signals as a Link between the Local Action of Stressors and the Systemic Physiological Responses in Higher Plants // Prog. Biophys. Mol. Biol. 2019. V. 146, P. 63–84
- 7. Zimmermann M.R., Felle H.H. Dissection of Heat-Induced Systemic Signals: Superiority of Ion Fluxes to Voltage Changes in Substomatal Cavities // Planta. 2009. V. 229. P. 539–547