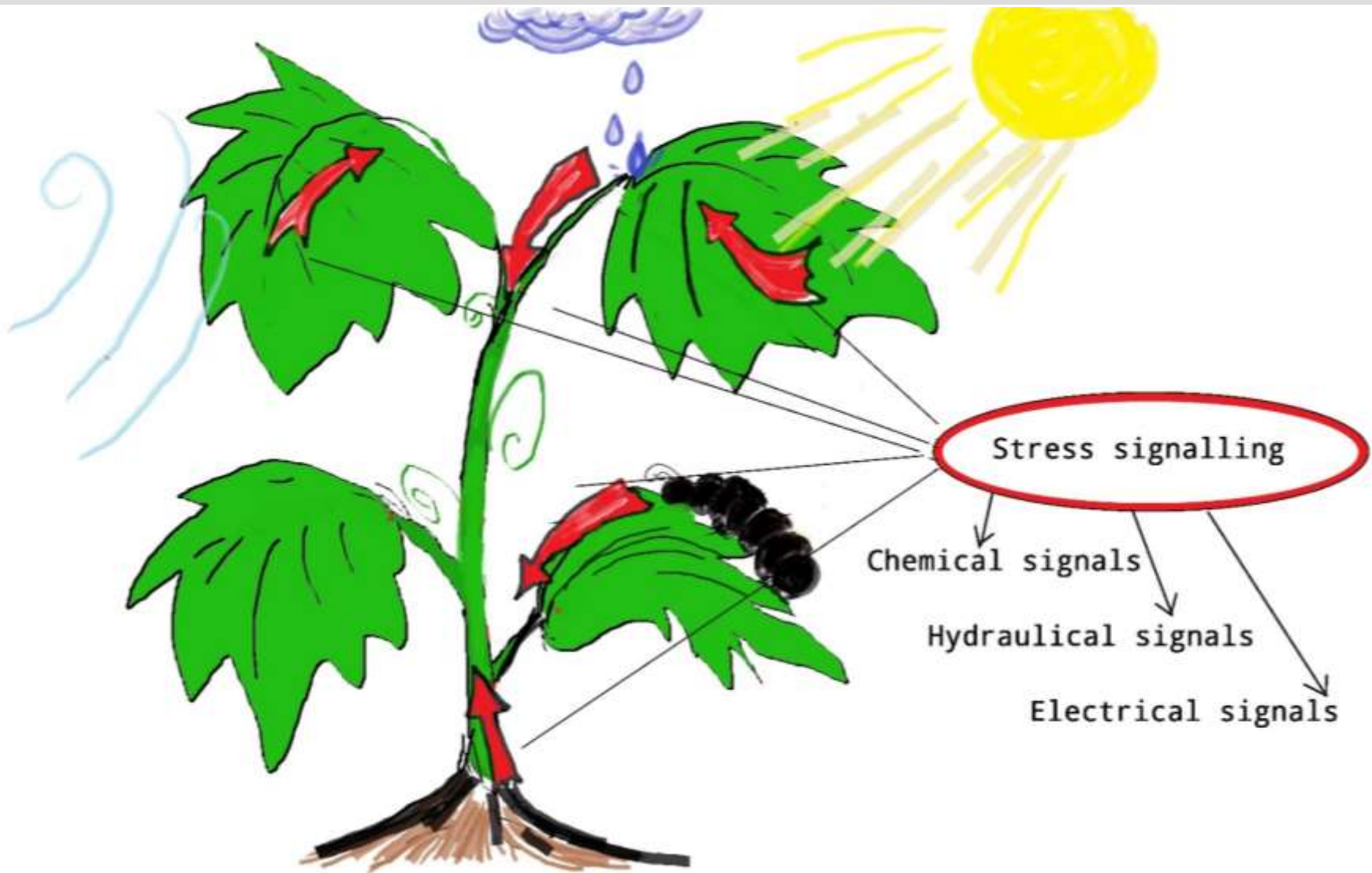


Дистанционные электрические сигналы в системном ответе растений на действие стрессоров

Воденеев В.А.

IX СЪЕЗД ОБЩЕСТВА ФИЗИОЛОГОВ РАСТЕНИЙ РОССИИ
Казань
2019

Дистанционные сигналы растений





Дистанционные электрические сигналы растений



Джон Скотт
Бурдон-Сандерсон
1828 - 1905



Dionaea muscipula



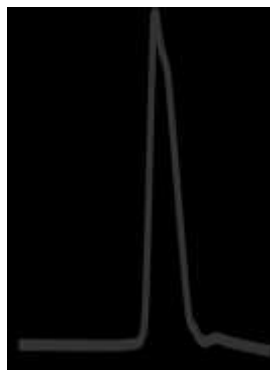
Кафедра биофизики ННГУ
1968 г



Опритов Владимир
Александрович
(1930-2008)



Cucurbita pepo





Дистанционные электрические сигналы растений

Электрические сигналы растений. Общие сведения

Природа электрических сигналов

- механизм генерации
- механизм распространения

Функциональные ответы

- преобразование ЭС в функциональный ответ
- специфичность ответов
- ответы в условиях комбинированного действия факторов



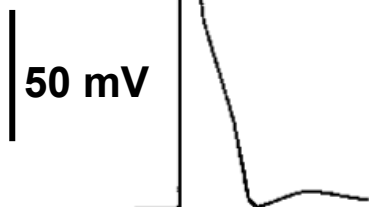
Электрические сигналы растений

Общие сведения



Дистанционные электрические сигналы растений

Потенциал действия



НЕповреждающие стимулы

- Электрическая стимуляция
- Изменение температуры
- Изменение освещенности
- Механическое раздражение

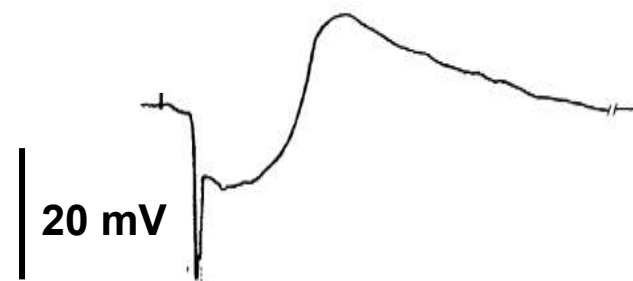
Вариабельный потенциал



Повреждающие стимулы

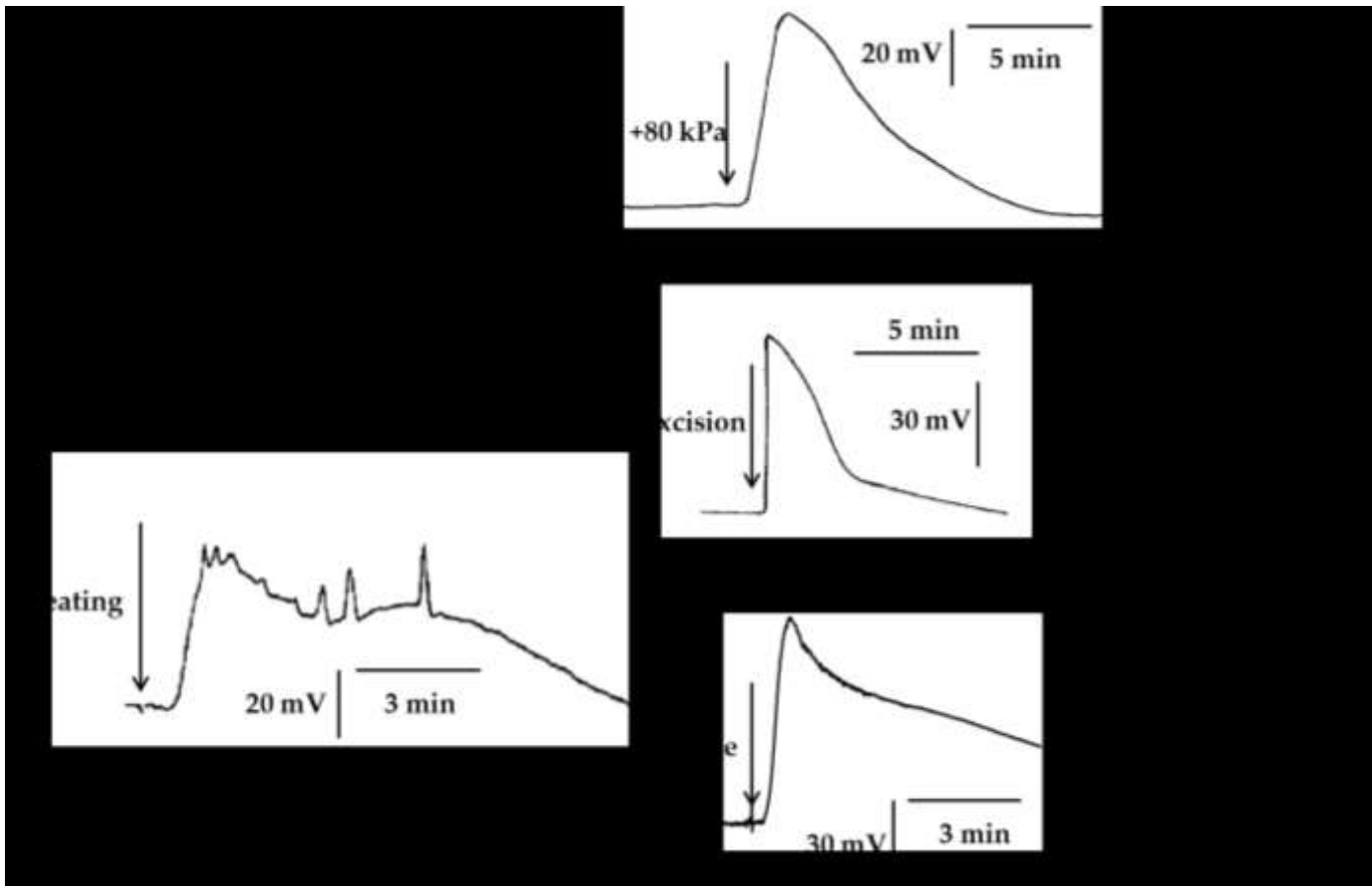
- Механическое повреждение
- Ожог

Системный потенциал





Электрические реакции, индуцированные повреждением



Общие черты (отличающие ВП от ПД):

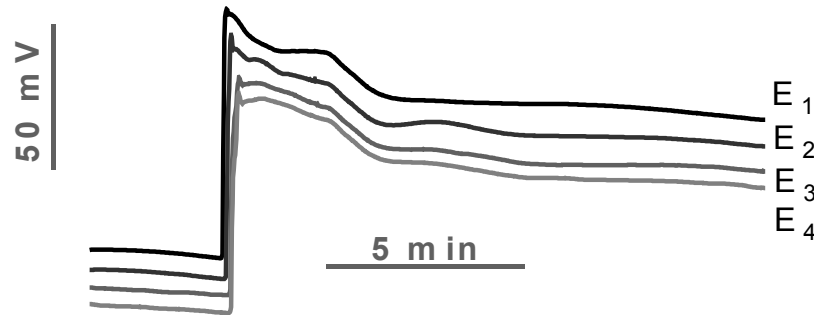
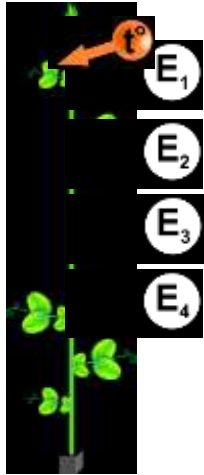
- большая длительность,
- медленное распространение (в сравнении с ПД),
- наличие декремента

Специфичные черты:

- количество спайков,
- форма реакции,
- скорость де- и реполяризации

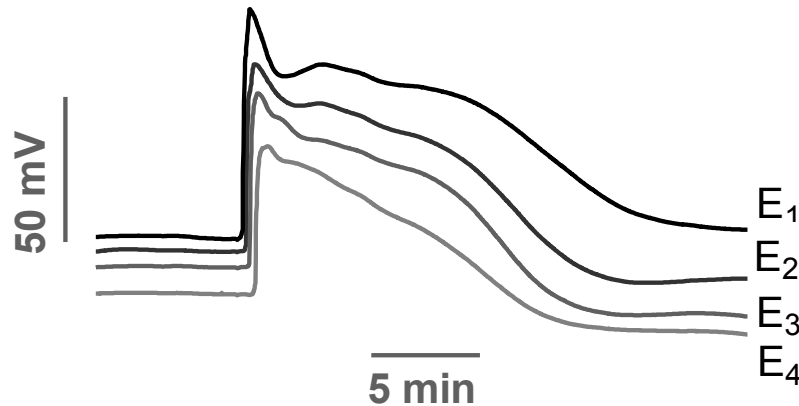


Вариабельный потенциал, индуцированный локальным нагревом



Индукцированный нагревом
вариабельный потенциал
(ВП) в стебле проростка
гороха

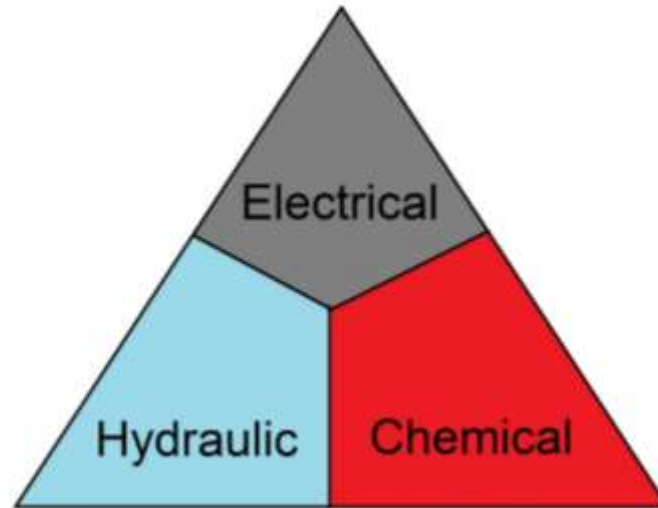
*Электроды E1, E2, E3, E4 на расстояниях
1.5, 3, 4.5, 6 см от зоны раздражения.*



Индукцированный нагревом
вариабельный потенциал
(ВП) в листе проростка
пшеницы



Вариабельный потенциал



Комплексный ответ, включающий
электрический, гидравлический и
химические сигналы



Механизм генерации



Сравнение базовых характеристик потенциала действия (AP) и переменного потенциала (VP)

Characteristic	APs	VPs
Induction	Voltage threshold	Rapid turgor increase
Propagation Rate	Self-propagating 20–400 cm min ⁻¹	Non-self-propagating 10 s to several minutes
Mechanism	Activation of ion channels (Ca ²⁺ , Cl ⁻ , K ⁺)	Inactivation of the H ⁺ pump
Ion movements and ΔV	Ca ²⁺ triggers Cl ⁻ efflux and ΔV	Causalities unclear
Direction	Depolarization	Depolarization
Duration of initial voltage change	<20 s	10 s to several minutes
Signal	All or none	Graded signals of variable size

Stahlberg et al., 2006;
Zimmermann et al., 2009;
Bel et al., 2011

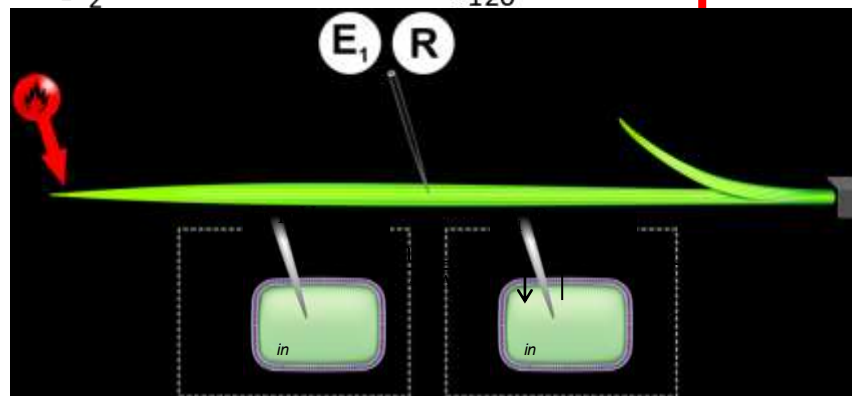
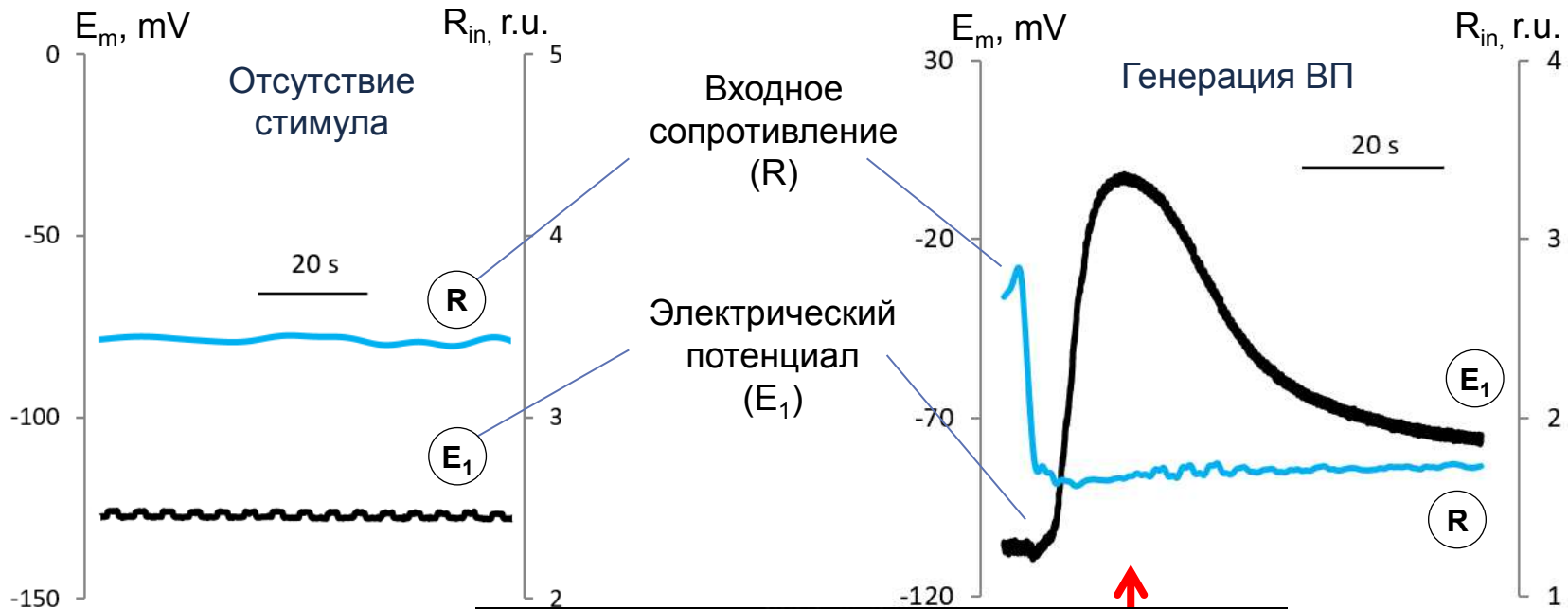


Сравнение базовых характеристик потенциала действия (AP) и переменного потенциала (VP)

- Ингибиторы метаболизма угнетают генерацию VP
- Активация АТФазы увеличивает амплитуду VP
- Генерация VP сопровождается защелачиванием апопласта и закислением цитозоля
- При генерации VP не происходит снижения входного сопротивления
При генерации VP не происходит изменения проницаемости для ионов K^+ , Cl^-
- Блокаторы ионных каналов не влияют на параметры VP



Падение входного сопротивления во время генерации вариабельного потенциала

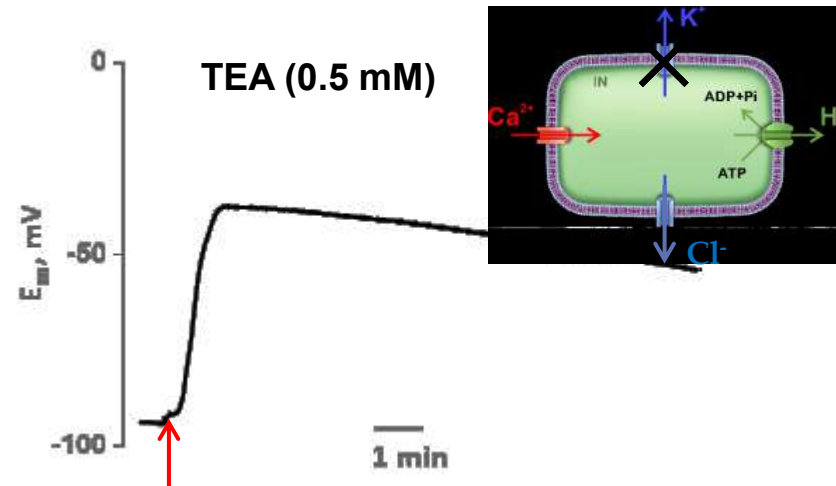
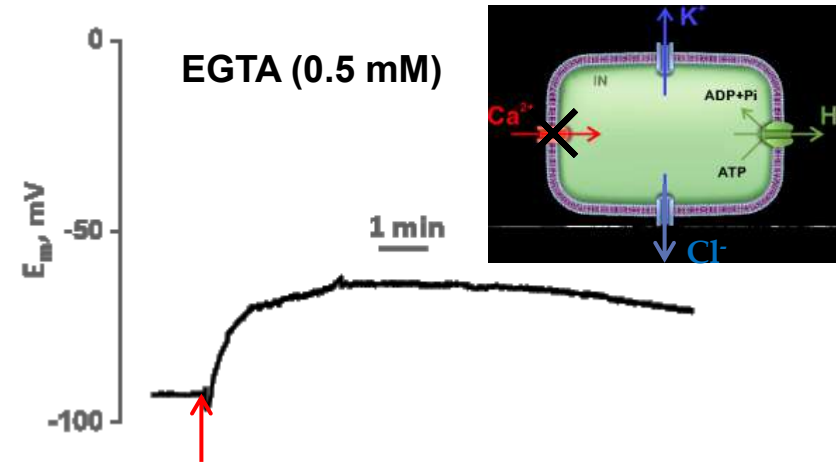
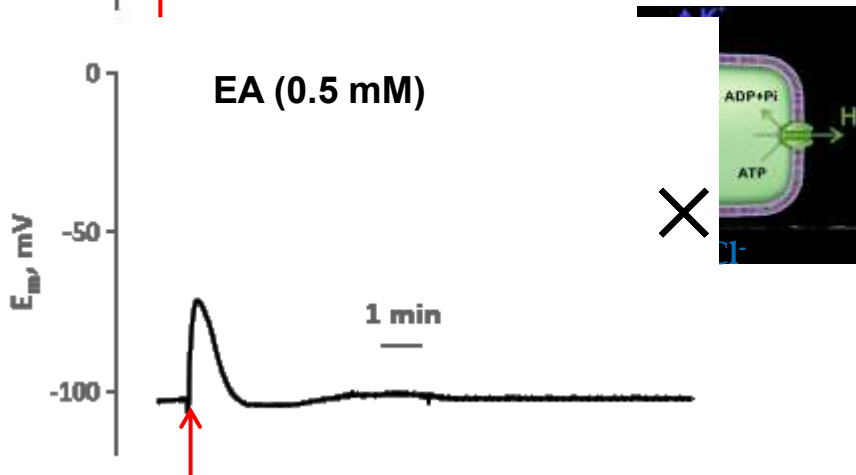
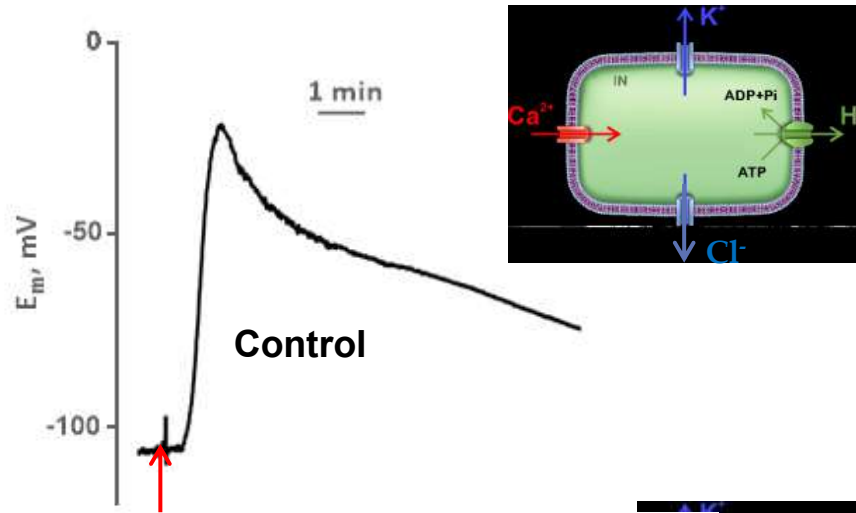


Katicheva et al. 2014

При генерации ВП имеет место падение входного сопротивления мембраны



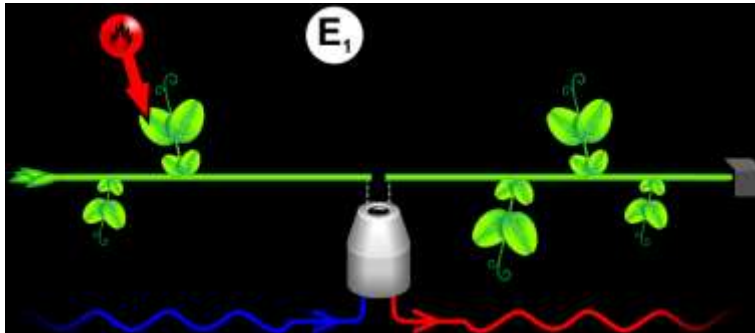
Влияние блокаторов ионных каналов на генерацию ВП



Воденеев и др. 2011
Katicheva et al. 2014



Динамика внутриклеточной концентрации Ca^{2+}



Регистрация флуоресценции на расстоянии от зоны стимуляции

Fluo-4,AM

λ_{ex} 488 nm

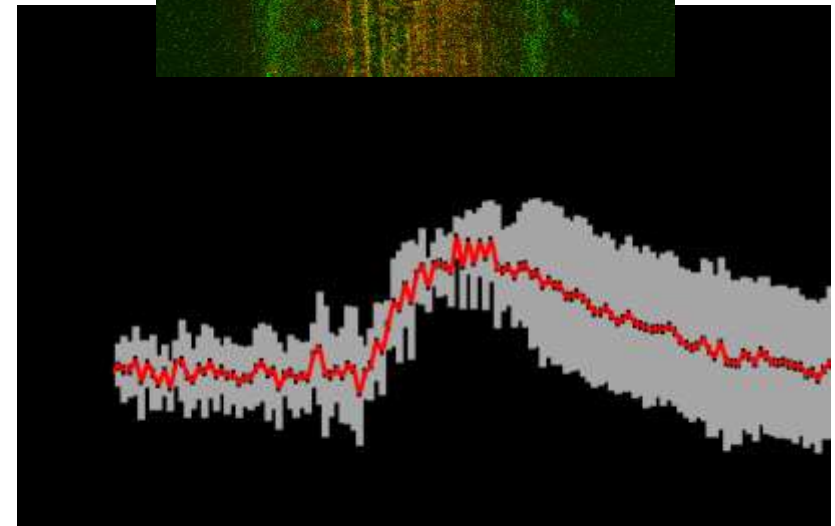
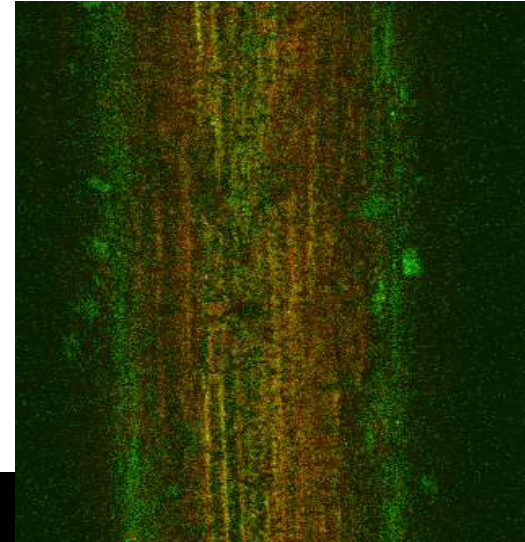
λ_{em} 530 nm

Fura-2,AM

λ_{ex} 380/340 nm

λ_{em} 520 nm

Продолжительность активации кальциевых каналов составляет десятки секунд



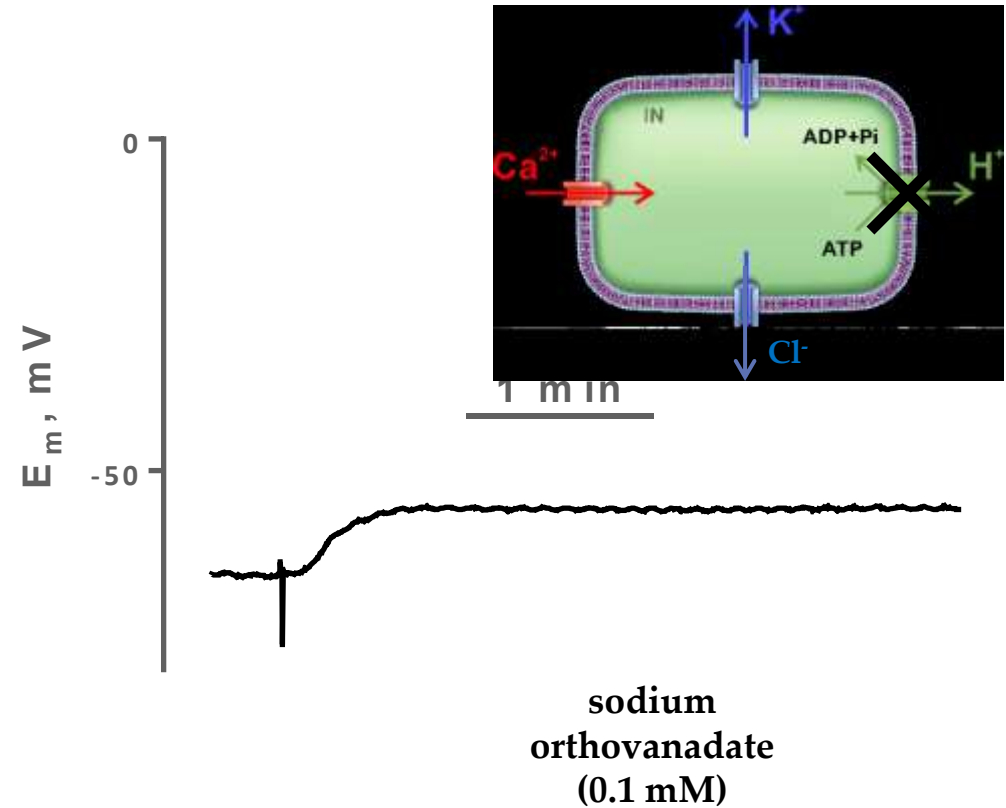
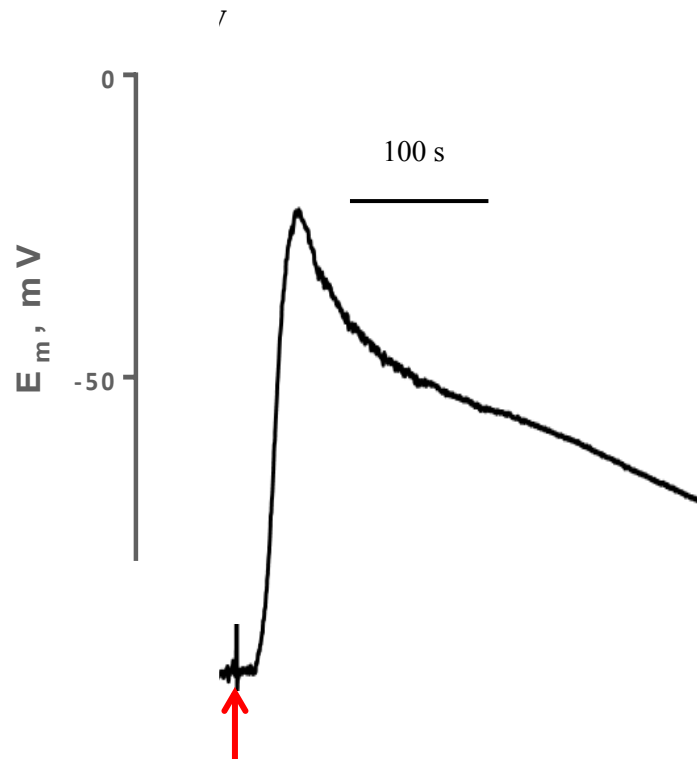
Stimulus

Sukhov et al. 2013
Katicheva et al. 2015

Имеет место длительное увеличение концентрации Ca^{2+} , соответствующее по длительности ВП



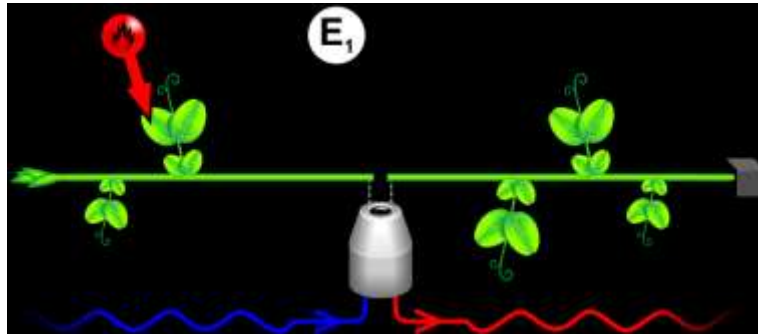
Влияние ингибитора H^+ -АТФазы на генерацию ВП



Воденеев и др. 2011
Katicheva et al. 2014



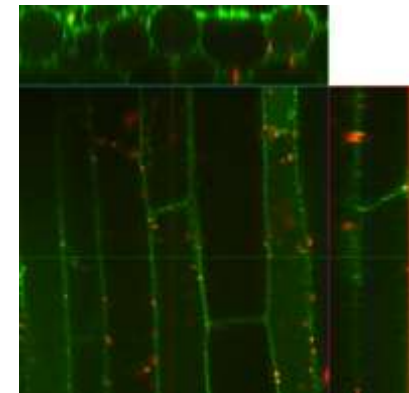
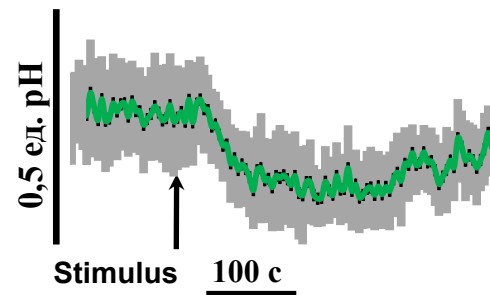
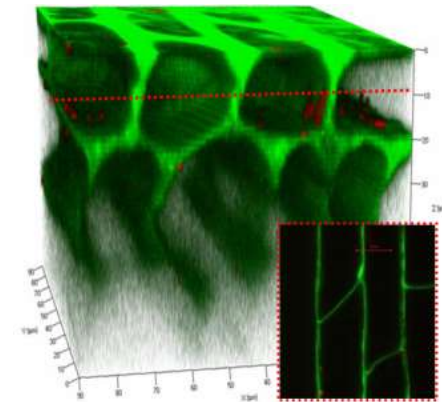
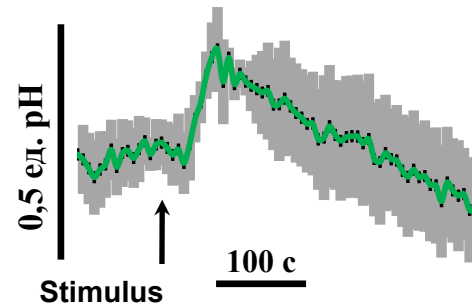
Изменения внутри- и внеклеточного pH при генерации ВП



Регистрация флуоресценции на расстоянии от зоны стимуляции

BCECF,AM
 λ_{ex} 490/450 nm
 λ_{em} 530 nm

FITC-dextran
 λ_{ex} 490/460 nm
 λ_{em} 520 nm

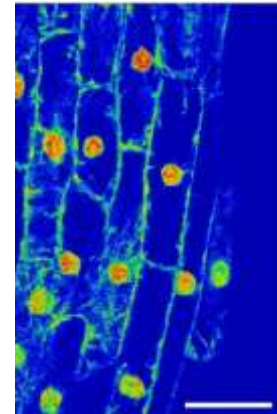
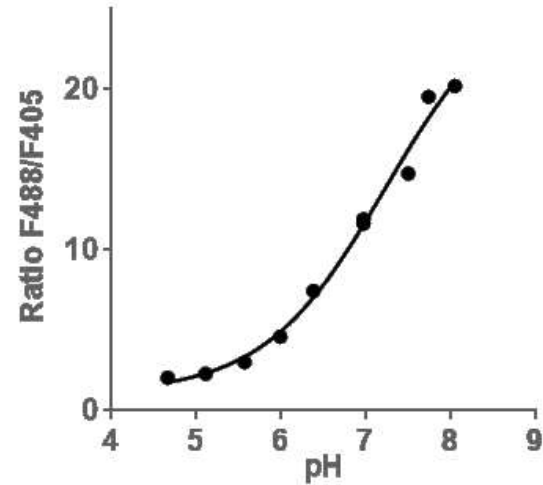
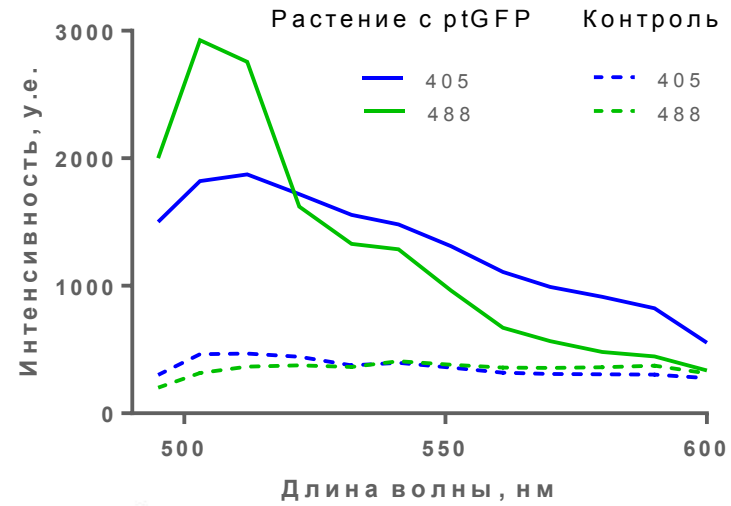
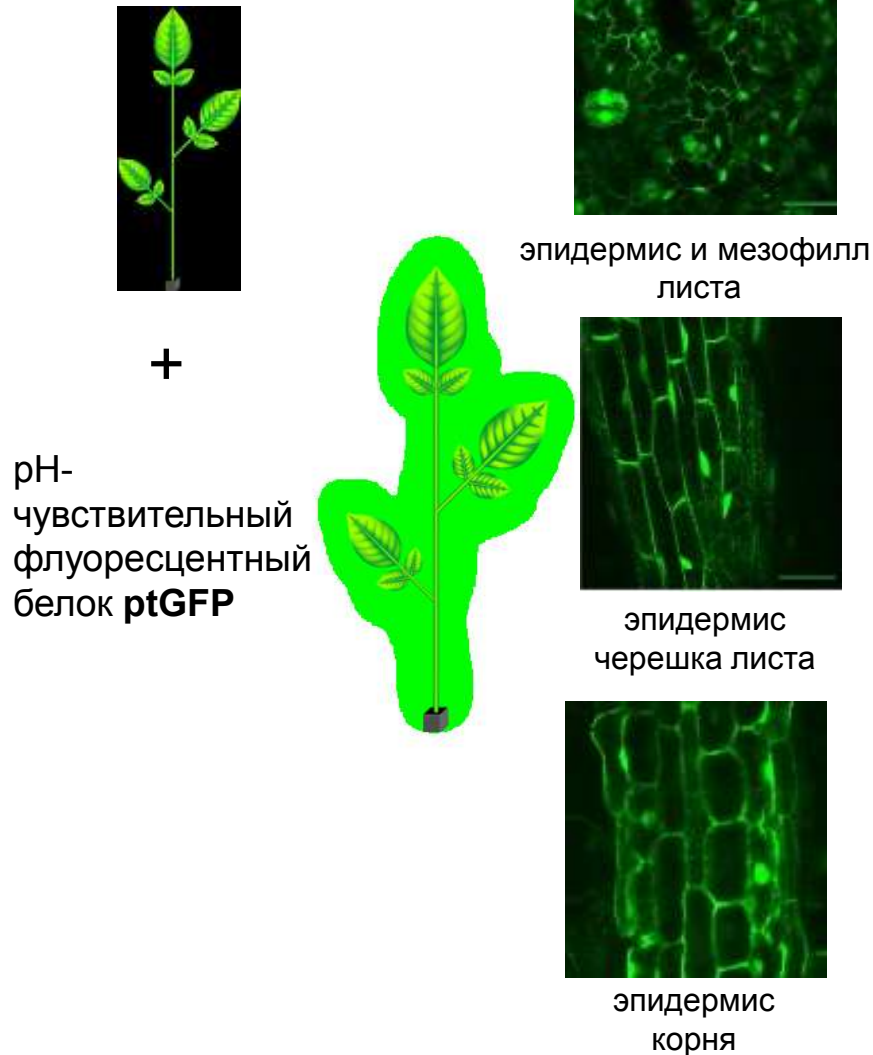


Воденев и др. 2010
 Sukhov et al. 2014

Имеет место временное закисление цитозоля и защелачивание апопласта



Пространственно-временное картирование pH





Пространственно-временное картирование pH

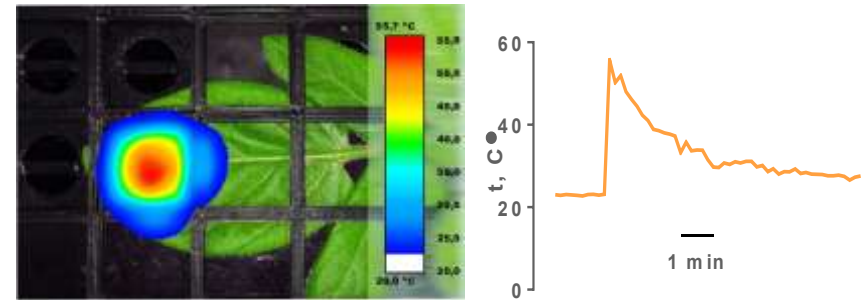
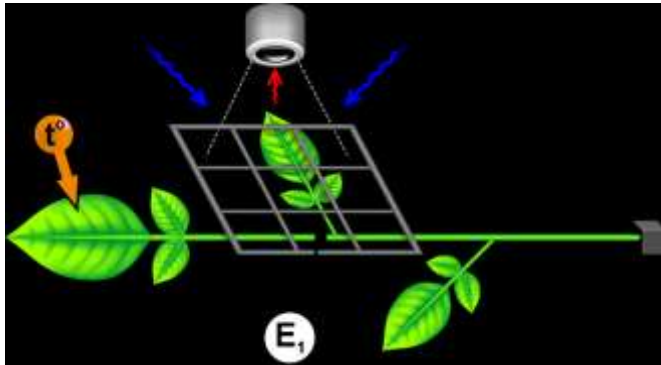
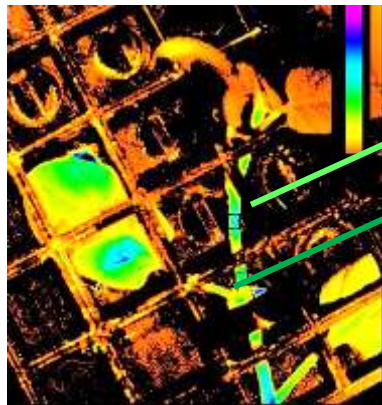


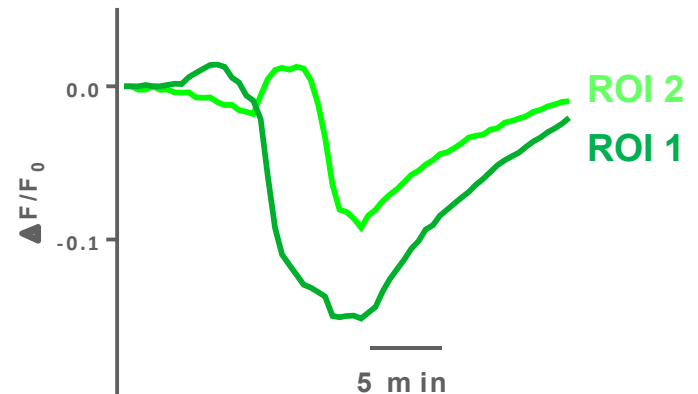
Схема «whole-body» флуоресцентного имиджинга

Дозированное контролируемое температурное раздражение



ROI 2
ROI 1

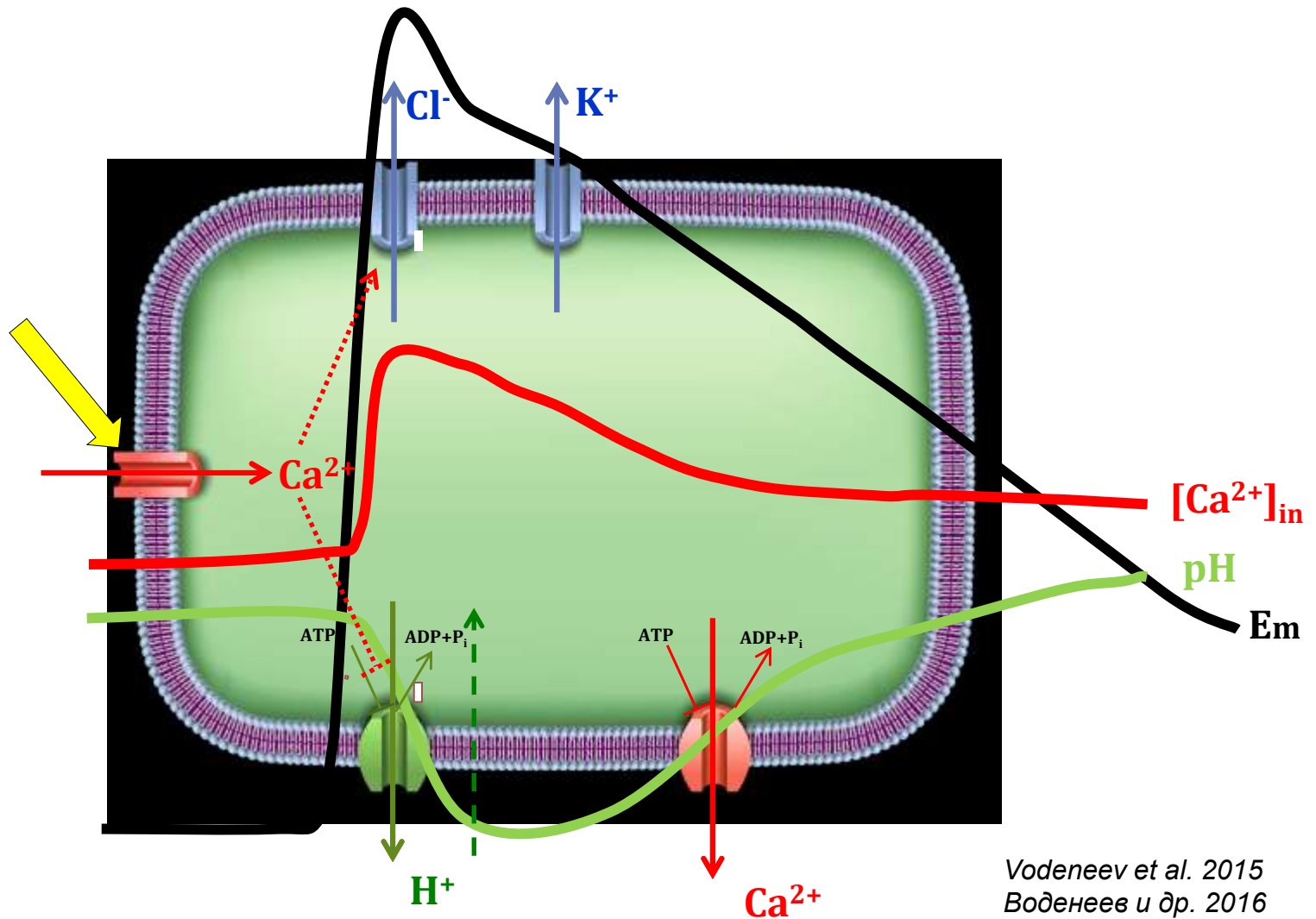
Флуоресцентное изображение проростка картофеля, модифицированного ptGFP



Распространение волны изменений pH



Схема механизма генерации переменного потенциала



Vodeneev et al. 2015
 Воденеев и др. 2016
 Sukhov et al. 2018



Механизм распространения



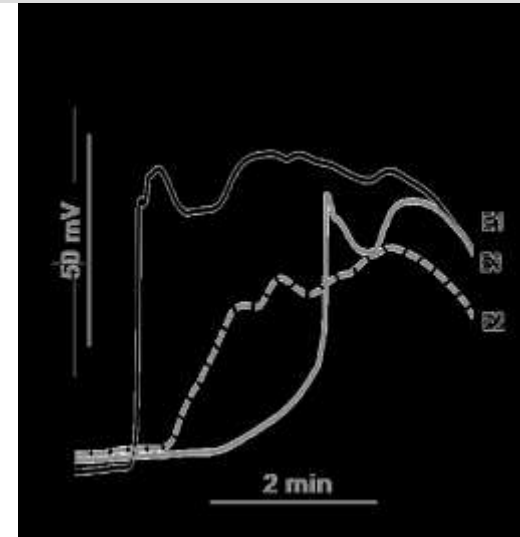
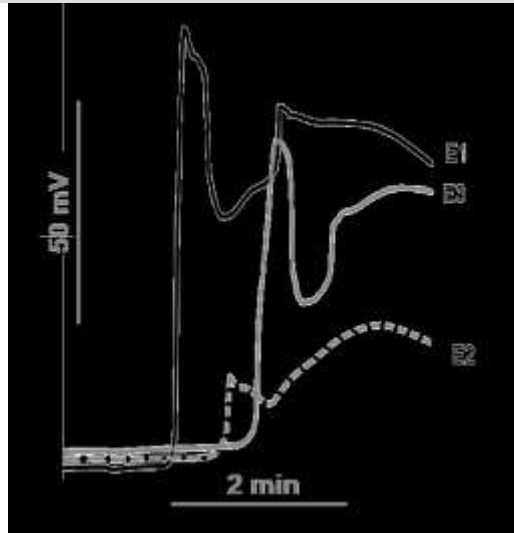
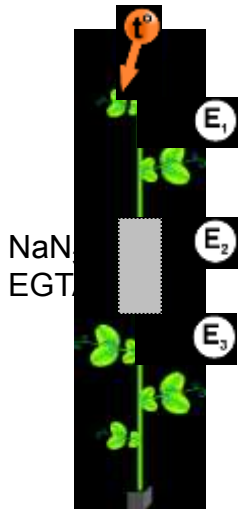
Сравнение базовых характеристик потенциала действия (AP) и переменного потенциала (VP)

Characteristic	APs	VPs
Induction	Voltage threshold	Rapid turgor increase
Propagation	Self-propagating	Non-self-propagating
Rate	20–400 cm min ⁻¹	10 s to several minutes
Mechanism	Activation of ion channels (Ca ²⁺ , Cl ⁻ , K ⁺)	Inactivation of the H ⁺ pump
Ion movements and ΔV	Ca ²⁺ triggers Cl ⁻ efflux and ΔV	Causalities unclear
Direction	Depolarization	Depolarization
Duration of initial voltage change	<20 s	10 s to several minutes
Signal	All or none	Graded signals of variable size

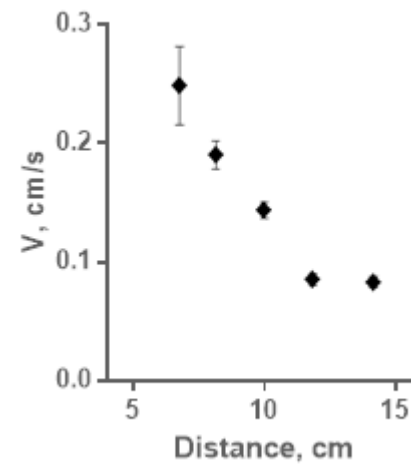
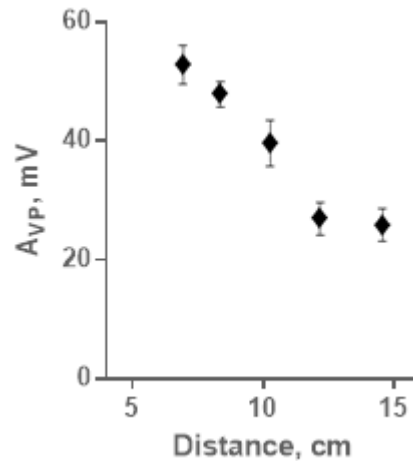
Stahlberg et al., 2006;
Zimmermann et al., 2009;
Bel et al., 2011



Особенности распространения переменного потенциала



Локальное подавление ВП не сказывается драматически на его последующем распространении



С увеличением расстояния происходит снижение амплитуды ($A_{ВП}$) и скорости распространения ($V_{ВП}$)

Воденев и др. 2011, 2016

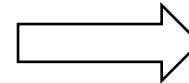


Гипотезы

механизма распространения переменного потенциала

- Химический сигнал

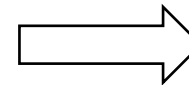
Генерацию ВП индуцирует химическое соединение, распространяющееся по сосудам ксилемы



Активация лиганд-управляемых каналов

- Гидравлический сигнал

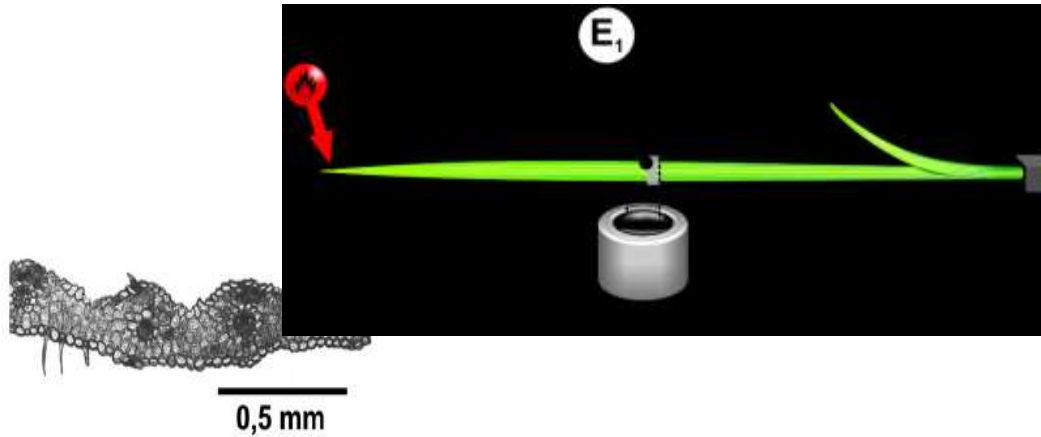
Область повышенного давления возникает в зоне повреждения и распространяется по сосудам ксилемы



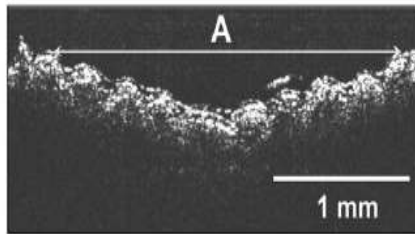
Активация механо-чувствительных каналов



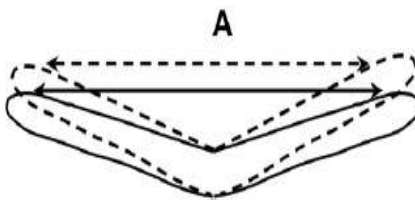
Гидравлический сигнал



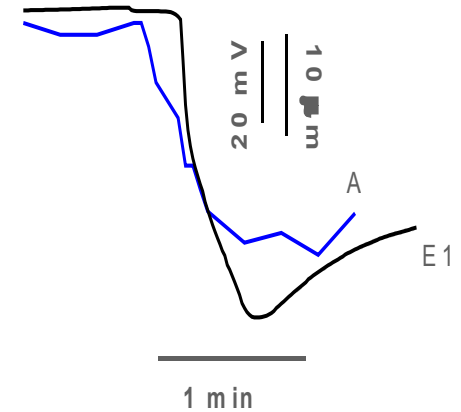
- световая микроскопия



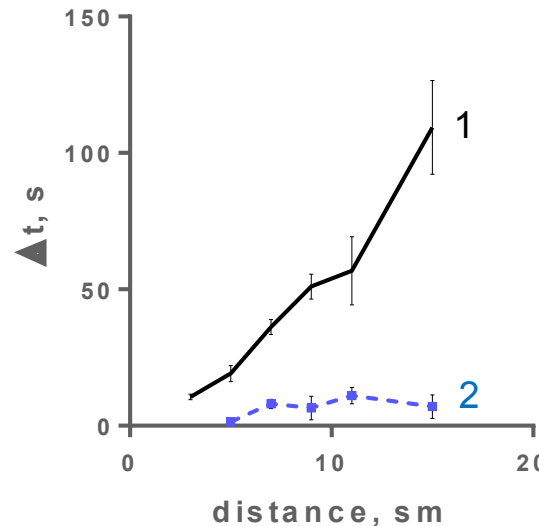
- ОКМ-изображение



- схема измерения параметра A



Динамика электрического потенциала (E1) параметра A на расстоянии от зоны стимуляции



Временной интервала между раздражением и регистрацией электрического (1) и гидравлического (2) сигналов

Vodeneev et al. 2012, 2015

Скорость гидравлической волны значительно превышает скорость ВП

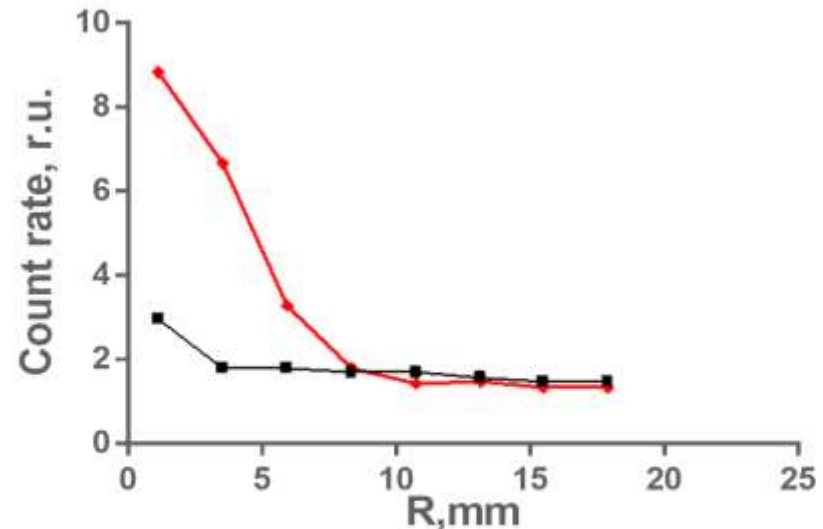
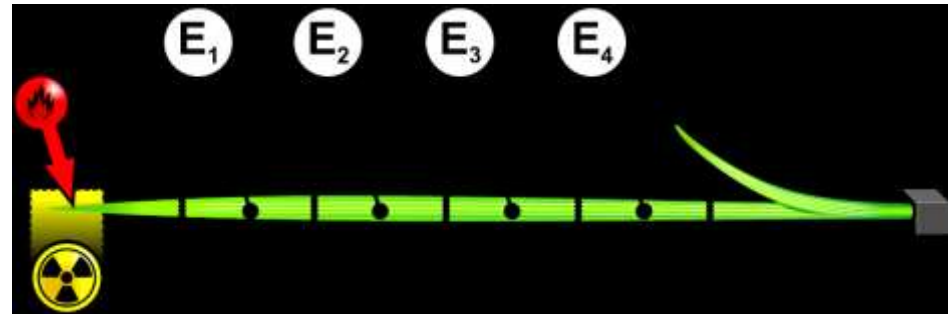


Химический сигнал

В состоянии покоя скорость транспорта химических соединений на 1-2 порядка ниже скорости ВП.

Локальное повреждение значительно увеличивает скорость распространения вещества. Такая скорость сопоставима со скоростью ВП.

Ускорение диффузии при раздражении может быть следствием распространения гидравлической волны.



- ◆ — нанесение раздражения
- — контрольные растения

Vodeneev et al. 2012



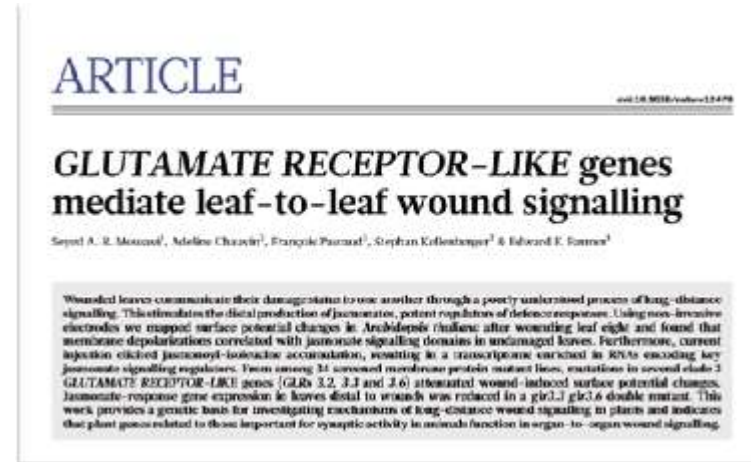
«Критерии отбора» на роль потенциально индуктора переменного потенциала

Индущирующее ВП соединение должно отвечать следующим требованиям:

- возникать/выделяться в зоне повреждения;
- вызывать изменения электрического потенциала (деполяризацию)
- иметь высокую скорость распространения

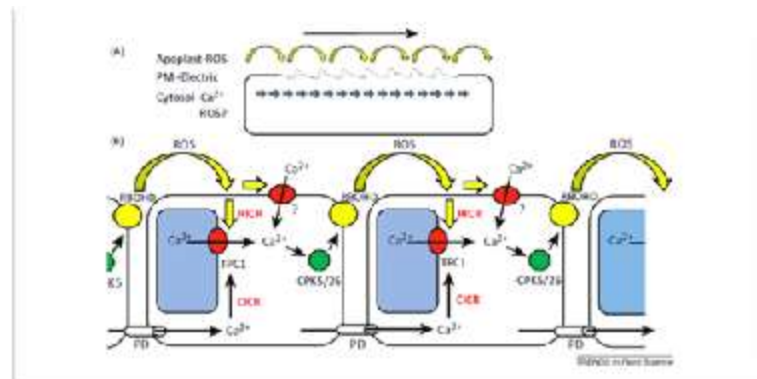
«Потенциальные претенденты»:

- олигосахариды поврежденных клеточных стенок
- СИСТЕМИН
- ЖАСМОНАТ
- ЭТИЛЕН
- абсцизовая кислота



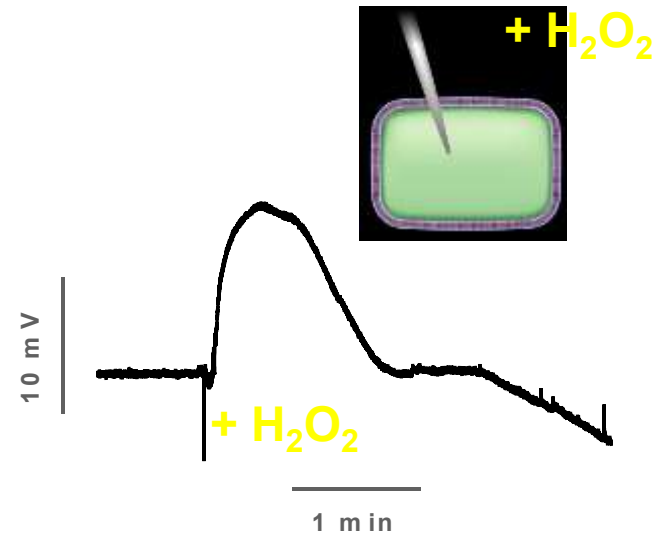
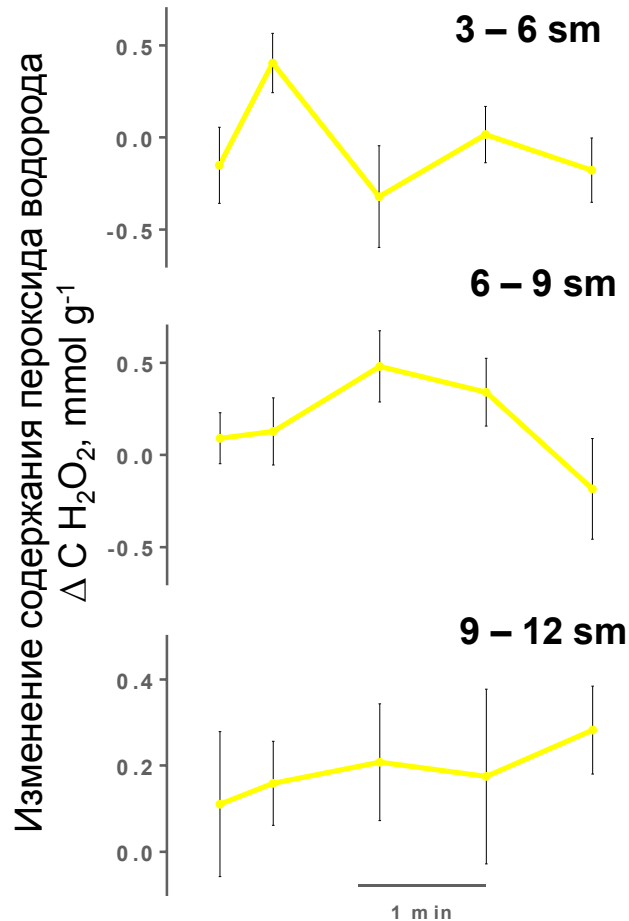
*Mousavi ... Farmer
Glutamate Receptor-Like genes mediate leaf-to-leaf wound signaling
Nature 2013*

*Gilroy ... Mittler
A tidal wave of signals: calcium and ROS at the forefront of rapid systemic signaling
rends Plant Sci. 2014.*





Индукцированная локальным стимулом динамика содержания пероксида водорода

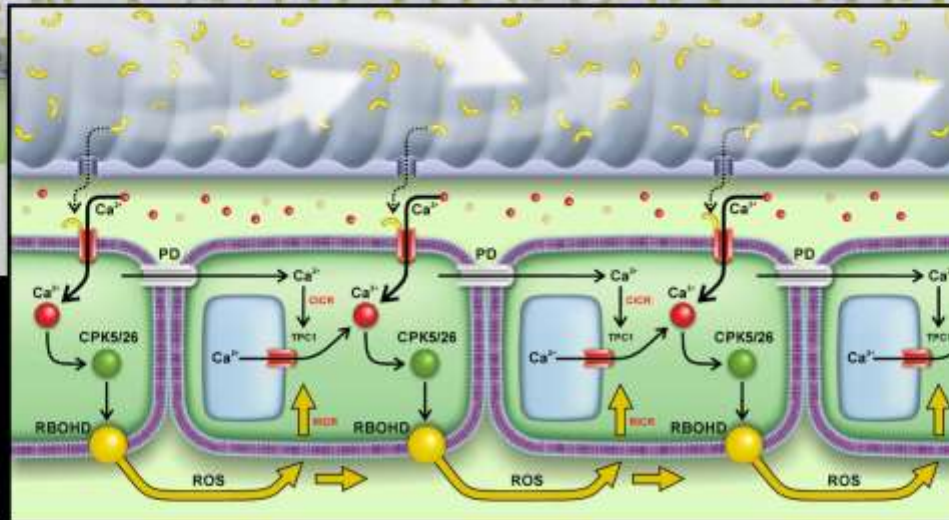
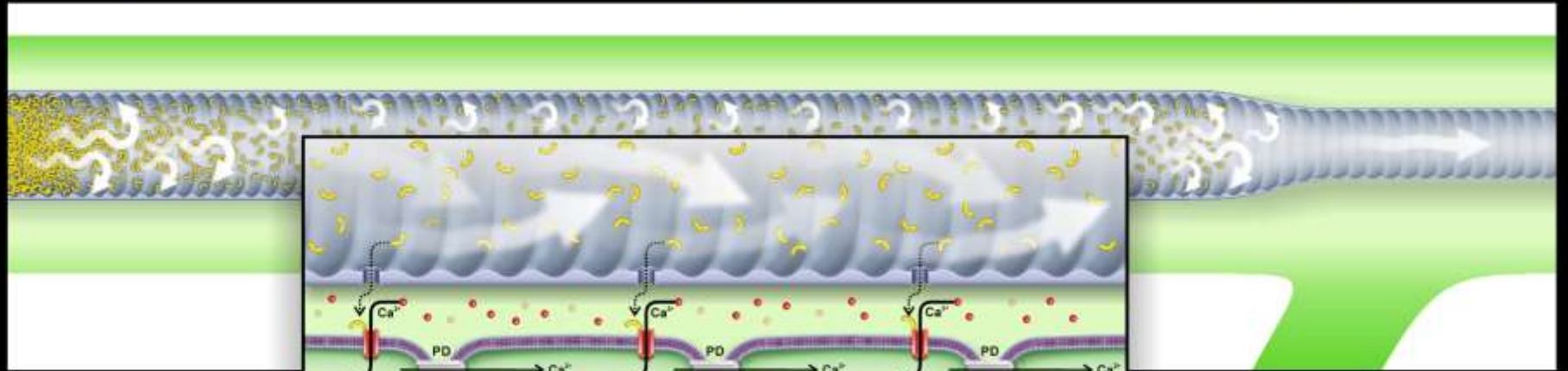
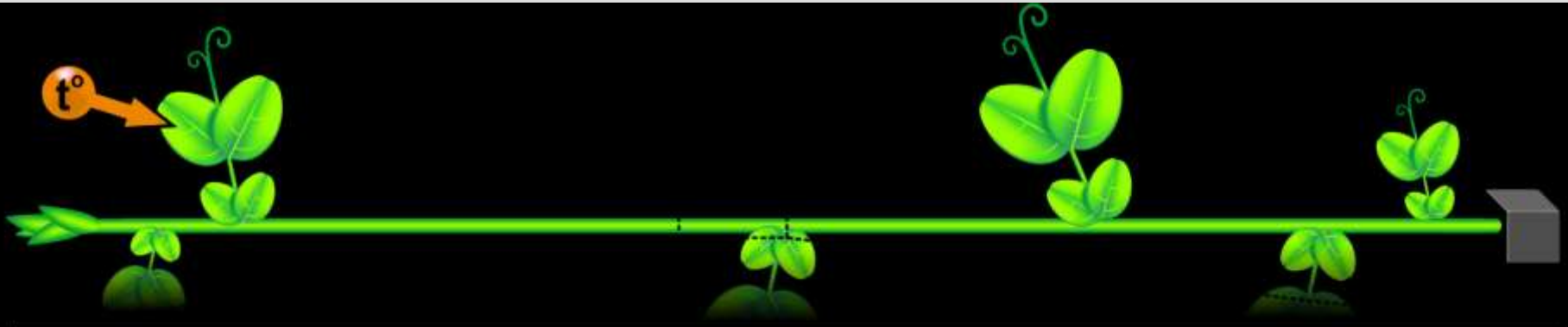


Локальное повреждение вызывает быстрое увеличение содержания H_2O_2 на удалении от зоны повреждения.

H_2O_2 индуцирует переходную деполяризацию.



Предполагаемая схема механизма распространения вариабельного потенциала



Vodeneev et al. 2015, 2018
Sukhov et al. 2018



Функциональная роль

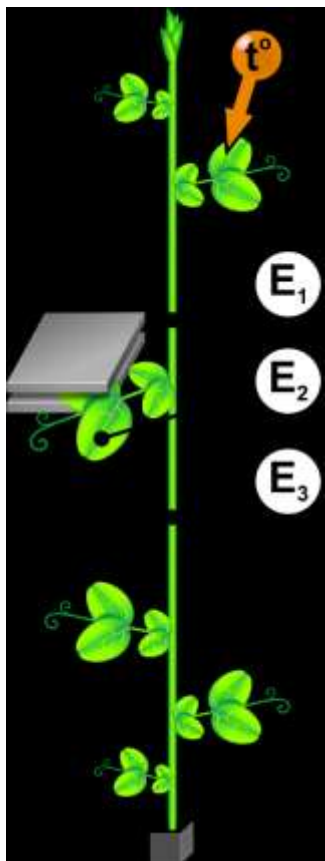


Функциональная роль электрических сигналов

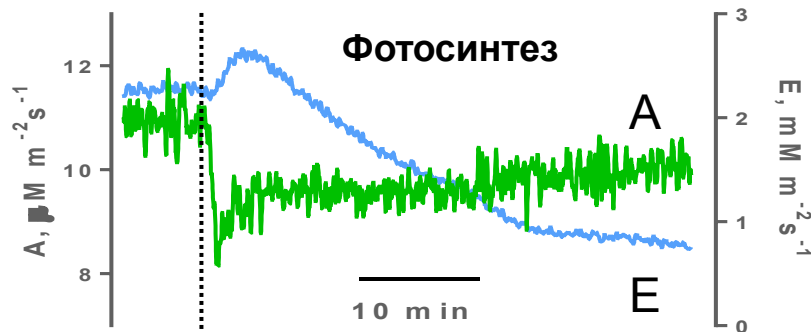
<i>Стимул</i>	<i>Сигнал</i>	<i>Объект</i>	<i>Физиологический эффект</i>	
Холодовой/ожог	ПД/ВП	<i>Cucurbita, Zea, Pisum, Pelargonium</i>	Переходное снижение активности фотосинтеза	Krupenina and Bulychev, 2007; Grams et al., 2009; Sukhov et al., 2012, 2014; Шерстнева и др., 2015
Холодовой/ожог	ПД/ВП	<i>Cucurbita</i>	Временное увеличение содержания АТФ	Ретивин а др., 1999
Электр., опыление, увлажн. корней / ожог	ПД/ВП	<i>Conocephalum, Hibiscus, Incarviela, Zea, Pisum, Pelargonium, Cucurbita</i>	Усиление дыхания	Sinyukhin, Britikov, 1967; Fromm et al., 1995; Sukhov et al., 2012, 2014; Lautner et al., 2013; Шерстнева и др., 2015
Химический	ПД	<i>Vicia Cucurbita</i>	Переходное изменение поглотительной активности корня	Опритов и др., 1972
Холодовой	ПД	<i>Zea</i>	Замедление флоэмного транспорта	Fromm, Bauer, 1994
Электрический Холодовой	ПД	<i>Luffa</i>	Замедление скорости роста стебля	Shina, Tazawa, 1986
Электрический	ПД	<i>Lycopersicon</i>	Индукция экспрессии гена <i>pin2</i>	Stankovic, Davies, 1996 Fisahn et al., 2004
Ожог	ВП	<i>Solanum</i>	Индукция биосинтеза жасмоновой кислоты и экспрессии гена <i>pin2</i>	Fisahn et al., 2004
Механическое повреждение	ВП	<i>Pisum</i>	Ингибирование синтеза белка, формирование полисом	Davies, Stankovic, 2006



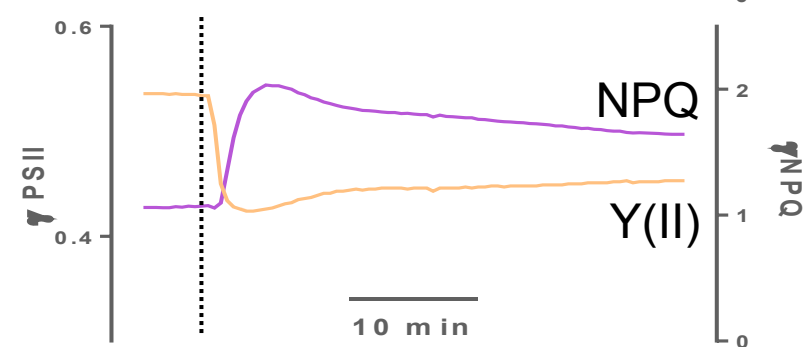
Индуцированные переменным потенциалом ответы фотосинтеза, транспирации, дыхания



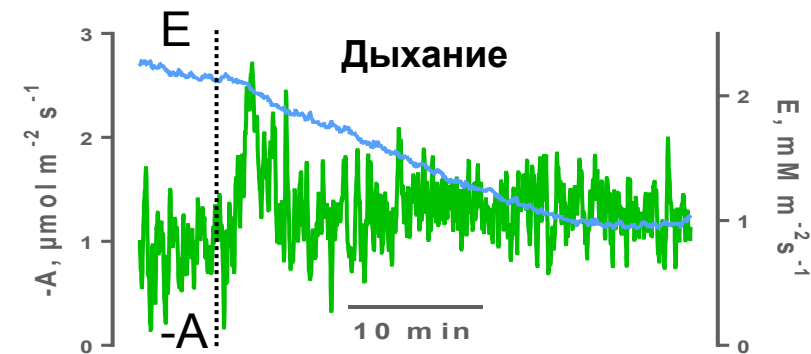
Индукцией
обозначен
момент
возникновения
ВП в листе



Индукцированные
переменным
потенциалом
изменения
ассимиляции и
транспирации



Индукцированные
переменным
потенциалом
изменения показателей
световой стадии
фотосинтеза



Индукцированные
переменным
потенциалом
изменения активности
дыхания и
транспирации

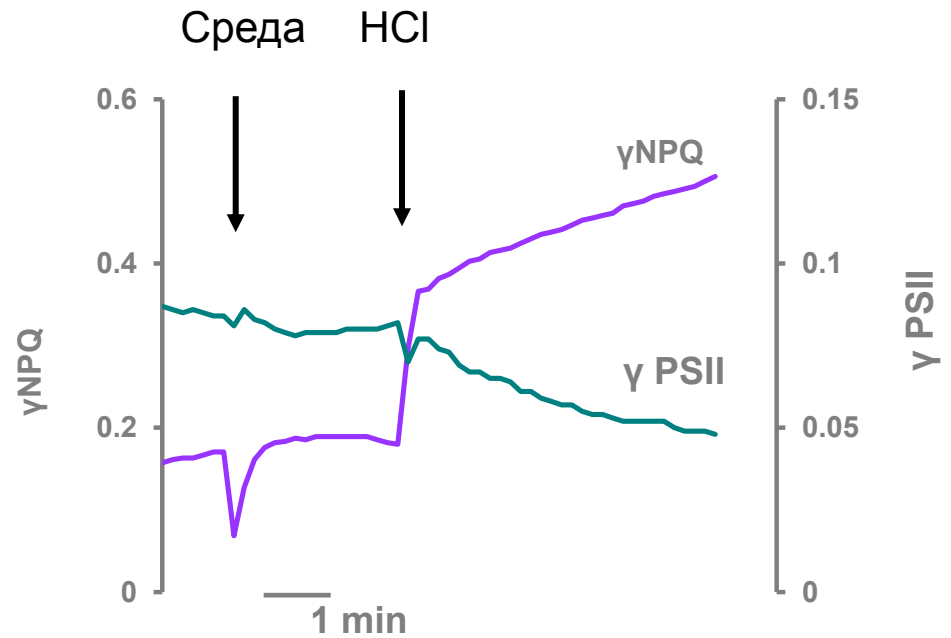
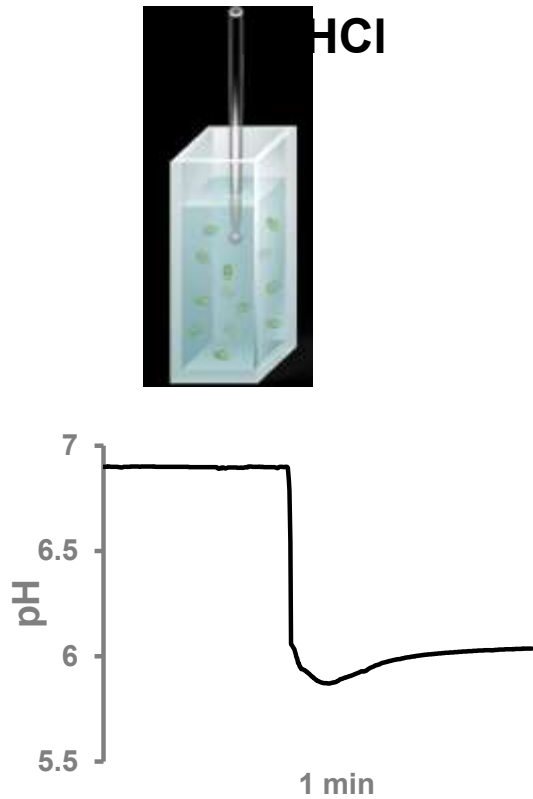


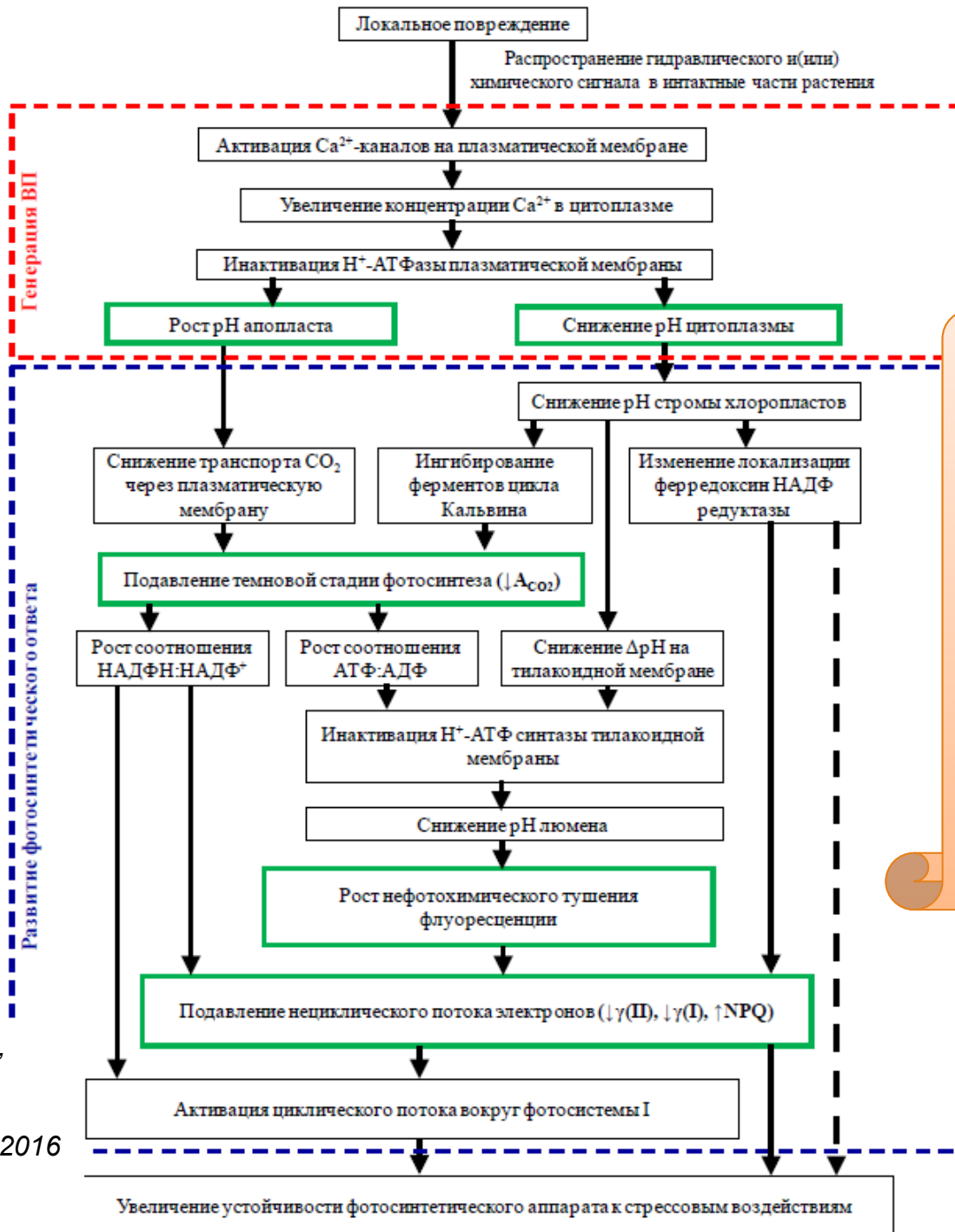
Функциональная роль

Преобразование сигнала в ответ



Индукированные сдвигом pH изменения активности фотосинтеза





Сухов Владимир
Сергеевич

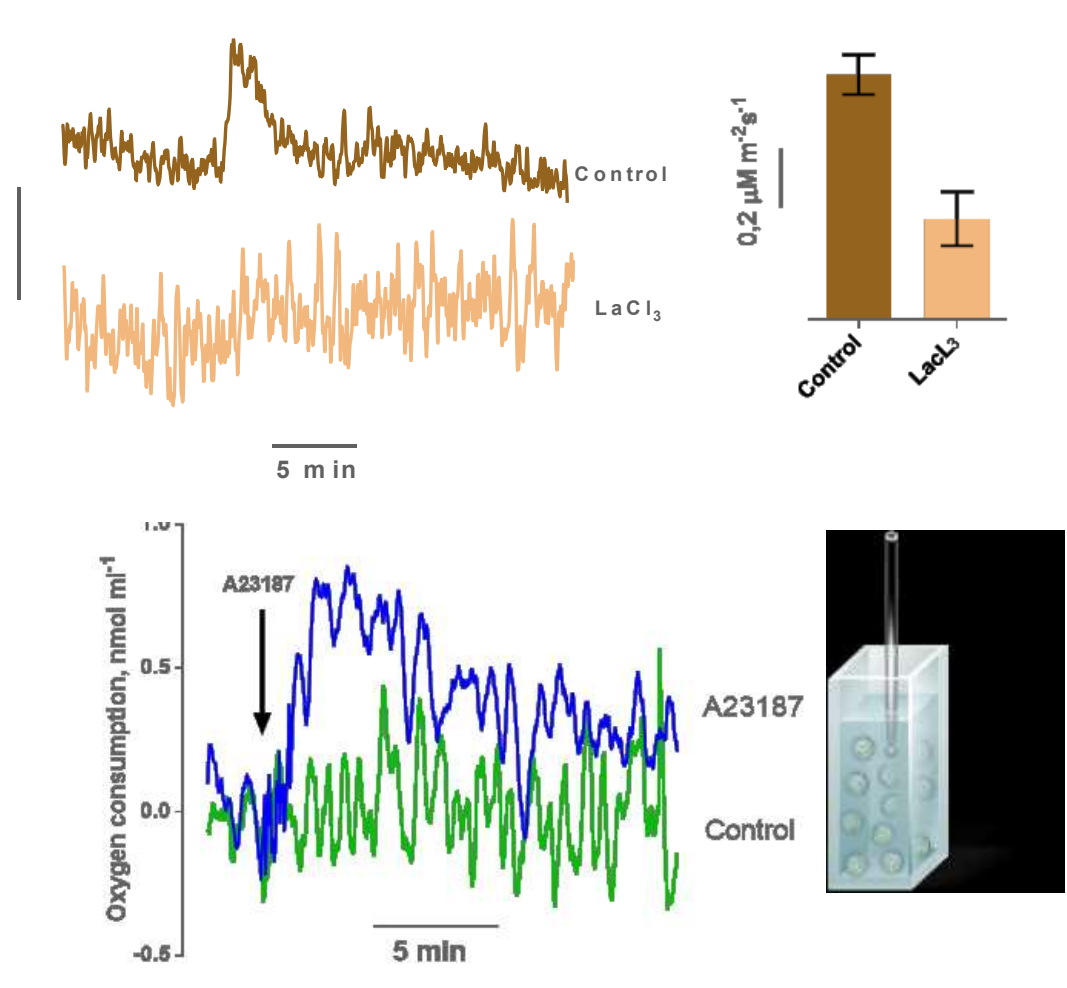
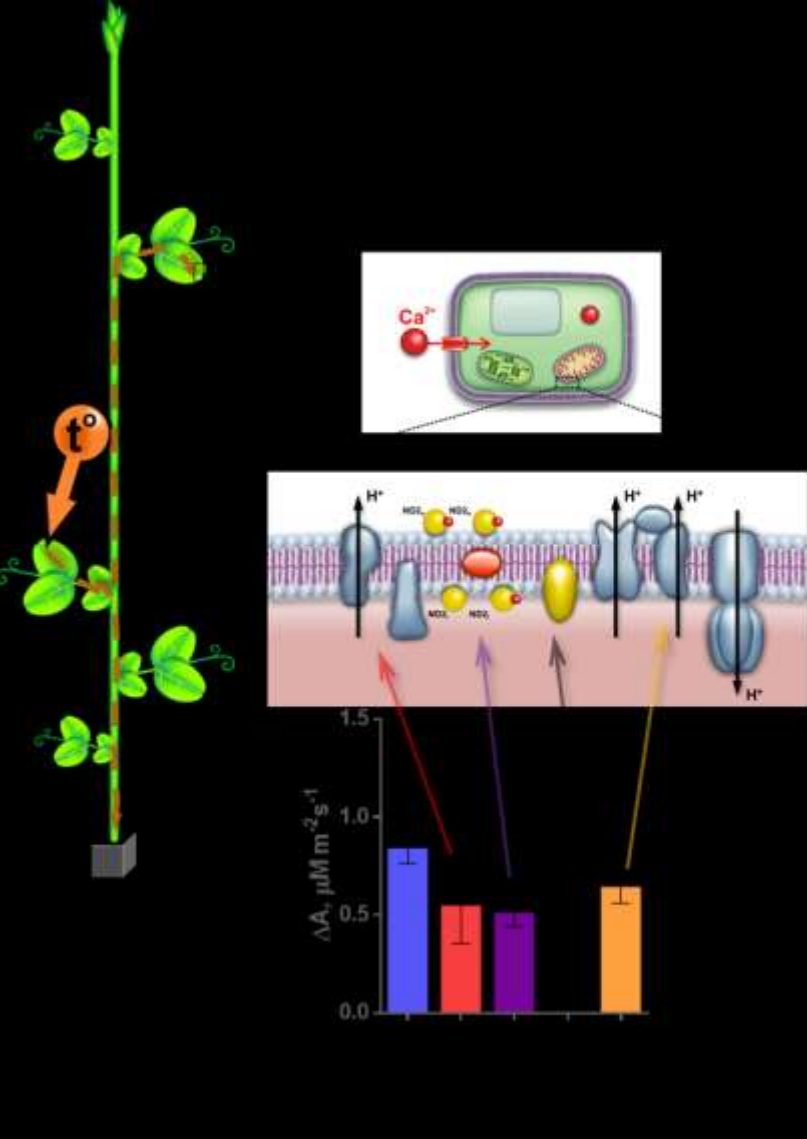
Воскресенье
22 сентября 9:40

Зал Достоевский

Sukhov et al. 2012, 2014,
2015, 2016, 2018
Surova et al. 2016
Шерстнева и др. 2015, 2016
Vodeneev et al 2018
Sukhova et al 2019



Механизм активации дыхания, индуцированной вариабельным потенциалом



Не происходит
активации транспирации

Вероятно, активация дыхания вызвана Ca^{2+} -зависимой активацией дегидрогеназ

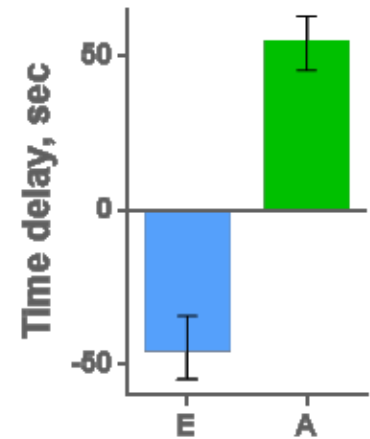
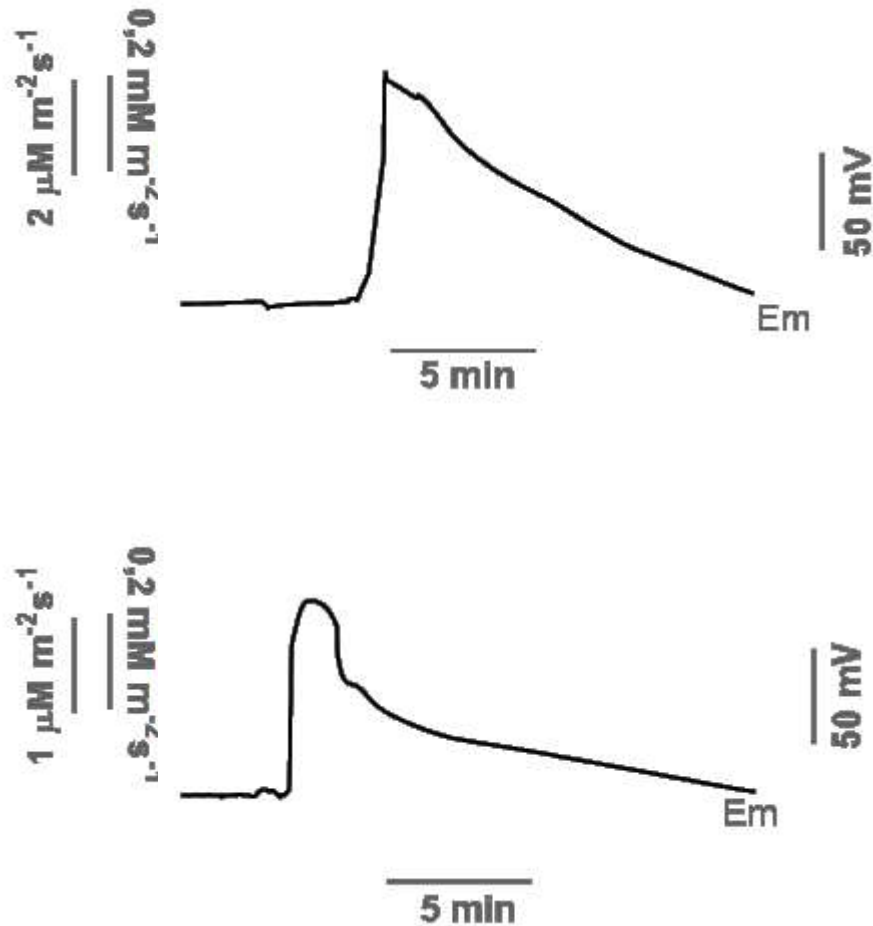
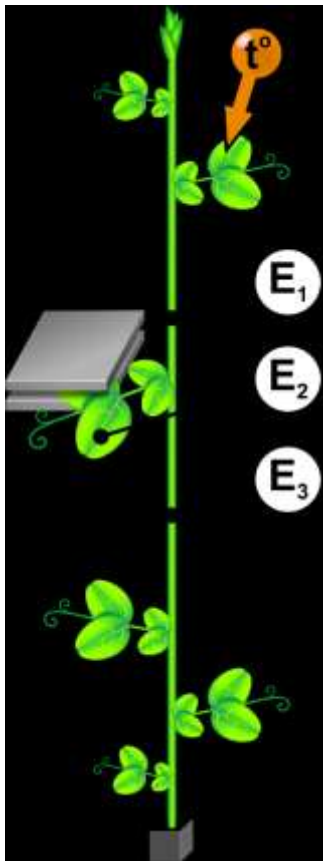


Функциональная роль

Роль сигналов различной природы



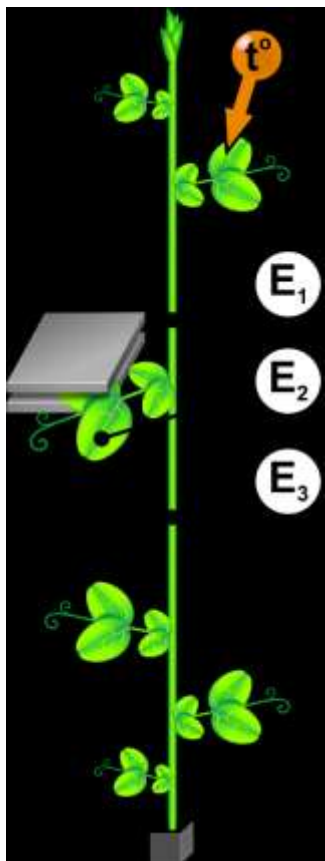
Роль различных сигналов в индукции функционального ответа, вызванного локальным стимулом



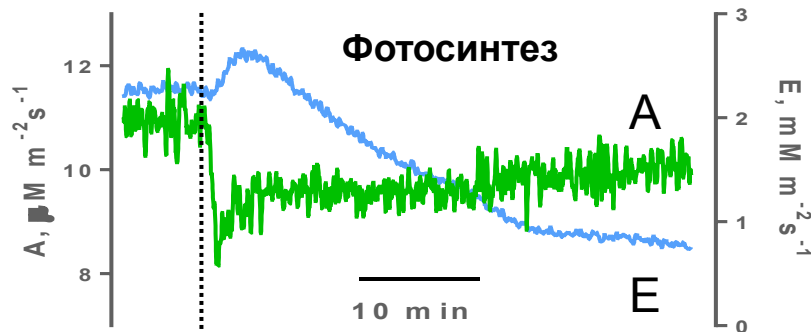
Ответ транспирации при локальном повреждении может быть вызван гидравлическим сигналом



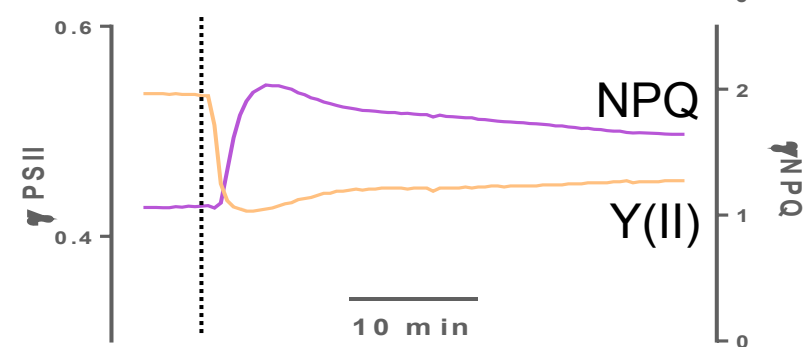
Индукцированные переменным потенциалом ответы фотосинтеза, транспирации, дыхания



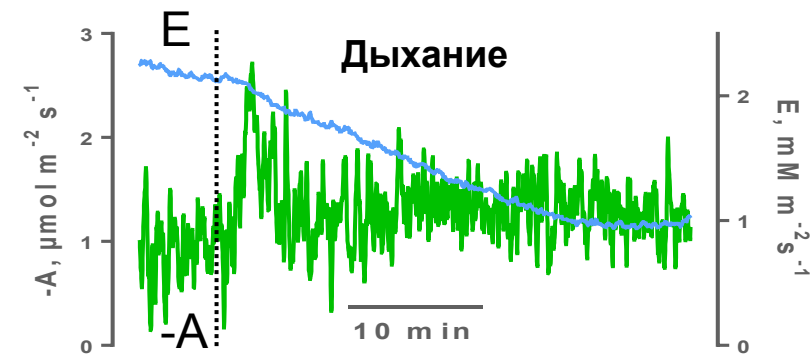
индикатором
обозначен
момент
возникновения
ВП в листе



Индукцированные
переменным
потенциалом
изменения
**ассимиляции и
транспирации**



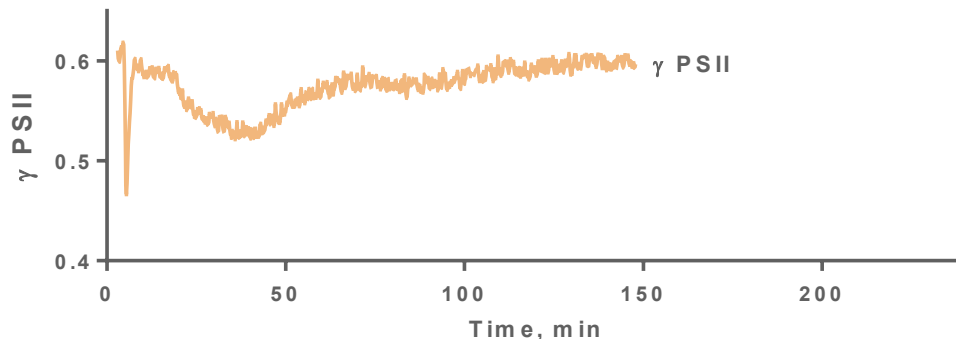
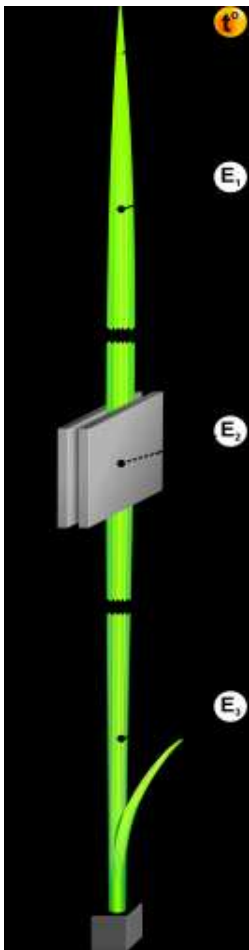
Индукцированные
переменным
потенциалом
изменения показателей
**световой стадии
фотосинтеза**



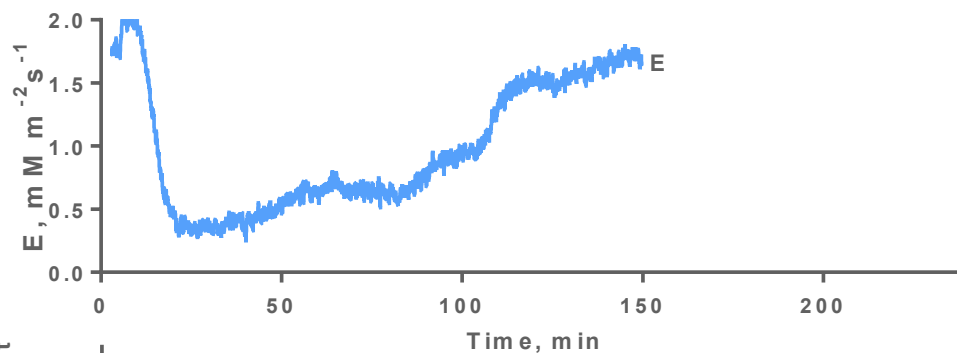
Индукцированные
переменным
потенциалом
изменения активности
**дыхания и
транспирации**



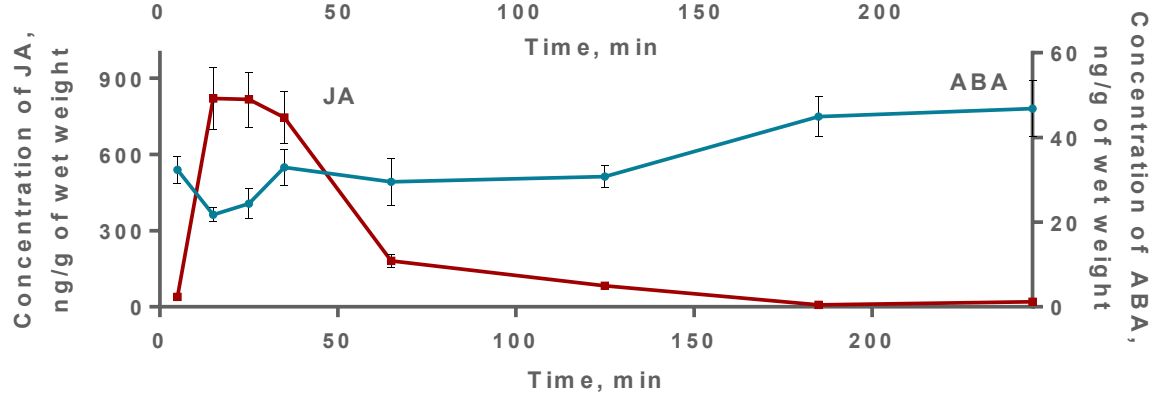
Роль различных сигналов в индукции функционального ответа, вызванного локальным стимулом



Динамика активности фотосинтеза



Динамика активности транспирации

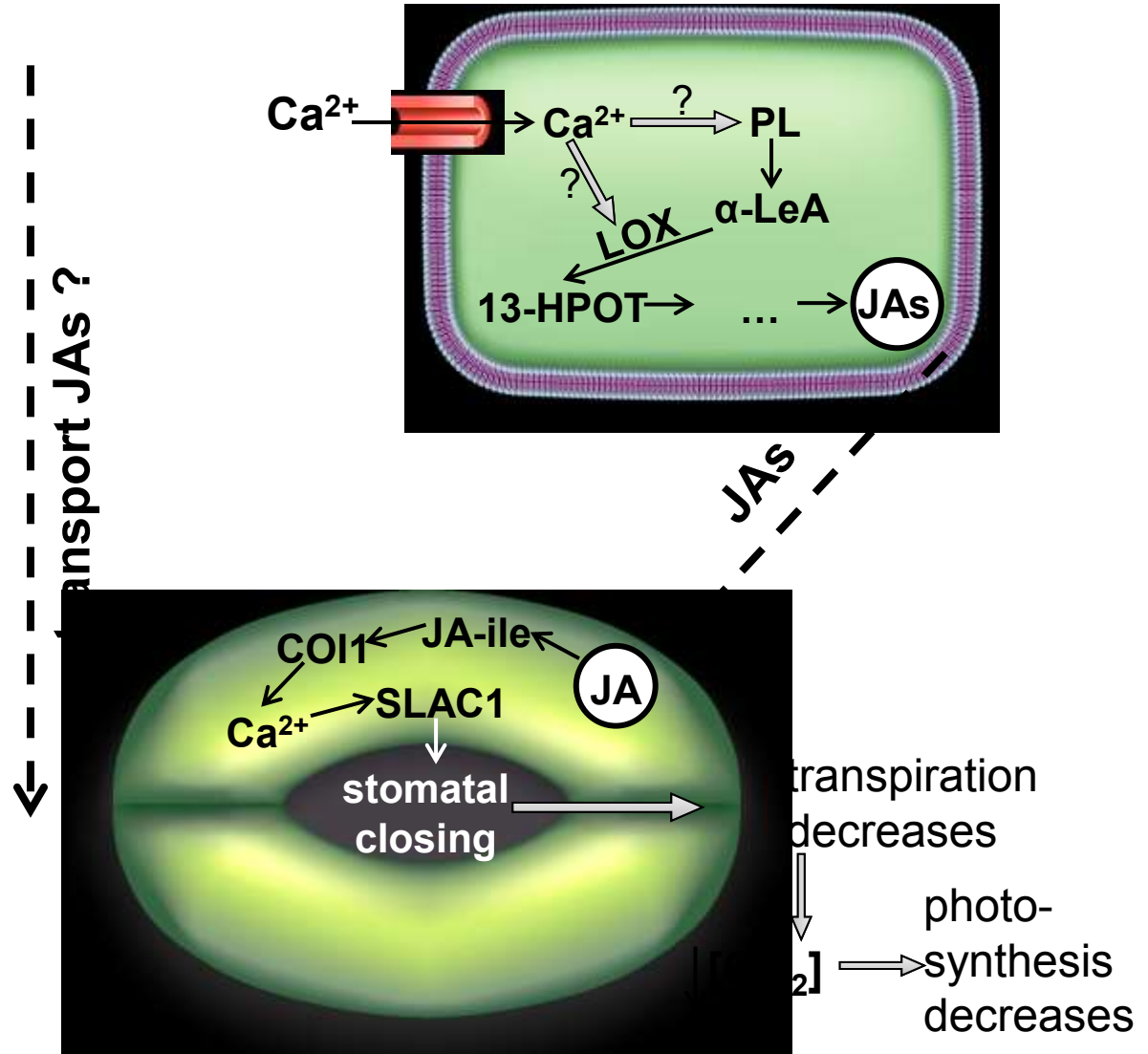
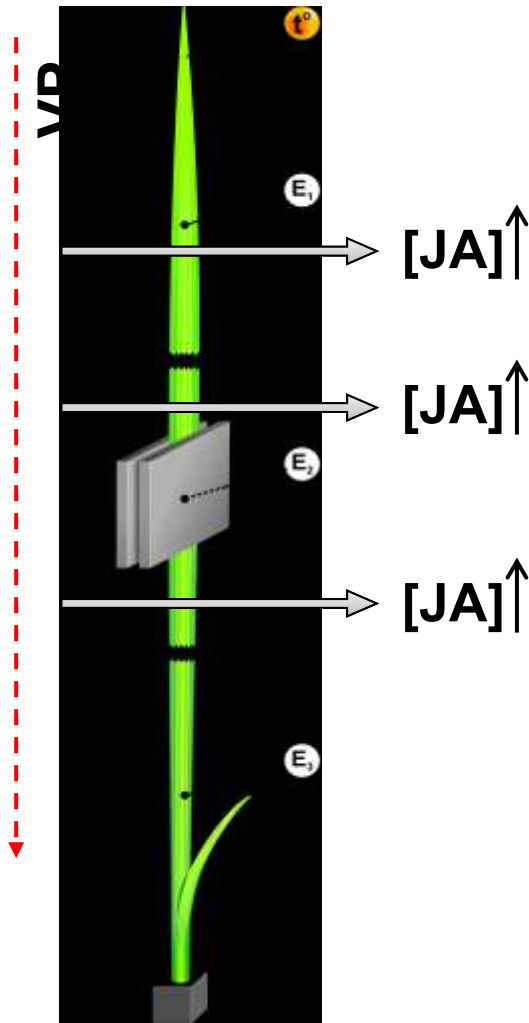


Динамика содержания фитогормонов

Вторая волна ответа фотосинтеза может быть индуцирована повышением уровня жасмонатов



Роль различных сигналов в индукции функционального ответа, вызванного локальным стимулом





Функциональная роль Специфичность ответов



Article

Current Biology

The Venus Flytrap *Dionaea muscipula* Counts Prey-Induced Action Potentials to Induce Sodium Uptake

Highlights

- Carnivorous *Dionaea muscipula* captures and processes nutrient- and sodium-rich prey
- Via mechano-sensor stimulation, an animal meal is recognized, captured, and processed
- Mechano-electrical waves induce JA signaling pathways that trigger prey digestion
- Number of stimulations controls the production of digesting enzymes and uptake modules

Authors

Jennifer Böhm, Sönke Scherzer, Elzbieta Krol, ..., Sergey Shabala, Erwin Neher, Rainer Hedrich

Correspondence

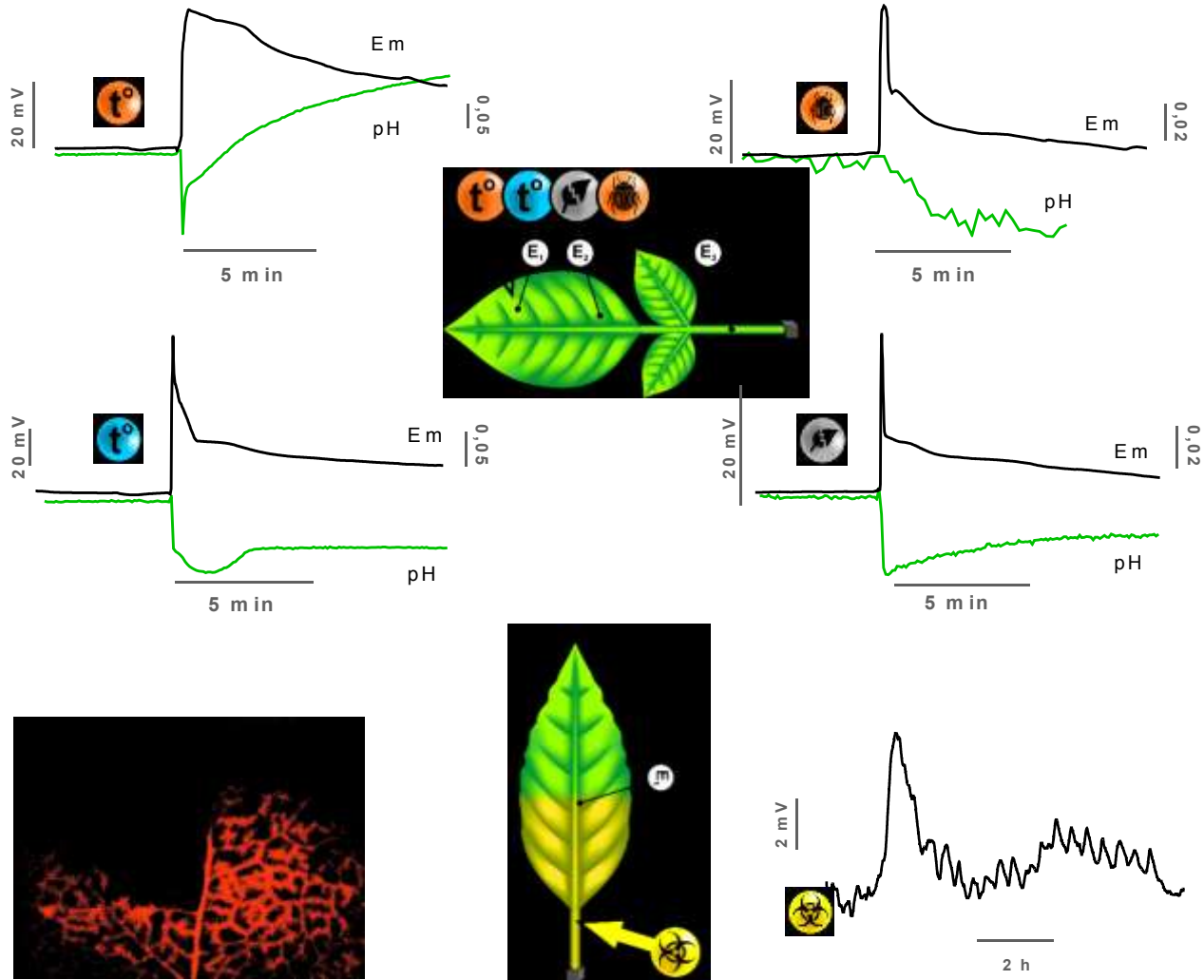
eneher@gwdg.de (E.N.),
hedrich@botanik.uni-wuerzburg.de (R.H.)

In Brief

Children are able to count at the age of 15–18 months. In this work, Böhm et al. demonstrate that the carnivorous Venus flytrap plant is able to count as well. The leaf tips develop into snap traps, where the number of contacts of the prey with mechano-sensitive trap initiates capturing and processing of the animal victim.

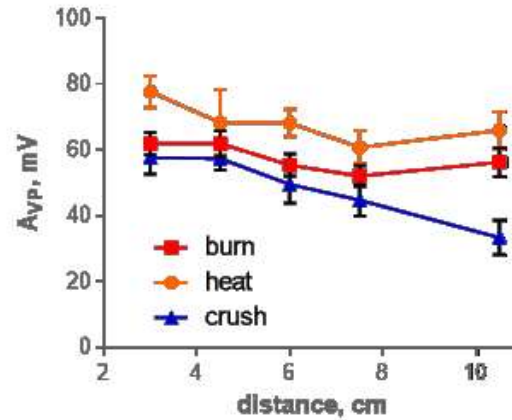
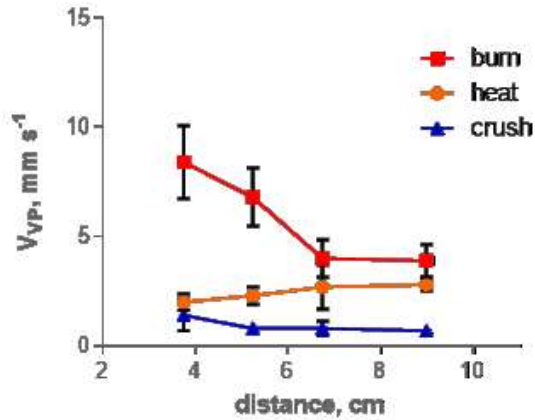
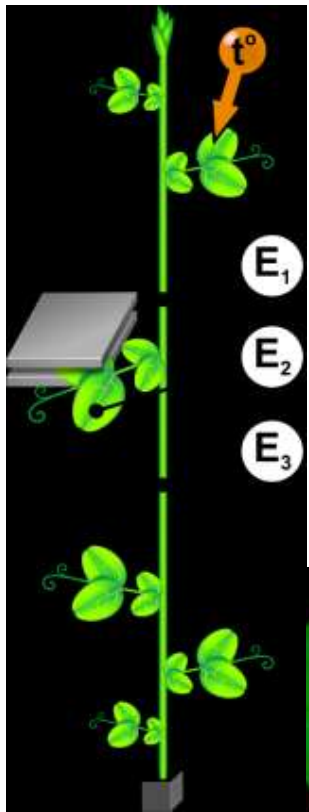


Специфичность системного ответа при действии раздражителей различной природы

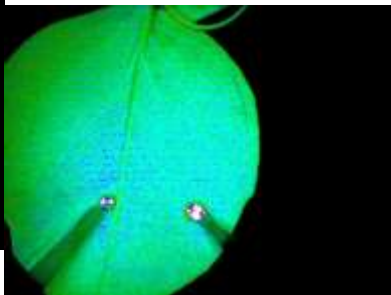




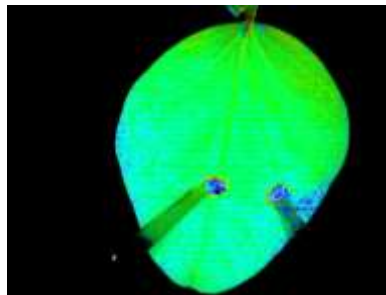
Специфичность системного ответа при действии раздражителей различной природы



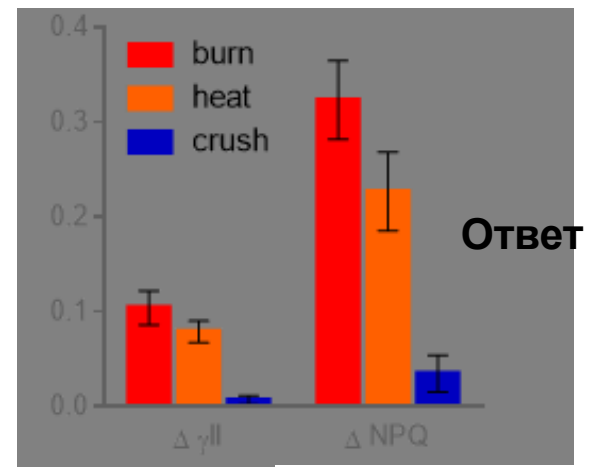
Сигнал



Нагрев



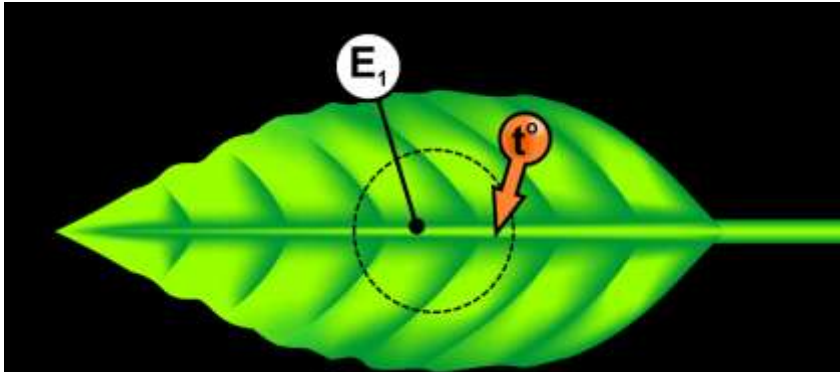
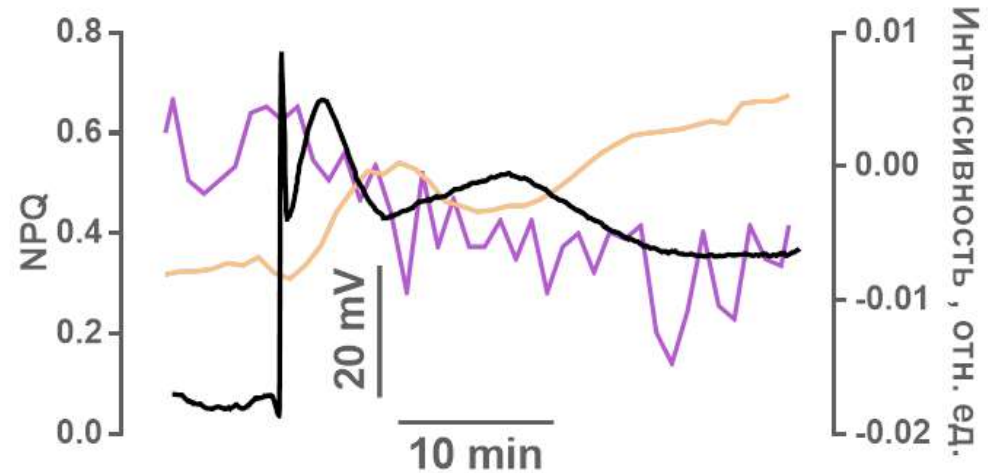
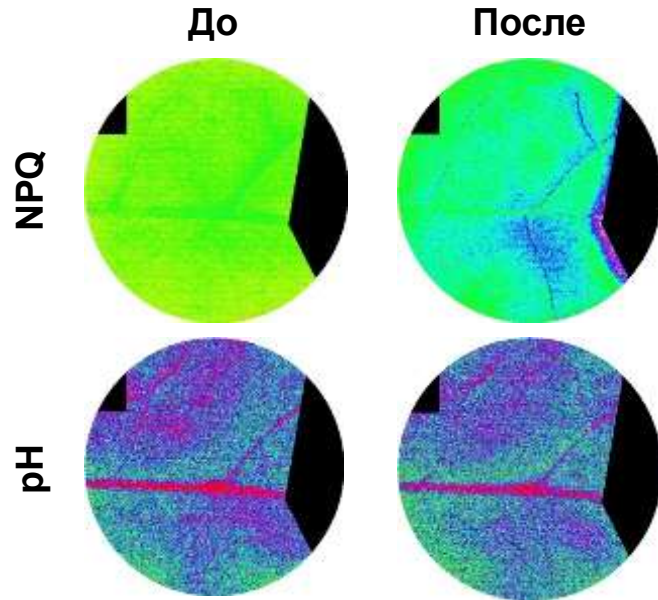
Ожог



Ответ



Пространственно-временное картирование электрического потенциала, pH и фотосинтеза



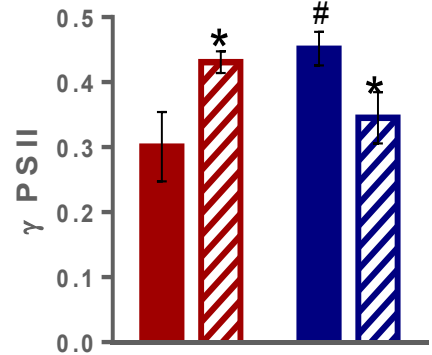
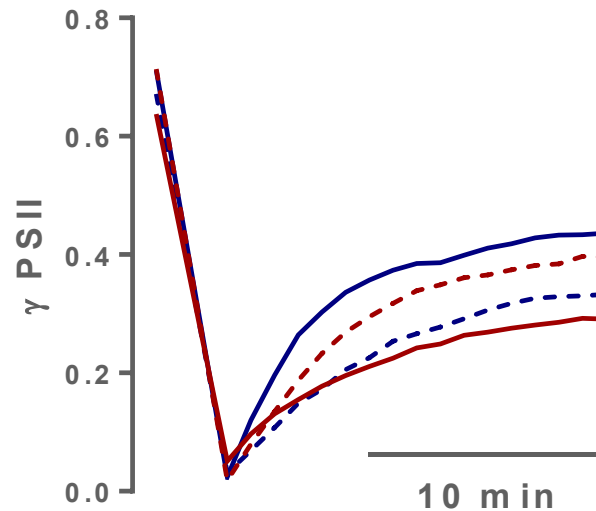
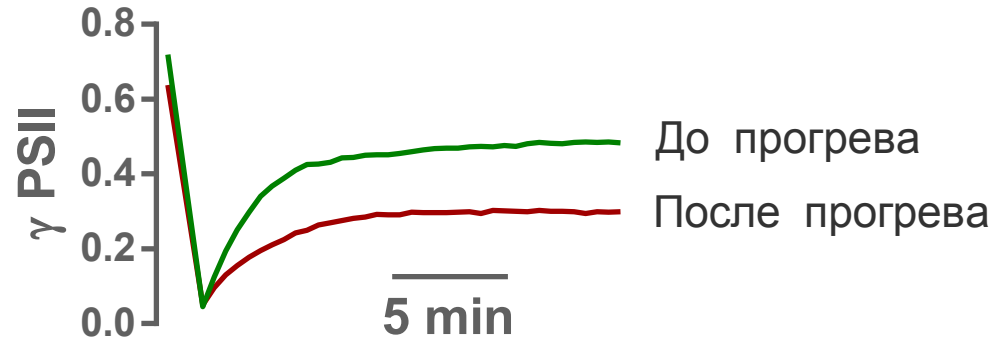
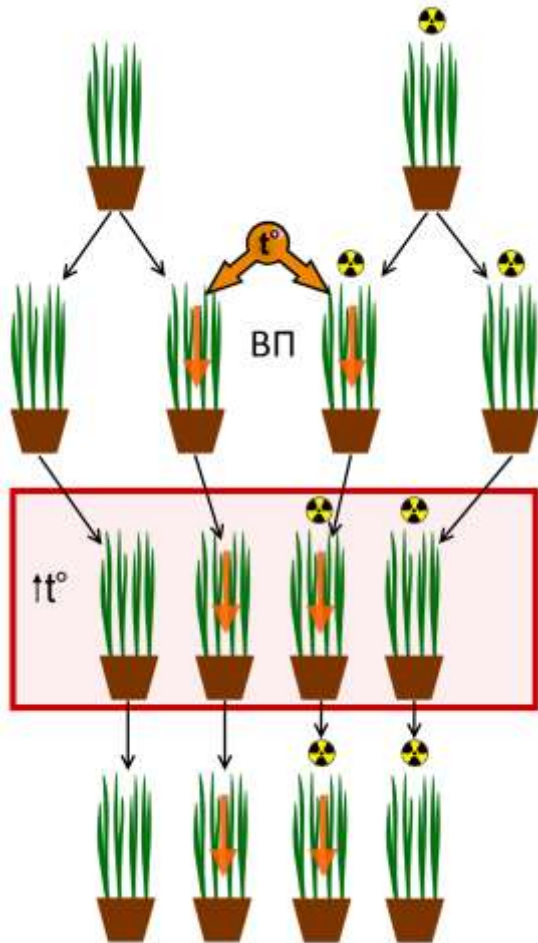
Одновременная регистрация
электрического сигнала, pH и
активности фотосинтеза



Функциональная роль Комбинированное действие факторов



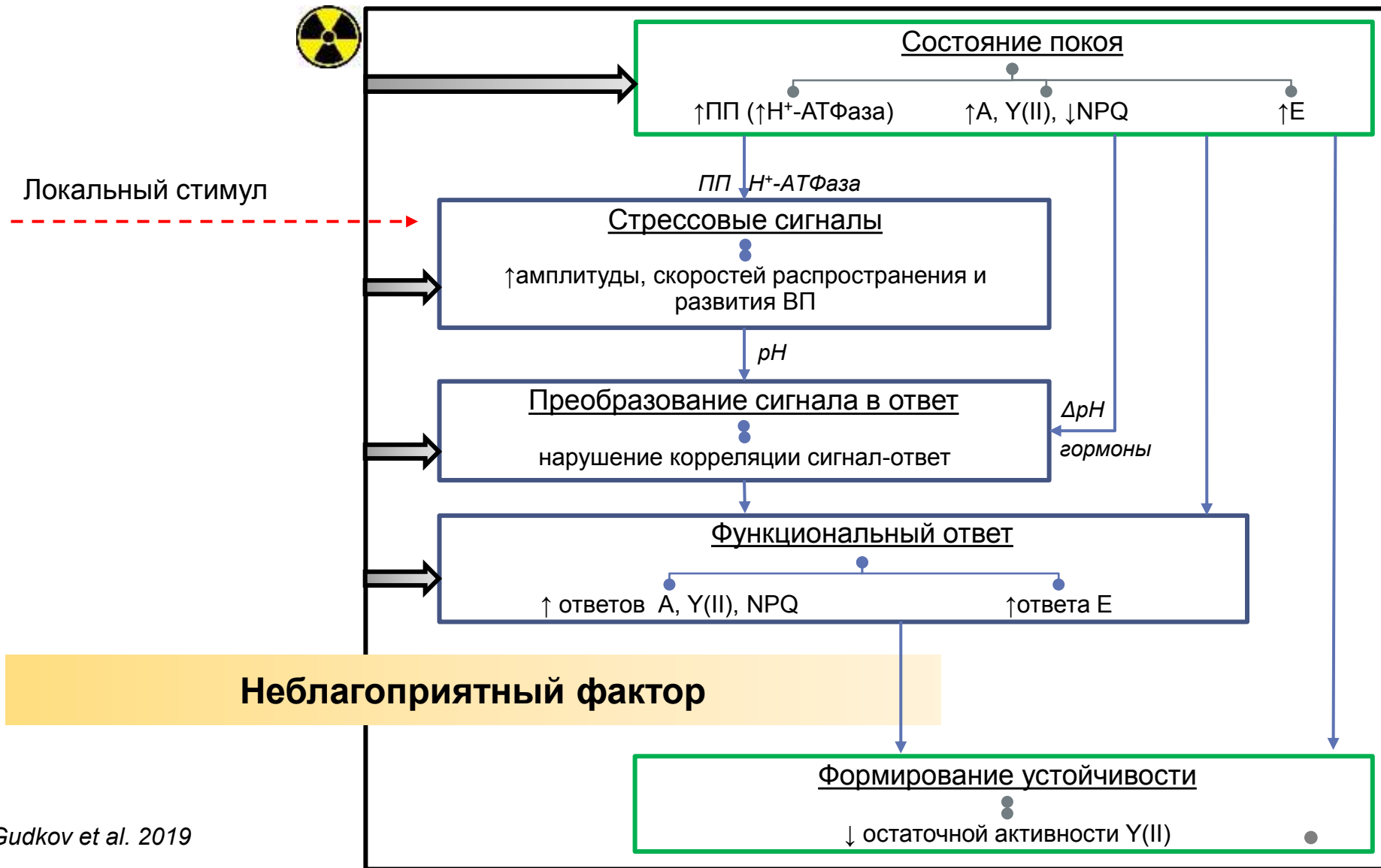
Комбинированное действие хронического и быстросрастающего факторов



— Контроль без ВП — ИИ без ВП
 - - - Контроль с ВП - - - ИИ с ВП



Комбинированное действие хронического и быстронарастающего факторов





Перспективы

- Взаимодействие дистанционных сигналов различной природы
- Пространственная неоднородность индуцированного дистанционными сигналами системного ответа
- Специфичность системного ответа при действии раздражителей различной природы. Информационная роль электрических сигналов
- Системные ответы в условиях комбинированного действия факторов

А как в естественных условиях произрастания?



К.б.н.
Сухов Владимир
Сергеевич



К.б.н.
Брилкина Анна Александровна



Гринберг
Марина
Антоновна



К.б.н.
Катичева Любовь Андреевна



Ладейнова
Мария
Михайловна



К.б.н.
Акинчиц
Елена
Константиновна



К.б.н.
Шерстнёва
Оксана
Николаевна



Морозова
Екатерина
Николаевна



Мудрилов
Максим
Андреевич



К.б.н.
Балалаева
Ирина
Владимировна



К.б.н.
Юдина
Любовь
Михайловна



Сухова
Екатерина
Михайловна



Хлопков
Андрей
Дмитриевич

Спасибо за внимание!