

УДК 577.37

ЗАВИСИМОСТЬ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО ОТВЕТА ОТ АМПЛИТУДЫ ВАРИАБЕЛЬНОГО ПОТЕНЦИАЛА У ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ

Шерстнева О.Н., Сурова Л.М., Воденев В.А., Сухов В.С.

ФГАОУ ВПО «Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского»,
Нижегород, e-mail: vssuh@mail.ru

Локальные повреждения вызывают у растений обратимую инактивацию фотосинтеза, которая играет адаптивную роль и обусловлена, по-видимому, генерацией и распространением специфического электрического сигнала – переменного потенциала. Однако, остается практически неисследованным вопрос, каким образом фотосинтетический ответ зависит от параметров переменного потенциала. В настоящей работе был проведен анализ этой проблемы у проростков пшеницы 14–15-дневного возраста. Электрическую активность регистрировали с использованием стандартной электрофизиологической установки для экстраклеточных измерений. Фотосинтетические процессы исследовали с использованием стандартной системы, включающей в себя инфракрасный газоанализатор и PAM-флуориметр. Все измерения проводили на втором листе. Было показано, что локальный ожог кончика листа вызывал распространение переменного потенциала по листу. В области прохождения переменного потенциала наблюдалась обратимая инактивация фотосинтеза, которая включала в себя существенное снижение уровня ассимиляции CO₂, небольшое снижение квантовых выходов обеих фотосистем и рост нефотохимического тушения флуоресценции. При этом было показано, что величина снижения ассимиляции и роста нефотохимического тушения линейно зависела от амплитуды переменного потенциала. Полученные результаты показывают роль электрических сигналов в формировании фотосинтетического ответа. На их основании обсуждаются возможные пути влияния переменного потенциала на фотосинтез.

Ключевые слова: локальные повреждения, переменный потенциал (ВП), фотосинтез, функциональный ответ

DEPENDENCE OF PHOTOSYNTHETIC RESPONSE ON VARIATION POTENTIAL AMPLITUDE ON WHEAT SEEDLING

Sherstneva O.N., Surova L.M., Vodenev V.A., Sukhov V.S.

Lobachevsky State University of Nizhni Novgorod, Nizhni Novgorod, e-mail: vssuh@mail.ru

Local damage induces transient photosynthetic inactivation in plants. The inactivation plays adaptive role and is possible to be connected with generation and propagation of specific electrical signal – variation potential. However, question about photosynthetic response depends on variation potential parameters aren't clear. We analyzed this problem in 14–15 days wheat seedling in present work. Electrical activity has been measured by standard electrophysiological system and extracellular electrodes. Photosynthesis has been investigated by standard system which included infrared gas-analyzer and PAM fluorimeter. Second leaf has been investigated. It was shown that local burning of leaf tip induced variation potential propagation through leaf. Photosynthesis inactivation, including decrease of CO₂ assimilation, slightly lowering of quantum yields of photosystem I and II and non-photochemical quenching rise, was observed in zone of variation potential propagation. Magnitudes of CO₂ assimilation decrease and non-photochemical quenching rise depended on amplitude of variation potential in linear manner. Our results show role of electrical signals in photosynthetic response development. Possible ways of variation potential influence on photosynthesis are discussed.

Keywords: local damage, variation potential (VP), photosynthesis, functional response

Электрогенез, т.е. способность к генерации электрических потенциалов, является универсальным свойством живых организмов, включая растения [2, 3]. При локальном действии неблагоприятных факторов у растений возникают электрические сигналы, проходящие в интактные участки растения [2]. В настоящее время чаще всего выделяют два типа электрических сигналов у высших растений [2, 3]: возникающий при действии неповреждающих стимулов потенциал действия (ПД) и индуцируемый повреждающими воздействиями переменный потенциал (ВП).

ПД представляет собой импульсную реакцию, возникающую в ответ на действие умеренных стимулов и способную к актив-

ному распространению по проводящим пучкам растения [2]. Основной механизм ПД связан с потоками кальция, хлора и калия, однако участие протонной АТФазы в процессе представляется также возможным [1]. ВП является электрической реакцией переменной формы и связан прежде всего с обратимой инактивацией протонной АТФазы [2]. Распространение ВП связано с распространением по проводящим пучкам неэлектрического сигнала гидравлической, химической или комплексной природы [6, 10].

С другой стороны, известно, что при локальном действии неповреждающих и повреждающих стимулов в интактных участках растения могут развиваться разнообразные функциональные ответы, включая

изменения фотосинтетической активности [7], т.е. существуют быстрые стрессовые сигналы, распространяющиеся по растительному организму. Электрические сигналы являются наиболее вероятным кандидатом на роль таких сигналов [3], однако экспериментальные доказательства такого участия ограничены. Так, в случае ВП было показано, что инактивация фотосинтеза развивается только при прохождении сигнала в лист [8], а времена начала развития фотосинтетического ответа в разных частях растения отражают динамику распространения переменного потенциала [5]. При этом совершенно неисследованной остается зависимость фотосинтетического ответа от параметров электрического сигнала, в первую очередь его амплитуды. Таким образом, целью настоящей работы стало исследование зависимости параметров фотосинтетического ответа от амплитуды переменного потенциала у проростков пшеницы.

Материалы и методы исследования

В работе использовались проростки мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) возрастом 14–15 суток, выращенные гидропонным способом на 50% среде Хогланда – Арнона в климатической камере KBW-240 («Binder») при температуре 24°C и 16-часовом световом периоде.

ВП вызывали ожогом открытым пламенем кончика второго листа пшеницы в течение 2 с. Исследования фотосинтетической и электрической активности проводились на втором листе.

Электрофизиологические измерения проводились методом экстраклеточной регистрации с использованием двух пар неполяризуемых хлорсеребряных макроэлектродов ЭВЛ-1МЗ, высокоомного милливольтметра ИПЛ-113 и ПК. Первый (Э1) и второй (Э2) измерительные электроды располагались на расстоянии 4 и 8 см от места ожога соответственно. Электрод сравнения находился в жидкости, контактировавшей с корнями растения.

Параметры фотосинтеза, включая скорость ассимиляции CO_2 (A), нефотохимическое тушение флуоресценции (NPQ) и квантовые выходы фотосистем I ($\gamma(\text{PSI})$) и II ($\gamma(\text{PSII})$), были определены с использованием стандартной системы для фотосинтетических исследований, включающей в себя газоанализатор GFS-3000, PAM-флуориметра Dual-PAM-100 и измерительного блока Cuvette 3010-Dual. Измерение проводилось на участке листа, расположенном между электродами. Темновая адаптация перед включением света и время освещения перед ожогом составляли по 30 мин каждое.

Эксперименты проводились в восемнадцатикратной биологической повторности. При анализе связи параметров фотосинтеза и амплитуды ВП все 18 результатов ранжировались по возрастанию амплитуды сигнала под первым или вторым электродом. После этого каждый набор данных делился на три равные группы (по 6 экспериментов для низкой, средней и высокой амплитуды ВП), для каждой из которых оценивались средние значения электрических и фотосинтетических параметров.

Результаты исследования и их обсуждение

На первом этапе исследования была изучена способность локальных ожогов вызывать распространение электрических сигналов у проростков пшеницы и вызывать у них фотосинтетические ответы. Локальные ожоги вызывали у проростков пшеницы распространение электрических сигналов сложной формы, включающей в себя как быструю деполяризацию, так и более медленные изменения (рис. 1). Амплитуда реакции варьировала в широком пределе и составляла от 10 до 90 мВ, при этом величина амплитуды снижалась по мере удаления от зоны ожога. Скорость распространения сигнала составляла около $2 \text{ мм} \cdot \text{с}^{-1}$ и также характеризовалась высокой вариабельностью ($0,5\text{--}3 \text{ мм} \cdot \text{с}^{-1}$). Такие признаки – возникновение при действии ожога, сложная форма, уменьшение амплитуды по мере удаления от зоны повреждения, относительно низкая скорость распространения и высокая вариабельность параметров – позволяют идентифицировать обнаруженный сигнал как ВП [2, 10].

Через две-три минуты после распространения ВП в листе начинал развиваться фотосинтетический ответ, который представлял собой инактивацию фотосинтеза (рис. 1). При этом происходило снижение скорости ассимиляции углекислого газа (на $1\text{--}3 \text{ мкмоль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$), рост нефотохимического тушения флуоресценции (на 0,2–0,8 единиц) и небольшое уменьшение квантовых выходов обеих фотосистем. Развитие подобного ответа очень хорошо согласуется с широким спектром работ, в которых показано, что локальные повреждения существенно снижают фотосинтетическую активность у растений различных видов активности [3, 5, 7, 8], что, по-видимому, опосредуется распространением электрических сигналов [5, 8]. Тот факт, что в наших экспериментах развитие фотосинтетического ответа происходило после распространения ВП, свидетельствует в пользу того, что именно распространение переменного потенциала может подавлять фотосинтетическую активность.

Однако не может быть полностью исключен и вариант независимого распространения ВП и какого-либо иного сигнала, влияющего на фотосинтетическую активность. Такая возможность была показана, в частности, для кукурузы [4], исследования которой показали, что на фотосинтез помимо электрического сигнала может влиять также гидравлическая волна, вызванная действием повреждающего стимула. В то же время, если распространение ВП и развитие фотосинтетического ответа являются

независимыми процессами, то можно ожидать, что зависимость параметров снижения фотосинтеза от параметров переменного потенциала будет выражена слабо.

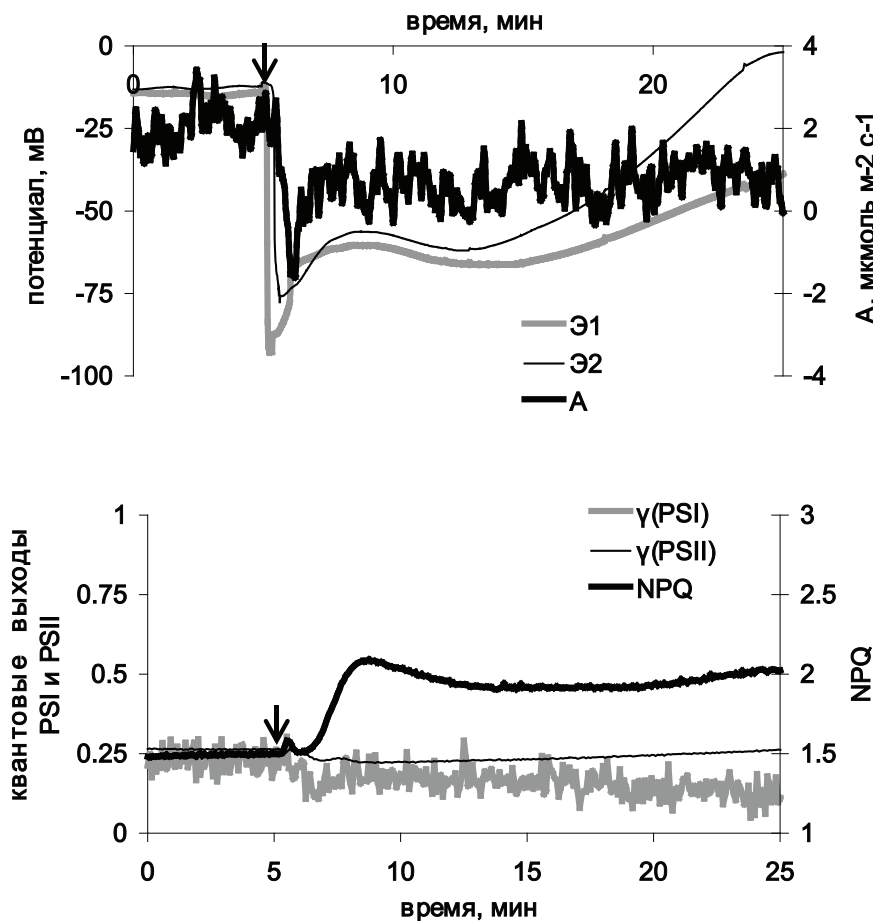


Рис. 1. Типичный пример изменений электрической и фотосинтетической активности, вызванных ожогом кончика листа пшеницы. Стрелкой обозначен момент нанесения ожога

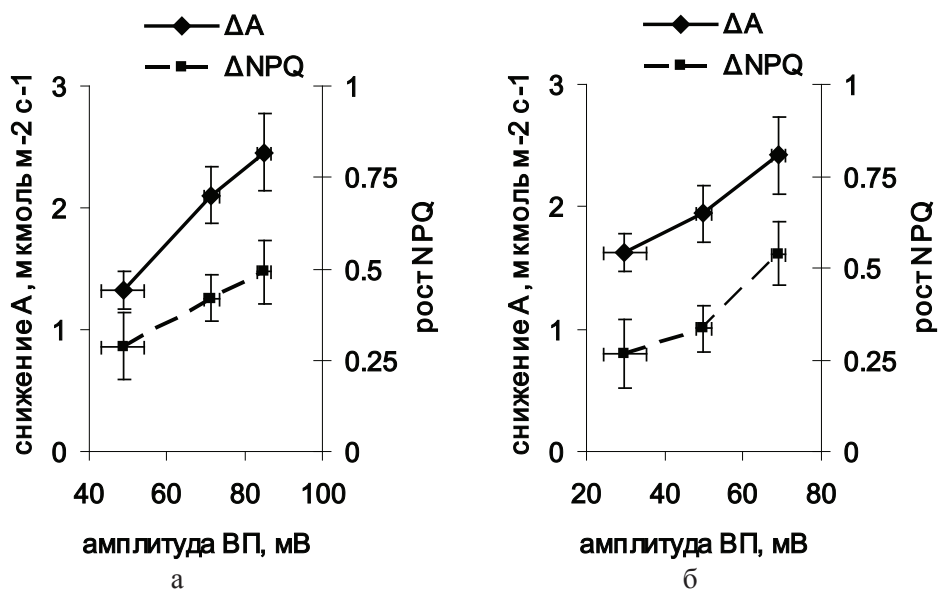


Рис. 2. Зависимости снижения ассимиляции и возрастания нефотохимического тушения флуоресценции от амплитуды переменного потенциала, измеренной первым (а) и вторым (б) электродами

На следующем этапе работы была проанализирована зависимость уменьшения скорости ассимиляции углекислого газа и возрастания нефотохимического тушения флуоресценции от амплитуд ВП под первым и вторым электродами (рис. 2). Показано, что как величина снижения ассимиляции, так и величина возрастания NPQ повышаются при увеличении амплитуд ВП под первым и вторым электродами. Форма обнаруженных зависимостей близка к линейной, что говорит о существовании прямой пропорциональности между величиной ВП и величиной фотосинтетического ответа. Полученные результаты хорошо согласуются с полученными нами ранее данными о том, что между амплитудой ВП и связанными с ней изменениями вне- и внутриклеточной рН имеется высокая положительная корреляция [9], а также с гипотезой о ключевой роли входа протонов в развитии фотосинтетического ответа при распространении электрических сигналов у высших растений [5, 9].

Заключение

Полученные нами результаты показывают, что локальные повреждения вызывают у проростков пшеницы генерацию ВП, которые распространяются по растению. В свою очередь при распространении ВП вызывают инактивацию фотосинтетических процессов, которая проявляется в уменьшении скорости ассимиляции углекислого газа, росте нефотохимического тушения и небольшом снижении квантовых выходов фотосистем. Между величиной фотосинтетического ответа и амплитудой ВП существует положительная связь: при небольшой амплитуде ВП наблюдаются относительно маленькие изменения фотосинтеза и наоборот. Форма зависимости параметров фотосинтетического ответа от амплитуды ВП вблизи зоны регистрации фотосинтеза близка к линейной.

В целом наши результаты подтверждают, что именно распространение ВП является механизмом, с помощью которого происходит развитие ответа в неповрежденных участках растения при действии на него локальных стимулов.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 14-26-00098).

Список литературы

1. Воденев В.А., Опритов В.А., Пятагин С.С. Обратное изменение внеклеточного рН при генерации потенциала действия у высшего растения *Cucurbita pepo* // Физиология растений. – 2006. – Т. 53. – С. 583–545.
2. Опритов В.А., Пятагин С.С., Ретивин В.Г. Биоэлектротрогенез у высших растений. – М.: Наука, 1991. – 216 с.
3. Fromm J., Lautner S. Electrical signals and their physiological significance in plants // *Plant, Cell and Environ.* – 2007. – Vol. 30. – P. 249–257.
4. Grams T.E.E., Koziolok C., Lautner S., Matyssek R., Fromm J. Distinct roles of electric and hydraulic signals on the reaction of leaf gas exchange upon re-irrigation in *Zea mays* L. // *Plant Cell Environment* – 2007 – Vol. 30. – P. 79–84.
5. Grams T.E.E., Lautner S., Felle H.H., Matyssek R., Fromm J. Heat-induced electrical signals affect cytoplasmic and apoplastic pH as well as photosynthesis during propagation through the maize leaf // *Plant Cell Environment* – 2009 – Vol. 32. – P. 319–326.
6. Mancuso S. Hydraulic and electrical transmission of wound-induced signals in *Vitis vinifera* // *Australian Journal of Plant Physiology* – 1999 – Vol. 26. – P. 55–61.
7. Pena-Cortes H., Fisahn J., Willmitzer L. Signals involved in wound-induced proteinase inhibitor II gene expression in tomato and potato plants // *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* – 1995 – Vol. 92. – P. 4106–4113.
8. Sukhov V., Orlova L., Mysyagin S., Sinitina J., Vodeneev V. Analysis of the photosynthetic response induced by variation potential in geranium // *Planta* – 2012 – Vol. 235. – P. 703–712.
9. Sukhov V., Sherstneva O., Surova L., Katicheva L., Vodeneev V. Proton cellular influx as a probable mechanism of variation potential influence on photosynthesis in pea // *Plant Cell Environment* – 2014 – Vol. 37. – P. 2532–2541.
10. Vodeneev V., Orlova A., Morozova E., Orlova L., Akinchits E., Orlova O., Sukhov V. The mechanism of propagation of variation potentials in wheat leaves // *Journal of Plant Physiology* – 2012 – Vol. 169. – P. 949–954.

References

1. Vodeneev V.A., Opritov V.A., Pyatugin S.S. Reversible changes of extracellular pH during action potential generation in a higher plant *Cucurbita pepo* // *Russian Journal of Plant Physiology* 2006 Vol. 53. pp. 481–487.
2. Opritov V.A., Pyatugin S.S., Retivin V.G. Bioelectrogenesis in higher plants. Moscow: Nauka, 1991. 216 p.
3. Fromm J., Lautner S. Electrical signals and their physiological significance in plants // *Plant, Cell and Environ.* 2007. Vol. 30. pp. 249–257.
4. Grams T.E.E., Koziolok C., Lautner S., Matyssek R., Fromm J. Distinct roles of electric and hydraulic signals on the reaction of leaf gas exchange upon re-irrigation in *Zea mays* L. // *Plant Cell Environment* 2007 Vol. 30. pp. 79–84.
5. Grams T.E.E., Lautner S., Felle H.H., Matyssek R., Fromm J. Heat-induced electrical signals affect cytoplasmic and apoplastic pH as well as photosynthesis during propagation through the maize leaf // *Plant Cell Environment* 2009 Vol. 32. pp. 319–326.
6. Mancuso S. Hydraulic and electrical transmission of wound-induced signals in *Vitis vinifera* // *Australian Journal of Plant Physiology* 1999 Vol. 26. pp. 55–61.
7. Pena-Cortes H., Fisahn J., Willmitzer L. Signals involved in wound-induced proteinase inhibitor II gene expression in tomato and potato plants // *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 1995 Vol. 92. pp. 4106–4113.
8. Sukhov V., Orlova L., Mysyagin S., Sinitina J., Vodeneev V. Analysis of the photosynthetic response induced by variation potential in geranium // *Planta* 2012 Vol. 235. pp. 703–712.
9. Sukhov V., Sherstneva O., Surova L., Katicheva L., Vodeneev V. Proton cellular influx as a probable mechanism of variation potential influence on photosynthesis in pea // *Plant Cell Environment* 2014 Vol. 37. pp. 2532–2541.
10. Vodeneev V., Orlova A., Morozova E., Orlova L., Akinchits E., Orlova O., Sukhov V. The mechanism of propagation of variation potentials in wheat leaves // *Journal of Plant Physiology* 2012 Vol. 169. pp. 949–954.

Рецензенты:

Охупкин А.Г., д.б.н., профессор, зав. кафедрой ботаники биологического факультета, ФГАОУ ВПО «Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского» Министерства образования и науки РФ, г. Нижний Новгород;

Бережная Г.А., д.б.н., проф., профессор кафедры ботаники, физиологии и защиты растений, ФГБОУ ВПО «Нижегородская государственная сельскохозяйственная академия» Министерства сельского хозяйства РФ, г. Нижний Новгород.

Работа поступила в редакцию 28.11.2014.