

КАЗАНСКИЙ (ПРИВОЛЖСКИЙ) ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

*Институт фундаментальной медицины и биологии*

*Кафедра физиологии и биохимии растений*

ПРАКТИКУМ ПО  
ФИЗИОЛОГИИ И БИОХИМИИ РАСТЕНИЙ  
ЭЛЕКТРОФИЗИОЛОГИЯ ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ  
(внеклеточное отведение)

*Учебно-методическое пособие*

КАЗАНЬ- 2013

**УДК 581.1**

*Печатается по решению Редакционно-издательского совета ФГАОУВПО  
«Казанский (Приволжский) федеральный университет»*

*учебно-методической комиссии Института фундаментальной  
медицины и биологии*

*Протокол № 1 от 21 марта 2013 г.*

*заседания кафедры физиологии и биохимии растений*

*Протокол №2 от 21 марта 2013 г.*

*Составитель: канд. биол. наук, доцент В.Н. Воробьев*

*Рецензент*

*д.б.н, проф., зав. каф. биоэкологии И.И. Рахимов*

Практикум по физиологии и биохимии растений. Электрофизиология высших растений (внеклеточное отведение): Учебно-методическое пособие /В.Н. Воробьев.- Казань: Казанский университет, 2013 – 32 с.

Настоящее учебно-методическое пособие является частью содержания практикума по физиологии и биохимии растений, проводимого на кафедре физиологии и биохимии растений. В пособии рассмотрены основные виды биоэлектрической активности клеток высших растений. Изложены методы внеклеточного отведения для регистрации биоэлектрических реакций, таких как тканевой потенциал, потенциал действия и его распространение, переменный потенциал и светозависимая биоэлектрическая активность.

Пособие предназначено для студентов, бакалавров, магистров и аспирантов, изучающих биоэлектрическую активность высших растений.

©Казанский университет, 2013

©Воробьев В.Н., 2013

## ВВЕДЕНИЕ.

К числу наиболее удивительных свойств живых клеток, несомненно, следует отнести их способность генерировать биоэлектрические потенциалы. Обнаруженное в середине прошлого столетия биоэлектричество привлекло к себе внимание исследователей самых разных направлений физиков, физико-химиков, биологов. Изучение биоэлектрических явлений приобрело многоплановый характер. Одним из существенных направлений, получивших развитие, явилось изучение биоэлектrogenеза – непосредственных причин, лежащих в основе генерации биоэлектрических потенциалов. Очевидно, что без знания механизмов возникновения электрических потенциалов в клетке невозможно в полной мере оценить их роль в различных функциях клеток, тканей и организма в целом.

Если механизм биоэлектrogenеза у животных к настоящему времени изучен достаточно полно, то в отношении растений этого нельзя сказать. Большая часть исследований в электрофизиологии растений выполнена на гигантских клетках харовых водорослей. Хотя водоросли могут рассматриваться как обобщенная модель растительной клетки, им, несомненно, присущи и специфические особенности, отличающие их от высших растений. Поэтому анализ природы и закономерностей биоэлектрических потенциалов у растений представляется весьма актуальным.

К сожалению, при работе с высшими растениями многие методические подходы, обеспечивающие успех в решении многих вопросов биоэлектrogenеза у животных (микроэлектродная техника, метод фиксации напряжения, пэтч-клямп метод и др.), часто оказываются трудно применимыми из-за сложной структуры отдельных органов растений. Вместе с тем результаты исследований все более убеждают в том, что процесс генерации биопотенциалов, как у животных, так и у растений не только сопровождает те или иные жизненно важные процессы, но играет нередко ключевую роль в их протекании.

По крайней мере, три аспекта представляются наиболее важными в этом отношении.

Во-первых, роль биоэлектрических потенциалов в протекании энергетических превращений. Стало очевидным, что разности биоэлектрических потенциалов на мембранных структурах животных и растительных клеток являются наряду с АТФ обобщенной формой конвертируемой энергии. Речь идет о биоэлектрических потенциалах внутриклеточных мембранных систем и плазмалеммы. Здесь энергия электрического поля, напряженность которого весьма высока, используется при совершении осмотической, механической и других видов работ. Поэтому нередко для характеристики степени энергизованности клетки используют величину ее мембранного потенциала.

Во-вторых, роль биоэлектрических потенциалов в регуляции клеточных процессов. Так, хорошо известно, что величина электрического поля на мембране регулирует состояние ряда ионных каналов и активность некоторых ферментов. Под контролем разности мембранных потенциалов находятся сами системы, ответственные за биоэлектrogenез растительных клеток (например  $K^+$ -АТФаза,  $H^+$ -АТФаза) (Оприлов, 2000).

В-третьих, сигнальная роль биоэлектрических потенциалов, которая в наиболее совершенной форме представлена в нервах животных, имеет место также и у других живых объектов, в том числе у высших растений. Появляется все больше фактов, которые подтверждают идеи, выдвинутые в начале XX в. Выдающимся индийским ученым Боссом, о том, что в ответ на внешнее воздействие у растений могут генерироваться биоэлектрические импульсы, по природе во многом сходные с потенциалами действия нервных волокон. Изучение этих импульсов у растений представляется особенно важным в связи с сравнительно-эволюционной оценкой процесса распространяющегося возбуждения и выяснением природы быстрых функциональных связей между отдельными органами растительного организма.

Генерация биоэлектрических потенциалов у высших растений обладает не только чертами сходства с таковой у животных, но характеризуется и рядом специфических особенностей (Оприлов и др., 1996б).

В настоящем пособии студентам предлагается опытным путем подтвердить наличие электрического мембранного потенциала, различных биоэлектрических реакций в ответ на внешнее воздействие у высших растений. Основная часть пособия посвящена экстраклеточному отведению

биопотенциалов, так как данный метод не требует специальной подготовки и относительно прост в исполнении.

## МЕТОДИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕРЕНИЯ ПОТЕНЦИАЛОВ ПОКОЯ КЛЕТОК ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ.

Биоэлектрическая активность клеток высших растений в покое может быть измерена, как у животных объектов, различными методами. Это, прежде всего внутриклеточное и внеклеточное отведение биоэлектрической активности. Мембранный потенциал покоя ( $E'_m$ ) - это разность потенциалов между внешней и внутренней сторонами мембраны.

**Внутриклеточное измерение.** Измерение  $E'_m$  клеток высших растений посредством микроэлектродной техники, несмотря на большой прогресс, достигнутый в ее совершенствовании, до сих пор представляет собой весьма непростую задачу. Дело в том, что клетки высших растений наряду с жесткой клеточной стенкой и высоким тургорным давлением, характерным и для клеток харовых водорослей, имеют, в отличие от последних, очень небольшие размеры. В этой связи удачное введение микроэлектрода в клетку высшего растения, позволяющее осуществить достаточно длительный эксперимент (в течение часа и более), требует от исследователя значительного навыка работы с такими клетками.

Микроэлектроды, используемые для измерения  $E'_m$  клеток высших растений изготавливают обычно из стекла «Пирекс». Диаметр кончика электрода, с учетом малых размеров клеток, не должен превышать 1 мкм. Микроэлектроды с большим диаметром при введении, как правило, сильно повреждают клетки высших растений.

Введение микроэлектродов осуществляют с помощью микроманипулятора под углом  $30-60^\circ$  к плоскости объекта (речь чаще всего о поверхности среза) и при визуальном контроле через микроскоп с большим увеличением (200 и более). Горизонтальное и вертикальное введение микроэлектрода в растительную ткань осуществляется в «слепую» и используется гораздо реже. Число повторных введений одного и того же микроэлектрода, учитывая большую вероятность притупления или слома его

кончика о жесткую клеточную стенку, должно быть минимальным. Для предотвращения попадания содержимого обладающих тургором клеток в канал введенного микроэлектрода последний заполняют гелем. С этой целью электролит (например KCl 3M), предназначенный для заполнения электрода, может быть приготовлен на 2% агаре.

Измерение мембранного потенциала клеток высших растений производят по отношению к водной среде окружающей клетки в экспериментальной кювете. В это связи некоторые авторы, работающие с наземными высшими растениями, отмечают, что водная среда не является естественным условием обитания, например, для клеток поверхностных тканей листьев и стремятся использовать методические приемы, позволяющие свести к минимуму число контактирующих клеток с внешней водной средой. Однако, измеряемые при этом потенциалы покоя и их регистрация в ответ на действие различных химических агентов, судя по всему, ничем не отличается от таковых в экспериментах с традиционной методикой (Оприлов и др., 1991).

Регистрацию измеряемых мембранных потенциалов клеток высших растений осуществляют обычно на специальной регистрирующей аппаратуре с высоким входным сопротивлением, которое превышает сопротивление микроэлектрода более чем в 100 раз. Величина измеряемых мембранных потенциалов в большой мере зависит от степени шунтирования микроэлектродом таких клеточных мембран как плазмалемма и тонопласт.

Следует отметить, что помимо мембранного потенциала с помощью микроэлектродной техники могут быть также исследованы такие электрические характеристики мембран клеток высших растений, как омическое сопротивление, вольт-амперная характеристика и другие. Методом петч-клямп, получившим большое распространение в последнее время, в опытах на изолированных протопластах и вакуолях клеток высших растений при использовании микроэлектродов в качестве микроприсосок осуществляется анализ проводимости одиночных ионных каналов.

**Внеклеточное измерение.** Принцип внеклеточной регистрации биоэлектрической активности клеток высшего растения в покое основан на симпластической природе электрической полярности данного объекта. При этом разность потенциалов  $\Delta U_{1,2}$  между двумя точками поверхности, например, стебля растения, может быть описана уравнением

$$\Delta U_{1,2} = \frac{r}{r_1 + r_2 r} (E_{m1} + E_{m2}) + \Delta\varphi \quad (1)$$

где  $r_1$  – сопротивление внешней среды;  $r_2$  – сопротивление симпласта;  $E_{m1}$  и  $E_{m2}$  – мембранные потенциалы симпласта в точках 1 и 2;  $\Delta\varphi$  – вклад апопласта в электрическую полярность объекта (обычно не существенен). Из уравнения 1 следует, что измеряемая внеклеточная разность потенциалов позволяет в той или иной степени судить лишь об изменениях мембранного потенциала клеток высшего растения в зоне отведения (например под влиянием какого-либо воздействия), но не о стационарных уровнях мембранного потенциала.

Типичным примером внеклеточно-регистрируемой разности потенциалов может служить так называемый биоэлектрический тканевой потенциал. Он возникает между апикальным и базальным концами отрезка стебля или корня высшего растения при воздействии на один из них (обычно апикальный) каким-либо фактором. При этом показательно, что исходно разность потенциалов между концами такого отрезка отсутствует или не превышает  $\pm 10$  мВ.

Внеклеточное отведение разности потенциалов в покое может осуществляться как от одного высшего растения, так и одновременно от целой группы растений (при одном канале измерения). В последнем случае регистратор запишет усредненное значение разности потенциала всей использованной совокупности растений, что весьма существенно для получения статистически значимого результата, особенно при экспресс-анализе (Орлов и др., 2009).

Для внеклеточного отведения чаще всего применяют неполяризующиеся микроэлектроды (каломельные и хлорсеребряные). Могут использоваться, в частности, вспомогательные электроды, предназначенные для рН-метрических измерений. На такие электроды, заполненные насыщенным раствором КСl, надевают переходные насадки со смоченными слабым ионным раствором (водопроводная вода, 0.1% КСl, искусственная прудовая вода и т.д.) фитильками из ваты, марли, шерсти или асбеста. Они служат для обеспечения «мягкого» контакта с поверхностью растения, смачивания зоны контакта и

предотвращения неблагоприятного воздействия на клетки растения, вытекающего из электродов электролита.

***Определение разности биоэлектрического тканевого потенциала методом внеклеточного отведения между корнем и гипокотелем.***

Способность к генерации электрических потенциалов (биоэлектрогенез) является универсальным свойством живых систем (Оприлов и др., 1991). У растений биоэлектрогенез тесно связан с транспортом ионов через плазматическую мембрану, фотосинтезом (Булычев, 1989), дыханием (Bulychev, Vredenberg, 1995) и многими другими процессами, протекающими в растительном объекте. Зависимость растительного биоэлектрогенеза от метаболизма открывает возможность применения показателей процессов электрогенеза для оценки состояния растения, в том числе – его устойчивости к действию неблагоприятных факторов.

В литературе имеются работы, обосновывающие использование потенциалов покоя (а также обусловленных ими показателей, включая разность потенциалов (РП) между участками растения) и потенциалов возбуждения для оценки устойчивости растительных объектов к действию стресс-факторов (Stahlberg, 2006). Однако относительно слабо изученной остается возможность применения РП в качестве показателя устойчивости растений к действию тех или иных стресс-факторов при исследовании влияния на такую устойчивость различных модулирующих условий.

Разность потенциалов между корнем и побегом может быть использована в качестве показателя солеустойчивости проростков пшеницы. Можно предположить, что связующим звеном между изменениями РП и солеустойчивостью (которая, вероятно, отражает возрастание неспецифической устойчивости растения) служит величина энергизации клетки. В пользу этого предположения свидетельствует, с одной стороны, сильная зависимость потенциала покоя растений от метаболизма, в частности от энергизации (Allakhverdiev et al., 2005), благодаря чему метаболические процессы могут оказывать значительное влияние и на РП, а с другой – показанное в ряде работ положительное влияние возрастания содержания



АТФ на устойчивость растительных объектов к действию стресс-факторов (Сухов и др., 2005).

*Цель:* Определить разность электрических потенциалов ( $\Delta U$ ) между гипокотелем и корнем гороха в норме и при действии хлорида натрия.

*Оборудование:* рН-метр-иономер Эксперт 001, раствор хлорида натрия (1М), хлорсеребряные электроды, ватный тампон, проростки гороха, штатив и зажимы для закрепления объектов исследования, скотч для фиксации электрода.

*Ход работы.*

С помощью предварительно нарезанных полосок скотча, через ватный тампон, смоченный водопроводной водой, проросток гороха закрепляют на электродах (см. рис. 1).

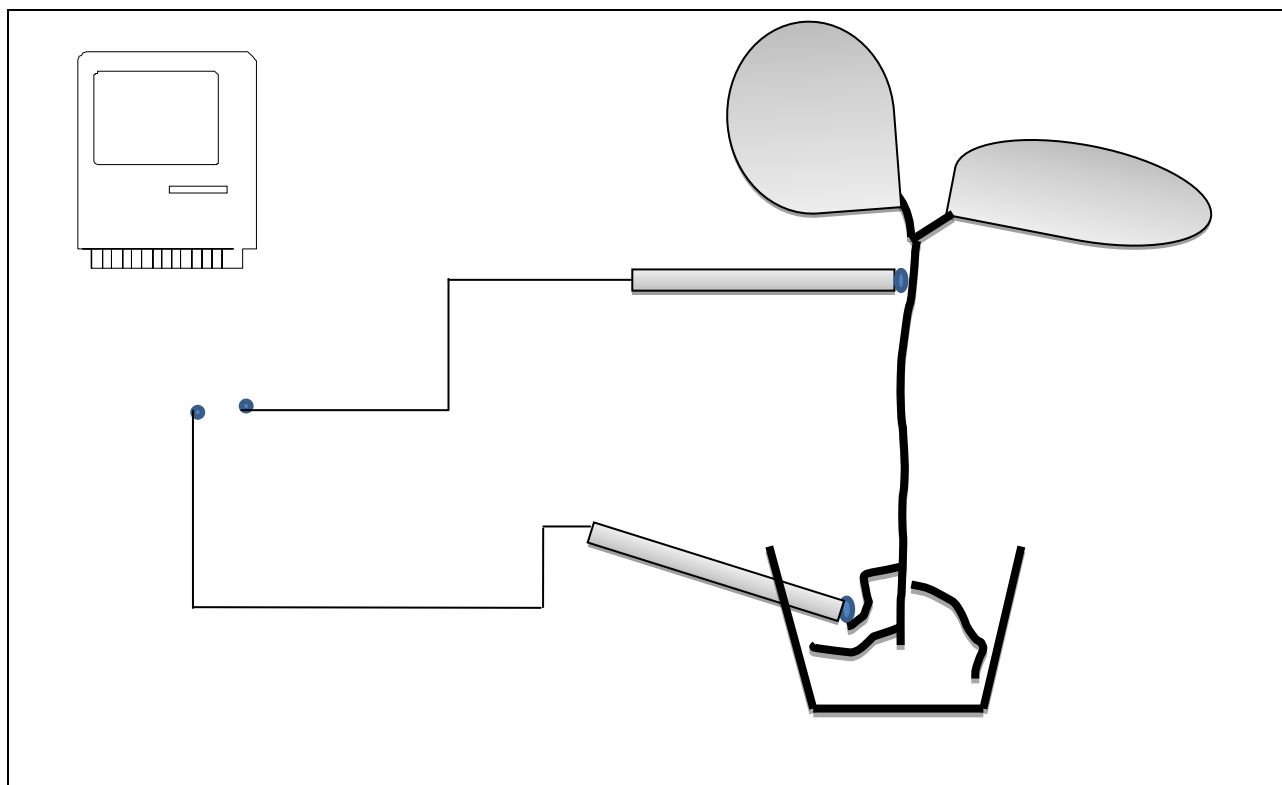


Рис. 1. Схема закрепления электродов для измерения РП.

Для определения разности потенциалов прибор рН-метр-иономер Эксперт 001 переводят в рабочее положение. Выбрав режим измерения потенциалов – нажать «измерение» на экране появятся данные характеризующие разность потенциалов между электродами.

Результат измерения фиксируют. После установления стабильного показателя (mV) в емкость с корнями добавляют 10 мл 1 М раствор NaCl и с

интервалом в 5 минут фиксируют показания разности потенциалов (РП). По результатам исследования строят график зависимости РП от времени нахождения корней в растворе хлорида натрия.

***Определение биоэлектрического тканевого потенциала методом внеклеточного отведения.***

*Цель:* Определить разность электрических потенциалов ( $\Delta U$ ) между апикальным и базальным концами стебля проростка гороха при различных расстояниях между электродами.

*Оборудование:* рН-метр-иономер Эксперт 001, хлорсеребряные электроды, ватный тампон, проростки гороха, штатив и зажимы для закрепления объектов исследования, скотч для фиксации электрода.

*Ход работы.*

С помощью предварительно нарезанных полосок скотча, через ватный тампон, смоченный водопроводной водой, проросток гороха закрепляют на электродах (см. рис. 2). В первом варианте на расстоянии 1 см, во втором – 2 см, в третьем – 3 см, в четвертом – 4 см. Результаты измерений заносят в табл.1, сравнивают и на их основании делают вывод о зависимости  $\Delta U$  от расстояния между электродами.

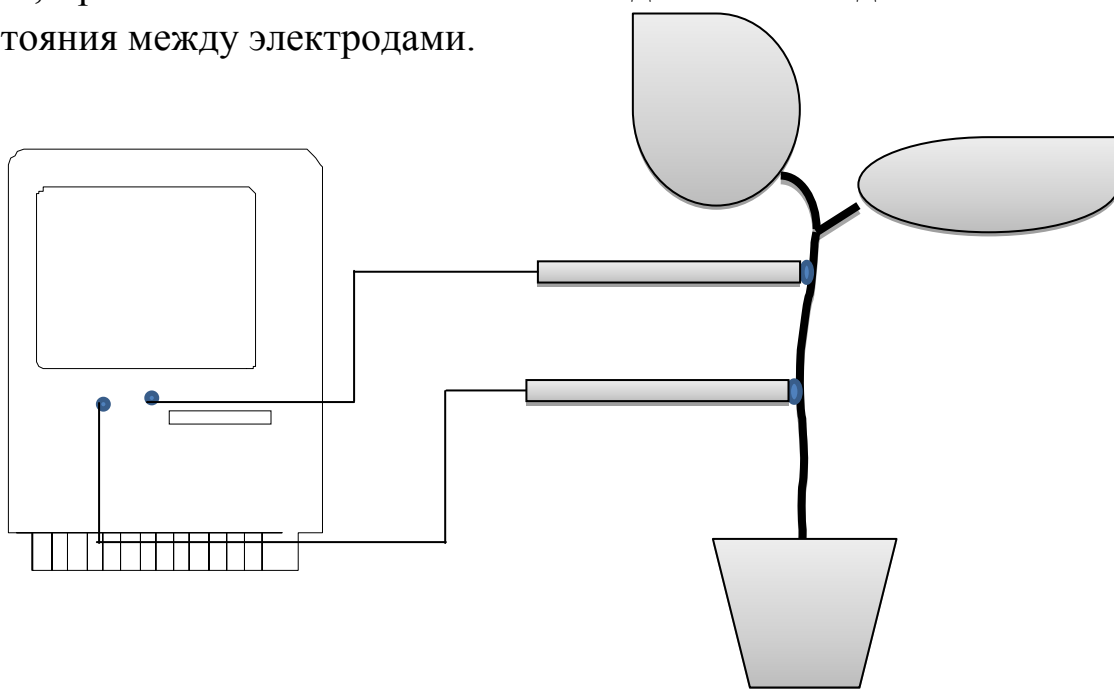


Рис. 2. Схема закрепления электродов на стебле.

Для определения  $\Delta U$  прибор рН-метр-иономер Эксперт 001 переводят в рабочее положение. Выбрав режим измерения потенциалов – нажать «измерение» на экране появятся данные характеризующие разность потенциалов между электродами.

$\Delta U$	Расстояние между электродами
	1 см
	2 см
	3 см
	4 см

*Контрольные вопросы:*

1. На чем основан принцип внеклеточной регистрации биопотенциалов?
2. Каким уравнением описывается разность потенциалов между двумя точками поверхности?
3. Какие электроды используют при измерении разности потенциалов?

## ТИПЫ ИМПУЛЬСНОЙ ЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ У ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ

Импульсная электрическая активность является одним из характерных свойств живой ткани. Условия, которые изменяют физиологическое состояние ткани, способны вызывать не только изменение уровня стационарного мембранного потенциала, но и переходные релаксационные процессы. Как правило, форма колебаний мембранного потенциала возникающих при этом, резко отличается от гармонических колебаний. Отсюда термин «импульсная электрическая активность».

Связанная в определенной степени с физиологическими процессами импульсная электрическая активность растений не является пассивным их отражением. Она играет самостоятельную роль, передавая сигналы об изменениях в окружающей среде вызывая ответ на эти изменения. Важная

роль в жизнедеятельности высших растений принадлежит самопроизвольным отклонениям биопотенциалов от среднего уровня. Такого типа микрофлуктуации являются триггерами самоорганизации, определяющими поведение макросистем при выборе возможных стационарных состояний. В последнее время наблюдается тенденция к активному исследованию данного вида спонтанной импульсной электрической активности с целью выяснения ее физиологической значимости.

До настоящего момента не существует четкой и полной классификации импульсной электрической активности в тканях и клетках высших растений. Можно уверенно выделить, по крайней мере, три типа этой активности.

1 - Потенциалы действия (ПД) – импульсные электрические ответы на надпороговое раздражение. Сюда же включаются ритмические потенциалы действия. ПД высших растений можно разделить на распространяющиеся, т.е. передающиеся с клетки на клетку в пределах органа или ткани, и местные, передающиеся в пределах только раздражаемых клеток. Близок к потенциалу действия локальный потенциал. Он отличается от ПД тем, что является местной, быстро затухающей при распространении импульсной электрической реакцией, зависимой от интенсивности внешнего воздействия.

2 - Вариабельные потенциалы (ВП) – специфические биоэлектрические реакции высших растений на повреждающие воздействия, распространение которых поддерживается, по крайней мере, частично, диффузией некоей возбуждающей «раневогой» субстанции. По форме вариабельный потенциал отличается от потенциала действия длительной не регулярной нисходящей ветвью импульса.

3 - Микроритмы – ритмическая электрическая активность в микровольтовом (десятки – сотни микровольт) диапазоне амплитуд.

### Потенциал действия.

Под потенциалом действия обычно понимают изменение мембранного потенциала специфической формы, возникающее при возбуждении клеток. Физический смысл ПД заключается в следующем. При вызванном каким-либо воздействием изменение мембранного потенциала в отрицательную сторону или при его слабом смещении в положительную сторону  $E'_m$  сначала монотонно переходит на новый уровень, а затем, после устранения воздействия, также монотонно возвращается к исходному значению. Это так называемые электротонические, или пассивные, изменения  $E'_m$ . Когда сдвиг

мембранного потенциала в положительную сторону превысит некий пороговый потенциал  $V_{пор}$ , то начинается резкая спонтанная деполяризация входящим в клетки ионным потоком. При этом мембранный потенциал может становиться положительным (овершут), т.е. происходит реполяризация мембраны. Смещение мембранного потенциала достигает определенной величины  $E'_m$ . Лишь затем  $E'_m$  за счет выходящего ионного потока возвращается к исходному уровню мембранного потенциала. Появление ионных потоков определяется активацией проводимости возбудимых селективных ионных каналов, через которые диффундируют по электрохимическому градиенту заряженные частицы – катионы или анионы.

Совокупность процессов, лежащих в основе механизма генерации потенциала действия.

Рассмотрев такую особенность генерации ПД у высших растений, как непосредственное участие электрогенного насоса, необходимо определить всю последовательность процессов, определяющих развитие импульса. С этой целью было проведено исследование механизма формирования фаз де- и реполяризации ПД. Для изучения роли ионов  $Ca^{2+}$  в формировании фазы деполяризации были применены блокатор кальциевых каналов верапамил и хелатор двухвалентных катионов ЭГТА, угнетающие вход ионов кальция в клетку. Ограничение входа ионов  $Ca^{2+}$  приводит к полному подавлению процесса генерации ПД. При этом не происходит и типичных переходных изменений рН, что подтверждает роль ионов  $Ca^{2+}$  в угнетении электрогенного протонного насоса (Воденеев, 2009).

Полное подавление ПД в присутствии ЭГТА и верапамила может быть связано либо с определяющей ролью ионов  $Ca^{2+}$  в развитии фазы деполяризации ПД в качестве основного носителя заряда, что показано для некоторых высших растений, либо с его ролью в качестве сигнального фактора, лишь инициирующего генерацию ПД. Если  $Ca^{2+}$  выступает как основной переносчик заряда, изменение его концентрации во внеклеточной среде должно отразиться на амплитуде ПД. Однако этого не наблюдалось в диапазоне содержания  $Ca^{2+}$  снаружи от возбудимых клеток от 0,1 до 10 мМ. Это указывает на то, что ионам  $Ca^{2+}$  принадлежит сигнальная роль – вход  $Ca^{2+}$  необходим для инициации процесса возбуждения, при этом  $Ca^{2+}$  не вносит существенного вклада в изменение потенциала при развитии фазы деполяризации.

Ведущая роль в изменении потенциала при формировании фазы деполяризации принадлежит, по-видимому, ионам  $\text{Cl}^-$  и  $\text{H}^+$ . Возникновение потока протонов на фазе деполяризации ПД в клетках стебля проростков тыквы было показано (Пятыгин и др., 2005).

Аналогичный подход – регистрация динамики концентрации во внеклеточной среде был использован для изучения роли  $\text{Cl}^-$  в развитии фазы деполяризации. При генерации ПД изменения содержания  $\text{Cl}^-$  во внеклеточной среде имели двухфазный характер – быстрое увеличение концентрации  $\text{Cl}^-$ , сменялось снижением – и по времени хорошо соответствовали развитию фазы деполяризации.

Полученные результаты согласуются с представлениями об участии выходящего потока  $\text{Cl}^-$  в формировании фазы деполяризации ПД у высших растений.

Подводя итог рассмотрения механизма генерации ПД у высших растений можно предложить следующую последовательность событий (рис. 3). Деполяризация до уровня порога возбуждения открывает потенциалзависимые кальциевые каналы. Кальций, входя внутрь клетки, активирует хлорные каналы и угнетает работу  $\text{H}^+$ -АТФазы. Выходящий поток хлора и угнетение  $\text{H}^+$ -АТФазы обеспечивают формирование фазы деполяризации до уровня потенциала в пике ПД. Калиевый поток, который начинается на фазе деполяризации импульса, формирует первый этап фазы реполяризации до уровня  $\text{K}^+$ -равновесного потенциала. Затем происходит активация  $\text{H}^+$ -АТФазы, вероятно, за счет удаления из цитоплазмы избытка ионов кальция. Активированный  $\text{H}^+$ -насос формирует второй, более

значительный по величине этап фазы реполяризации, завершая развитие импульса.

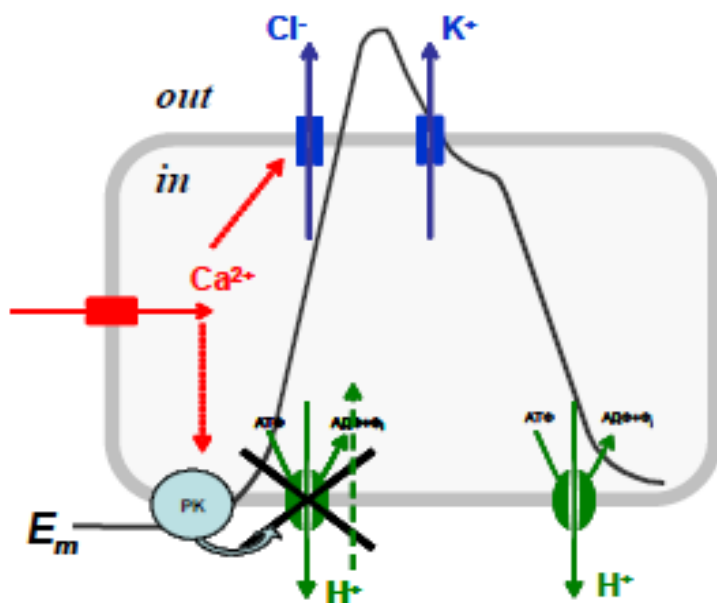


Рис.3. Предполагаемая схема механизма генерации потенциала действия в клетках высших растений (Воденеев, 2009).

Эта последовательность событий с некоторым запаздыванием повторяется в соседнем участке мембраны, поскольку электротонический потенциал распределяется вдоль клетки как вдоль обладающего утечкой кабеля. За счет этого происходит смещение мембранного потенциала выше порогового уровня и как следствие – активация возбудимых ионных каналов на удалении от места воздействия. В наиболее общей форме распространение импульса описывается с помощью, так называемого кабельного уравнения, определяющего распределение электротонического потенциала по длине клетки,

$$\frac{\partial^2 V(x,t)}{\partial x^2} = \frac{V(x,t)}{\lambda^2} + \frac{\tau_m}{\lambda^2} \times \frac{\partial V(x,t)}{\partial t}, \quad (2)$$

где  $V(x,t)$  – мембранный потенциал, отсчитанный от потенциала покоя (ось  $x$  направлена вдоль клетки),  $t$  – время,  $\lambda$  – кабельная постоянная или характеристическая длина,  $\tau_m$  – постоянная времени мембраны. При этом  $\lambda^2 = R_m / (R_0 + R_i)$ , где  $R_m$  – сопротивление мембраны,  $R_0 + R_i$  – сумма сопротивлений внешнего раствора и внутренней среды клетки, приходящихся на единицу длины клетки,  $\tau_m = C_m R_m$ , где  $C_m$  – емкость мембраны. В соответствии с кабельной моделью электрический импульс распространяется как по нервному волокну, так и по плазматическим мембранам растительных клеток объединенных в единый компартмент плазмодесмами.

Представления о том, что потенциал действия является универсальным сигналом у всех живых организмов, в том числе у высших растений, сформировались достаточно давно. Они соответствуют идеям, высказанным Дарвином, отстаивались и обосновывались в работах Боса, весьма конкретно формулировались и подтверждались экспериментально Хоувинком, Лоу-Чень-Хо, Умратом. Со сравнительно – эволюционных позиций очень четко выразил мысль об универсальности потенциалов действия Х.С. Коштоянц. В настоящее время многие исследователи полагают, что все растения в определенных условиях способны генерировать ПД. Есть и более осторожные оценки. По мнению Пиккарда, хотя ПД распространены в растительном мире, они могут отсутствовать у некоторых видов. Данные, свидетельствующие о

широте распространения ПД у высших растений, приведены в ряде обзоров. В них отмечается, что ПД зарегистрированы у тыквы, фасоли, подорожника, липы, кукурузы, гороха, подсолнечника, свеклы, а также у других растений – представителей семейства бобовых, вьюнковых, молочайных, пасленовых, гречихных и других. Систематического анализа способности к генерации ПД в различных семействах никем, к сожалению, до сих пор не проведено. Отмечая универсальность ПД, необходимо, тем не менее, подчеркнуть, что ПД высших растений проявляются все же весьма своеобразно. Они имеют очень растянутые временные параметры, зачастую осложняются другими электрическими явлениями. У большинства растений ПД не сопровождаются видимыми физиологическими эффектами. В одних случаях потенциалы действия распространяются на весьма значительные расстояния по тканям, а в других распространение фактически ограничено пределами раздражаемых клеток. Поэтому идентифицировать такие потенциалы действия как истинные ПД не всегда корректно.

Попытаемся обосновать принципиальную возможность (и правомочность) применения понятия «потенциал действия» к высшим растениям. Согласно обобщенному определению, наиболее характерные свойства, в соответствии с которыми быстрые регенеративные колебания мембранного потенциала можно рассматривать как настоящий ПД, следующие:

- 1) способность к электрическому распространению,
- 2) возможность электрической стимуляции,
- 3) подчинение правилу «все или ничего»,
- 4) рефрактерность,
- 5) суммация отдельных подпороговых стимулов для запуска процесса,
- 6) возможность осцилляции.

Доказательством электрического механизма распространения ПД является скорость проведения импульса, которая прямо пропорциональна электропроводности внеклеточной среды, что полностью согласуется с уравнением 2. Возникающие в ответ на физиологически умеренные не повреждающие внешние воздействия импульсные электрические реакции у высших растений действительно можно охарактеризовать как потенциалы



действия. Однако эти ПД имеют свои отличительные особенности, которые необходимо специально исследовать (Пятыгин и др., 2005).

Регистрация потенциалов действия. Система регистрации ПД состоит из электродов и регистрирующего прибора (в нашем случае рН-метр-ионмер эксперт -001), сопряженного с компьютером. Для внеклеточного отведения потенциала действия применяют неполяризующиеся электроды. Иногда используют слабо поляризующиеся металлические электроды из золота, платины или вольфрама. По характеру расположения электродов различают два способа отведения ПД. Монофазный или униполярный и двухфазный или биполярный. При биполярном отведении оба измерительных электрода располагаются на поверхности органов, проводящих ПД. При монофазном отведении один электрод является измерительным, а другой – электродом сравнения. Электрод сравнения при внеклеточной регистрации ПД помещают на значительном удалении от измерительного там, куда потенциал действия не доходит.

### ***Регистрация потенциала действия в гипокотиле проростка тыквы.***

*Цель:* Получить ПД и охарактеризовать его форму.

*Оборудование:* рН-метр-ионмер эксперт – 001, хлорсеребряные электроды в агаровом геле, проростки тыквы, скотч, штатив, ватные тампоны.

*Ход работы.*

К гипокотилю проростка тыквы, через электропроводящую прокладку (вата, смоченная водопроводной водой) крепятся электроды на расстоянии 3 см друг от друга рис. 4.

После закрепления включают прибор в режим измерения потенциалов (мВ) и запускают на компьютере программу регистрации данных. После установления равновесного состояния (см. лаб. раб. 2) к одному семядольному листу подносят лед. Результаты биоэлектрической реакции сохраняют в заранее созданном файле. Все операции проводят на трех проростках. Полученные данные анализируют с помощью пакета программ “Origin”.

Анализируются следующие показатели: амплитуда ПД, угол наклона фазы деполяризации, угол наклона фазы реполяризации спайка. По результатам обработки делают заключение о воспроизводимости результатов.

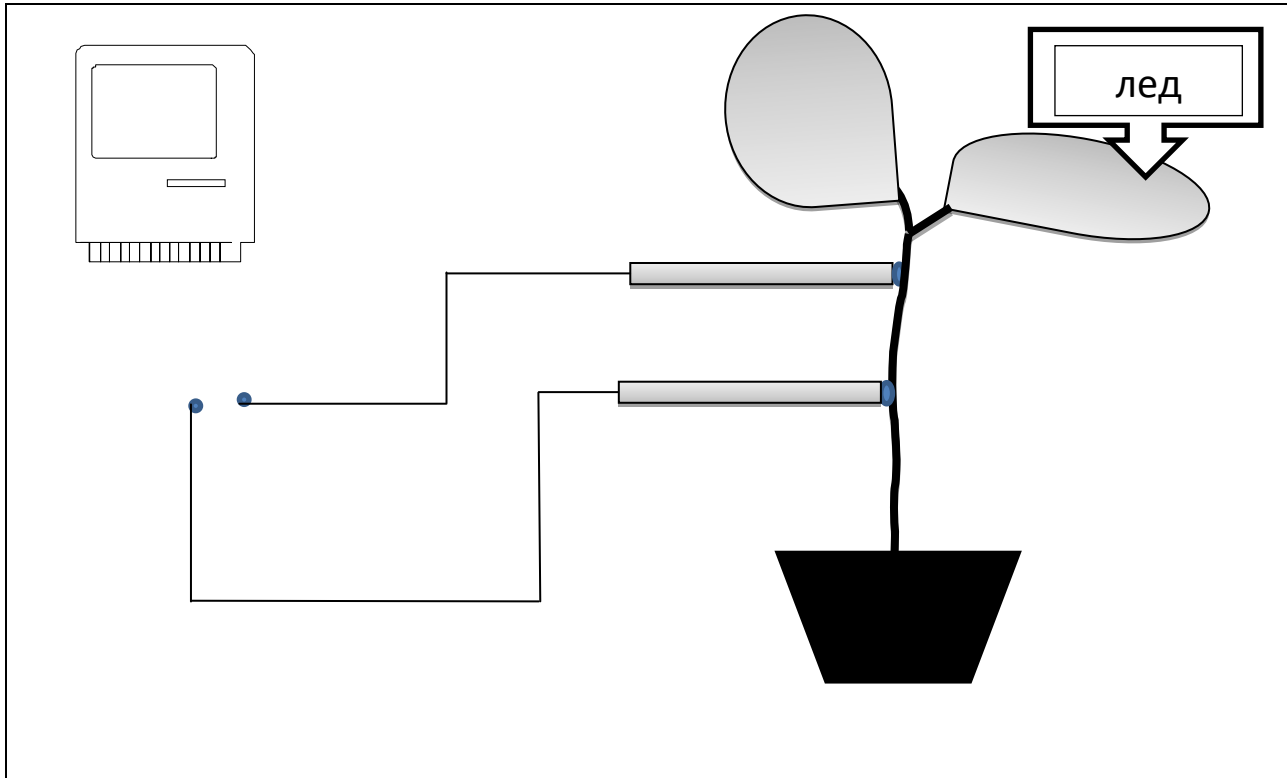


Рис. 4. Схема закрепления электродов на стебле.

*Контрольные вопросы:*

1. Что такое потенциал действия?
2. Каков механизм генерации потенциала действия у высших растений?
3. Какими свойствами обладает потенциал действия у высших растений?
4. В чем отличие униполярного отведения от биполярного?

***Распространение потенциала действия по стеблю.***

***Цель:*** Определить скорость и направленность распространения потенциала действия в растительной ткани.

*Оборудование:* рН-метр-иономер эксперт – 001, хлорсеребряные электроды в агаровом геле, проростки тыквы, скотч, штатив, ватные тампоны.

*Ход работы.*

I. К гипокотилю проростка тыквы, через электропроводящую прокладку (вата, смоченная водопроводной водой) крепятся электроды на фиксированном расстоянии друг от друга в трех вариантах (для каждого варианта новое растение), отличающихся расстоянием между электродами.

Вариант 1 – 3 см (рис. 3).

Вариант 2 – 5 см.

Вариант 3 – 7 см.

После закрепления включают прибор в режим измерения потенциалов (мВ) и запускают на компьютере программу регистрации данных. После установления равновесного состояния (см. лаб. раб. 1) к одному семядольному листу подносят лед и фиксируют время до появления потенциала действия. По результатам измерений определяют среднюю скорость распространения потенциала действия. Результаты биоэлектрической реакции сохраняют в заранее созданном файле. Все операции проводят на трех проростках. Полученные данные анализируют с помощью пакета программ “Origin”.

II. К гипокотилю проростка тыквы, через электропроводящую прокладку (вата, смоченная водопроводной водой) крепятся электроды на фиксированном расстоянии друг от друга.

После закрепления электродов включают прибор в режим измерения потенциалов (мВ) и запускают на компьютере программу регистрации данных. Выдержав время, необходимое для установления равновесного состояния (см. лаб. раб. 1) ниже электрода сравнения подносят лед (рис. 4) и фиксируют время до появления потенциала действия. По результатам измерений определяют среднюю скорость распространения. Результаты биоэлектрической реакции сохраняют в заранее созданном файле. Все операции проводят на трех проростках. Полученные данные анализируют с помощью пакета программ “Origin”.

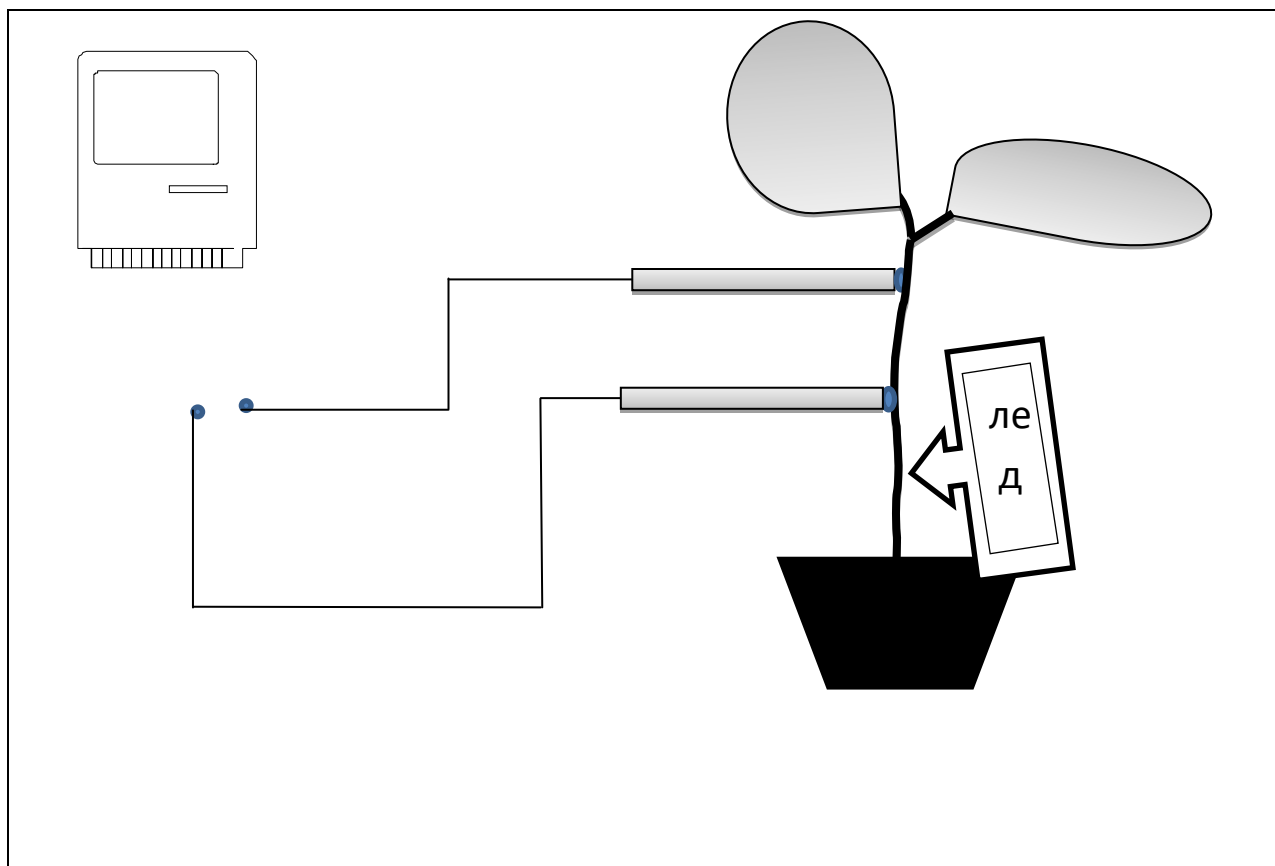


Рис. 4. Схема закрепления электродов на стебле при исследовании распространения ПД.

### Вариабельный потенциал.

В физиологии возбудимых систем у животных объектов различают два способа передачи возбуждения – электрический и химический. Первый осуществляется в форме потенциала действия, второй – в форме постсинаптического потенциала за счет диффузии специфических веществ – медиаторов. Потенциалы действия присущи и высшим растениям. Многочисленные электрофизиологические данные позволяют полагать, что химический способ передачи возбуждения имеет место у высших растений. Он проявляется в форме так называемого вариабельного потенциала (ВП).

Вариабельный потенциал отличается от ПД изменчивой формой и амплитудой, способностью возникать в период абсолютной рефрактерности после ПД, способностью проходить через листовую подушечку (у мимозы) и меньшей скоростью распространения. Он возникает в ответ на повреждающие стимулы, разрезы, разрывы, разминание, ожоги химические и термические и так далее. Длительность ВП составляет десятки минут. Его амплитуда и длительность в определенных пределах градуально зависят от

интенсивности (площади) повреждения. У локомоторных растений ВП, как правило, сочетается с ПД (Опритов, 19996а).

Наиболее характерное свойство ВП – способность проходить через убитые ткани и даже через водный раствор, соединяющий полностью перерезанный стебель. Это явление обнаружил Рикка, который предложил, что распространяющееся возбуждение у высших растений имеет химическую природу, связанную с диффузией «раневого вещества» (фактор Рикка).

В своей основе теория «раневого вещества» не лишена противоречий. Считается, что «раневое вещество» образуется в месте ранения и движется с транспирационным током. Однако базипетальная проводимость ВП также имеет место. Можно допустить, что фактор Рикка передвигается в русле дальнего транспорта в обе стороны, но трудно связать со стационарными транспортными процессами градуальную зависимость скорости распространения переменного потенциала от величины повреждения.

Пока более обоснованной является позиция Пиккард с соавторами. Согласно ей повреждение высвобождает «раневое вещество», которое движется по сосудам проводящих тканей и, диффундируя по апопласту к окружающим живым клеткам, деполяризует их в соответствии с масштабами повреждения, т.е. пропорционально концентрации «раневого вещества» в русле дальнего транспорта. Таким образом генерируется переменный потенциал. Когда «раневое вещество» попадает в электровозбудимые ткани, то оно вызывает (если такие ткани есть) потенциал действия, распространяющийся впереди переменного потенциала иногда сливающийся с последним так, что различим лишь передний фронт ПД (Опритов и др., 1991).

Если основываться на такой модели ВП, то можно заключить, что электрическая реакция на повреждение, очевидно, никогда не является химически индуцированным ВП в чистом виде, а всегда представляет собой комбинацию электрического и химического возбуждения.

В качестве фактора Рикка могут выступать олигосахариды, например фактор индуцирующий ингибиторы протеаз или фактор движения листьев – тургорин, идентифицированный как глюкозидсульфат бензойной кислоты.

Таким образом, на роль медиатора в химическом механизме распространения возбуждения у высших растений претендует ряд

соединений. Кроме того, существует и альтернативная гипотеза о чисто электрическом механизме распространения переменного потенциала.

Следует отметить, что существует и доказана оригинальная гипотеза «цикла ацетилхолина», объединяющая электрический и химический механизмы распространения возбуждения в нервной системе. Известно, что ацетилхолин и холинэстераза присутствуют в растительных тканях. Не исключено, что ацетилхолин у растений выступает в роли регулятора биоэлектрических явлений, хотя точное его действие на эти процессы пока не известно. Возможно, гипотеза единого ацетилхолинового или иного медиаторного циклического механизма возбуждения сможет найти свое подтверждение при изучении импульсной электрической активности у высших растений. Предположение о том, что деполяризация сама способна приводить к высвобождению возбуждающей «раневой субстанции» при распространении ВП выглядит правдоподобно (Оприлов, 2000).

Функциональное значение переменного потенциала мало исследовано. Считается, что переменный потенциал это основной тип дальнейшей координирующей связи между различными частями у обычных, не обладающих моторной активностью растений. По мнению ряда исследователей, тот факт, что ВП может сам вызывать ПД является подтверждением существования гормонально-электрической интеграции в растениях. Изложенные представления о том, что ПД является одним из универсальных механизмов реагирования растений на внешние и внутренние изменения, по крайней мере, на клеточном уровне, соответствуют этому положению. Таким образом, можно считать, что переменный потенциал действует на метаболизм клеток в первую очередь через потенциал действия (Воденев, 2009).

### ***Регистрация переменного потенциала в гипокотиле проростка тыквы.***

Переменный потенциал (ВП), возникающий в ответ на повреждающее воздействие, представляет собой переходную деполяризацию (волну деполяризации), которая может быть осложнена возникновением импульсов (Оприлов и др., 1991). Параметры индуцированных однотипным раздражителем ВП – амплитуда, длительность, скорость развития фаз де- и реполяризации, а также количеством возникающих импульсов могут значительно различаться как у отдельных растений, так и при повторном

раздражении одного и того же растения. Отличительной особенностью ВП является также трансформация реакции по мере ее распространении. Пример подобного изменения биоэлектрической реакции представлен на рис. 5.

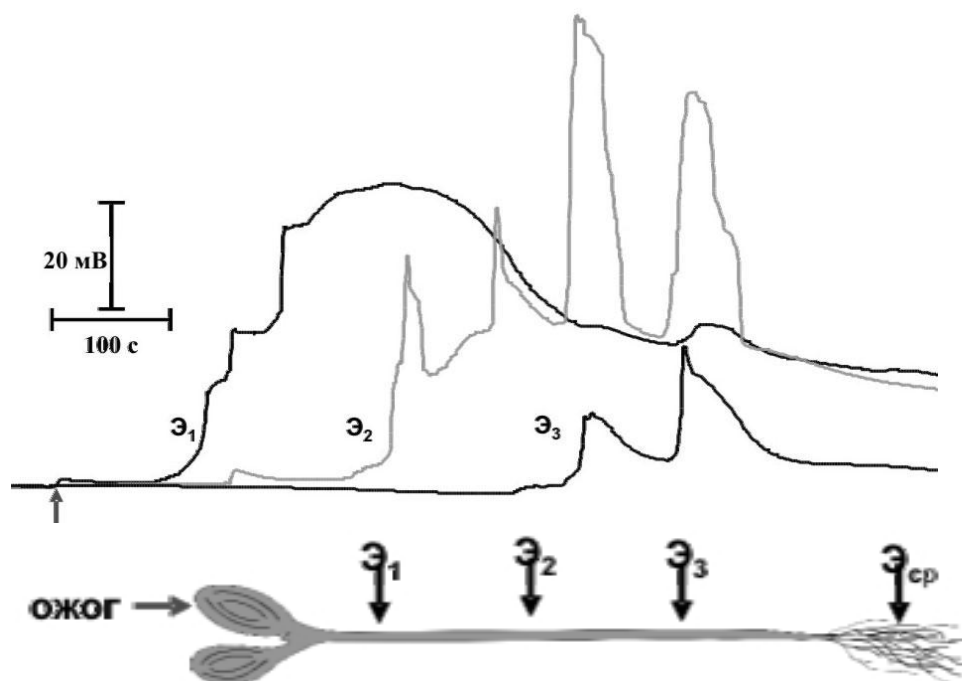


Рис. 5. Электрические ответы, индуцированные повреждающим раздражением, на различном расстоянии от места раздражения.

Стрелкой указан момент нанесения раздражения. Зависимость амплитуды медленной волны деполяризации, скорости распространения ВП, а также количества импульсов в составе ВП от расстояния от зоны раздражения представлена на рис. . С увеличением расстояния происходит снижение амплитуды и скорости распространения ВП. Зависимость количества импульсов в составе ВП от расстояния имеет двухфазный характер – вначале наблюдается тенденция к возрастанию, в дальнейшем – происходит снижение.

Трансформация реакции по мере ее распространения принципиально отличает ВП от ПД, который характеризуется постоянной амплитудой и скоростью. Отмеченные черты ВП (нерегулярность, изменение характеристик при удалении от зоны раздражения) связаны, по-видимому, с особенностями механизмов генерации и распространения этой электрической реакции (Воденеев, 2009).

## Механизм генерации переменного потенциала

Принимая во внимание рассмотренные выше особенности ВП, можно полагать, что механизм его генерации, сведения о котором на сегодняшний день весьма фрагментарны, носит сложный комплексный характер.

Поскольку ВП представляет собой переходную деполяризацию, необходимо рассмотрение в первую очередь тех ионных потоков, возникновение которых может обеспечить развитие деполяризации клеток высших растений. Наиболее вероятен вклад в развитие деполяризации следующих ионных потоков: 1) входящий поток ионов  $\text{Ca}^{2+}$  в цитозоль из внеклеточной среды; 2) выходящий из клеток поток ионов  $\text{Cl}^-$  и, возможно, других анионов; 3) диссипация протонного градиента, связанная с остановкой электрогенного протонного насоса ПМ. Было исследовано возможное участие указанных ионных потоков в формировании индуцированного ожогом ВП у проростков тыквы. Сложный характер развития реакции, в частности, быстрое изменение потенциала переднего фронта ВП и наличие импульсов в составе ВП, могут указывать на то, что наряду с электрогенным насосом в генерацию ВП вносят вклад и пассивные потоки других ионов, связанные с активацией ионных каналов (Воденеев, 2009).

## Механизм распространения переменного потенциала

В настоящее время существует три гипотезы, описывающие механизм распространения ВП.

1) Согласно первой гипотезе ВП имеет электрический (электротонический) механизм распространения, т.е. распространяется подобно ПД.

2) Гидравлическая гипотеза распространения ВП предполагает распространение области повышенного давления в сосудах ксилемы, что вызывает деполяризацию клеток за счет изменения тургора.

3) Химическая гипотеза распространения ВП основывается на предположении о диффузии некоего соединения («раневого вещества», «фактора Рикка») из зоны повреждения по сосудам.

С. целью проверки электрической гипотезы сравнивали экспериментально зарегистрированную скорость распространения ВП со скоростью распространения сигнала, рассчитанную на основании кабельного



уравнения. Теоретически рассчитанная скорость распространения ВП составила  $22,6 \pm 2,6$  мм/с, что на порядок превышает экспериментально зарегистрированную скорость распространения ВП ( $2,3 \pm 0,8$  мм/с). В то же время, для ПД экспериментально зарегистрированная скорость распространения ( $24 \pm 2,2$  мм/с) хорошо согласуется со скоростью, рассчитанной теоретически ( $21,3 \pm 3,2$  мм/с).

Полученные результаты противоречат электрической гипотезе распространения ВП. Следовательно, в стебле проростков тыквы может происходить передача имеющего электрический механизм распространения ПД, подчиняющаяся кабельному уравнению, и не подчиняющаяся ему передача ВП, имеющего отличный от электрического механизм распространения. Иными словами, ВП нельзя рассматривать как *распространяющуюся электрическую реакцию*, по сути, ВП является *местной электрической реакцией*, генерируемой клетками в ответ на действие некоего *распространяющегося фактора*. (Воденеев, 2009).

*Цель:* Получить ВП. Сравнить формы ВП и ПД. Определить скорость распространения ВП.

*Оборудование:* рН-метр-иономер эксперт – 001, хлорсеребряные электроды в агаровом геле, проростки тыквы, скотч, штатив, ватные тампоны.

*Ход работы.*

К гипокотилю проростка тыквы, через электропроводящую прокладку (вата, смоченная водопроводной водой) крепятся электроды на фиксированном расстоянии друг от друга (5-7 см) рис. 6.

После закрепления включают прибор в режим измерения потенциалов (мВ) и запускают на компьютере программу регистрации данных. После установления равновесного состояния (см. лаб. раб. 2) ниже электрода сравнения (рис. 6) наносят механическое повреждение остро заточенной деревянной палочкой. Фиксируют время нанесения повреждения и время появления ВП. Работу проводят в трех повторностях. Зная расстояние между электродами, определяют среднюю скорость распространения переменного потенциала. Результаты биоэлектрической реакции сохраняют в заранее созданном файле.

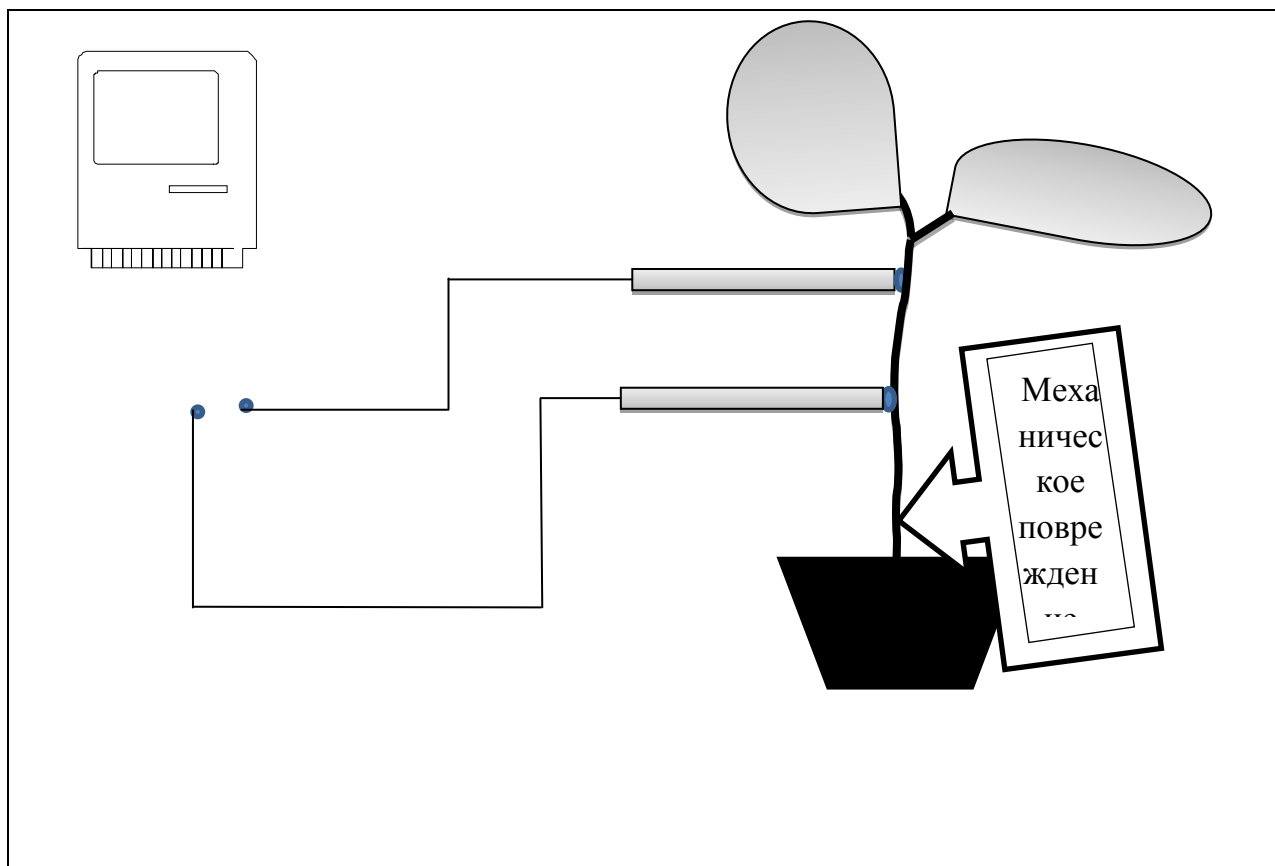


Рис. 6. Схема закрепления электродов при исследовании распространения ВП.

*Контрольные вопросы:*

1. В чем различия между переменным потенциалом и потенциалом действия?
2. Какова природа переменного потенциала?

## ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ РОЛЬ ПОТЕНЦИАЛОВ ВОЗБУЖДЕНИЯ У ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ

Главная функция ПД у животных состоит в быстрой передаче информации. Функциональная роль ПД в организме высших растений менее ясна и является предметом пристального внимания исследователей (Опритов и др., 1991). Наиболее изучена она у сравнительно небольшой группы так называемых «двигательных» растений, где ПД принимают участие в механизме осуществления быстрых локомоторных реакций. Вполне определенной представляется также роль ПД в подготовке генеративных органов растений к оплодотворению. Менее ясна функция ПД, возникающих в вегетативных органах высших растений под влиянием различных неблагоприятных факторов и распространяющихся по стеблю на весьма значительные расстояния (Воденеев, 2009).

## Сигнальная роль потенциалов действия.

Генерация ПД в возбудимых клетках высшего растения хронологически связана, как правило, с начальным этапом влияния раздражителя, и это обстоятельство отчетливо свидетельствует об опережающем, сигнальном характере данной импульсной биоэлектрической реакции. Можно предположить, что задача этой реакции состоит в передаче определенной информации покоящимся тканям и органам. Между тем, анализ показывает, что распространяющийся за пределы зоны раздражения ПД, по-видимому, не может передавать информацию о характере раздражающего внешнего фактора, а лишь сигнализирует о начале его действия.

Основными причинами являются:

1. Для передачи информации, закодированной, как у животных объектов, в частотном режиме, необходима многократно повторяющаяся ритмическая импульсация, которая для растений нехарактерна. К тому же у растений отсутствует орган декодирования этой информации, соответствующий центральному отделу нервной системы животных.
2. Передача определенной информации о раздражителе с помощью одиночного ПД возможна лишь при условии зависимости его параметров от модальности раздражителя. Однако принцип «все или ничего», в соответствии с которым возникает ПД, не способствует появлению зависимости импульсов от специфики раздражителя. В то же время известно, что восприятие клетками стимулов различной модальности и последующая трансдукция сигнала о них внутрь клетки происходит при участии различных транспортных механизмов, что определенным образом, по-видимому, может отразиться на параметрах ПД (например, их длительности и/или амплитуде) непосредственно в зоне раздражения. Однако при распространении ПД по стеблю, которое осуществляется по одним и тем же проводящим путям и на основе одного и того же механизма, возможность зависимости импульсов от природы раздражителя фактически исключается (Воденев, 2009).

Таким образом, больше оснований считать, что распространяющийся по стеблю высшего растения ПД – это неспецифический биоэлектрический сигнал, который не зависит от природы раздражителя и, соответственно, не несет информацию о нем. Являясь неспецифическим биоэлектрическим сигналом, распространяющийся ПД должен вызывать, в свою очередь, неспецифические функциональные изменения в тканях и органах, которых достигает.

В работах Ретивина В.Г. и соавторов было выдвинуто предположение, что конечной целью индуцированных электрическими сигналами изменений функционального состояния растения является повышение его неспецифической устойчивости. В то же время, вопрос о возможной связи индуцированных потенциалами возбуждения функциональных эффектах и повышением устойчивости остается в настоящее время не изученным. Было проведено исследование роли ПД и ВП в повышении устойчивости проростков тыквы к охлаждению и определение возможной роли в повышении холодоустойчивости индуцированных электрическими сигналами изменений активности фотосинтеза и содержания АТФ.

Потенциалы возбуждения у высших растений являются, по-видимому, неспецифическими биоэлектрическими сигналами, не передающими информацию о характере вызвавшего их локального раздражителя. Следовательно, не передавая информацию о характере раздражителя электрические сигналы, вызывают неспецифические функциональные изменения. Поскольку круг индуцированных ПД и ВП функциональных эффектов довольно широк, то маловероятно, учитывая отсутствие информации о характере раздражителя, чтобы каждый из них имел определенную конечную цель. Более вероятно, что возникающие функциональные эффекты лежат в основе развития единой более общей реакции растительного организма. Предположено, что такой конечной целью индуцированных электрическими сигналами изменений, может являться повышение устойчивости растений к действию неблагоприятных факторов (Воденеев, 2009).

### ***Регистрация свет-индуцируемых биоэлектрических реакций.***

Способность реагировать на световое воздействие изменениями электропотенциала является универсальным свойством фотосинтезирующей ткани растений. Необходимым условием существования светозависимой биоэлектрической активности является наличие в растительной ткани хлорофилла и сформированного фотосинтетического аппарата.

*Цель:* Определить форму интенсивность и время биоэлектрической реакции на выключение света.

*Оборудование:* рН-метр-иономер эксперт – 001, хлорсеребряные электроды в агаровом геле, проростки томата, скотч, штатив, ватные тампоны.

*Ход работы.*

К гипокотилю проростка томата, через электропроводящую прокладку (вата, смоченная водопроводной водой) крепятся электроды на фиксированном расстоянии друг от друга как указано на рис. 7.

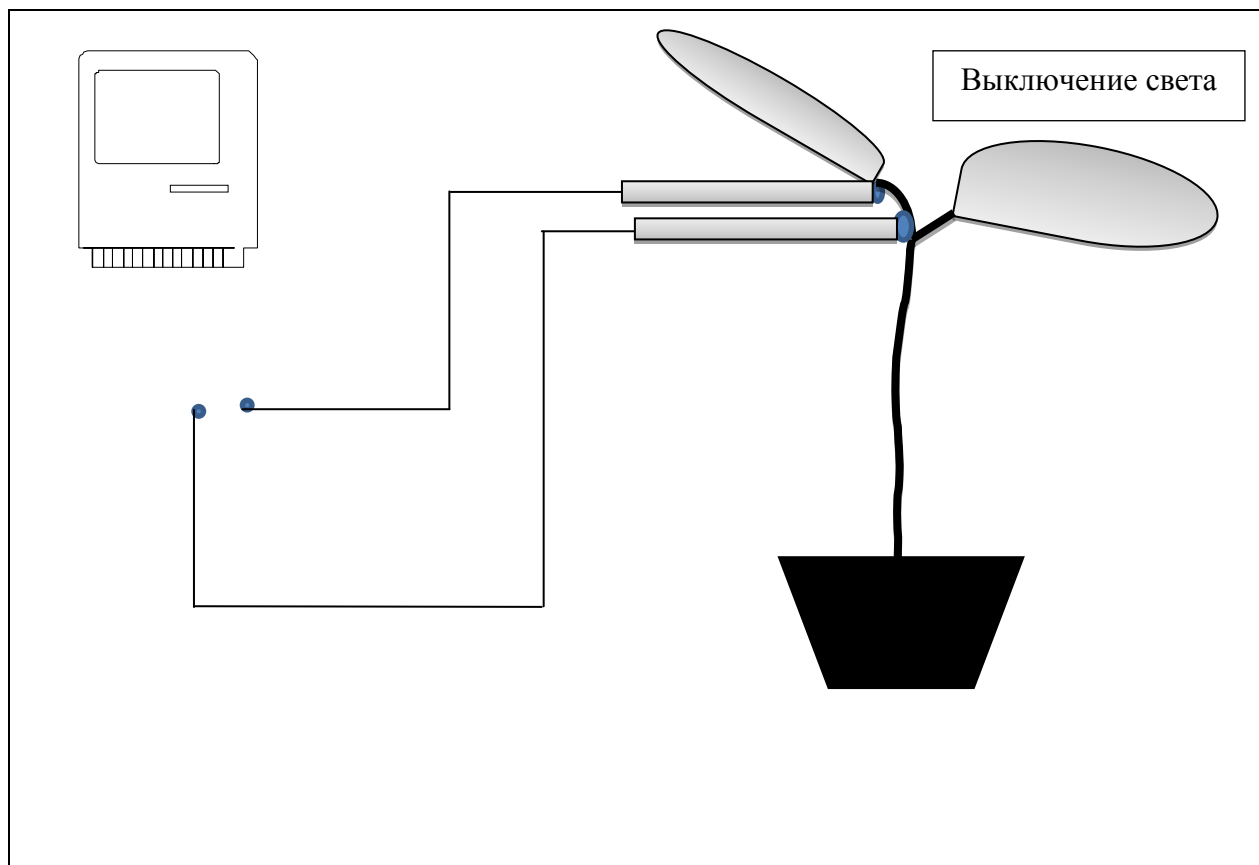


Рис. 7. Схема крепления электродов при исследовании свет-индуцируемых биоэлектрических реакций.

После закрепления включают прибор в режим измерения потенциалов (мВ) и запускают на компьютере программу регистрации данных. После 30 минутной выдержки под интенсивным светом, когда установится равновесное состояние потенциалов покоя (см. лаб. раб. 2) выключают освещение. Фиксируют форму и время биоэлектрической реакции. Результаты биоэлектрической реакции сохраняют в заранее созданном файле.

Оформляют результаты трех повторностей эксперимента используя свет различного спектрального состава (белого, синего и красного).

## КРАТКИЙ ИСТОРИЧЕСКИЙ ОЧЕРК ИЗУЧЕНИЯ ЭЛЕКТРИЧЕСКИХ ПОТЕНЦИАЛОВ У ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ.

Первые исследования электрических явлений сопровождающих возникновение и распространение возбуждения у высших растений были выполнены во второй половине XIX в. Под влиянием бурно развивающейся электрофизиологии животных. Основателями нового направления науки о растениях – электрофизиологии растений можно назвать трех исследователей: действительного члена Британского Королевского общества Бердон-Сандерсона, немецкого естествоиспытателя Мунка и русского ботаника Н. Леваковского. Их исследования проводились на локомоторных растениях – мимозе и венериной мухоловке. Все они в той или иной степени экспериментально обосновали идею о том, что передача возбуждения у «чувствительных» растений осуществляется с помощью электрического сигнала, как и в возбудимых тканях животных (в нервно-мышечном препарате). Работы эти были с энтузиазмом встречены научной общественностью того времени. Дарвин в своем труде «Насекомоядные растения» писал: «...изумительное открытие, сделанное доктором Бердон-Сандерсоном, теперь всем известно, а именно что в пластинке и черешке нормально существует электрический ток и что при раздражении листьев этот ток нарушается совершенно также, как при сокращении мускула животного». Необходимо отметить, что исследования Бердон-Сандерсона не ограничивались установлением простой аналогии электрических явлений в мышце и в «ловчей» пластинке венериной мухоловки. Он довольно точно определил скорость движения импульса, показал, что двигательная реакция начинается значительно позднее того, как импульс достигает листа (Оприлов и др., 1991).

Следующий значительный шаг в электрофизиологических исследованиях раздражимости высших растений был сделан Босом. Этот выдающийся ученый из Индии, получивший образование на кафедре физики Кембриджского университета, был блестящим экспериментатором. Его методические разработки и специальные высокочувствительные приборы для электрофизиологии растений не уступали лучшим методам «животной» электрофизиологии того времени, а полученные результаты не утратили своего естественнонаучного, практического и мировоззренческого значения

до сих пор. Как физик Бос не только использовал физические методы в физиологических исследованиях, но и к интерпретации изучаемых явлений подходил с физических позиций, ставя во главу угла поиск единых ответов, общих как для животных, так и для растений, как для живых тканей, так и для неорганических веществ. В то же время от последовательно выступал против механических позиций. Одно из основных достижений его исследований заключается в том, что он опроверг гидромеханические теории Гофмейштера, Дютроше, Сакса, Пфедфера о передачи раздражения у мимозы и у других локомоторных растений за счет изменения давления воды в повреждаемой ксилеме и теорию Габерланда о сходном пассивном способе передачи раздражения в системе ситовидных трубок. Он нашел, что существует специальный канал проведения возбуждения, локализованный главным образом в проводящих пучках (мелкие клетки наружной и внутренней флоэмы). Что импульс, вызванный физиологически умеренными раздражителями, не передается через охлажденный или обработанный ядом участок; что возникновение этого импульса подчиняется правилу «все или ничего»; что слабое единичное раздражение, само по себе неэффективное, становится эффективным при частом повторении. Бос впервые экспериментально обосновал положение о том, что в проводящих тканях высшего растения могут возникать и распространяться потенциалы действия подобно тому, как это осуществляется в нервных волокнах (Оприлов, 1996а).

Примерно в это же время Рикка продемонстрировал существование иного способа передачи возбуждения в растительных тканях. В опытах на мимозе им было установлено, что при ожоге нижней половине стебля фактор, вызывающий опускание листьев, проходит вверх через заполненную водой трубочку. Рикка предположил, что возбуждение у растений передается по ксилеме неким химическим веществом (так называемым фактором Рикка). Это предположение подтвердили эксперименты, выполненные Сноу. Электрофизиологических исследований эти авторы не проводили. Бос отнесся к гипотезе Рикка резко отрицательно, хотя и заметил, что электрический ответ на сильное воздействие, действительно, распространяется иначе, чем при «нормальных» способах раздражения (с таким понятием нормы вряд ли можно согласиться, ибо разрушение и отторжение органов и тканей весьма частый и естественный способ раздражения растений в природных условиях) (Оприлов, 1996б).

## ЛИТЕРАТУРА.

1. *Воденеев В.А.* Механизм генерации и функциональная роль потенциалов возбуждения у высших растений / Автореф. диссертации на соискание уч. степени д-ра биол. наук. – Москва, 2009, 42 с.
2. *Оприлов В.А., Пятыхин С.С., Ретивин В.Г.* Биоэлектrogenез у высших растений. – М.: Наука, 1991. – 216 с.
3. *Оприлов В.А.* Электрические сигналы у высших растений / Соросовский образоват. журн. 1996. №10. С. 22-27.
4. *Оприлов В.А.* Электричество в жизни животных и растений / Соросовский образоват. журн. 1996. №9. С. 40-46.
5. *Оприлов В.А.*  $H^+$ -АТФаза плазматической мембраны – основная электрогенная система высших растений / Соросовский образоват. журн. 2000. Т. 6, №6. С. 28-32.
6. *Орлов О.В., Сухов В.С., Воденеев В.А.* Анализ возможности использования разности электрических потенциалов для оценки влияния повышенного радиационного фона на солеустойчивость проростков пшеницы / Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского, 2009, №5. С. 118-122.
7. *Пятыхин С.С., Воденеев В.А., Оприлов В.А.* Сопряжение генерации потенциала действия в клетках растений с метаболизмом: современное понимание проблемы / Успехи современной биологии. 2005. Т. 125. № 5. С. 520–528.
8. *Stahlberg R.* Historical Introduction to Plant Electrophysiology / In: Plant Electrophysiology. Theory and Methods / Ed. A.G. Volkov. Berlin-Heidelberg: Springer, 2006. P. 3–14.
9. *Булычев А.А.* Изменения электрического потенциала на фотосинтетической и клеточной мембранах *Anthoceros* при действии света // Физиология растений. 1989. Т. 36. № 3. С. 479–486.
10. *Bulychev A.A., Vredenberg V.J.* Enhancement of the light-triggered electrical response in plant cells following their de-energization with uncouplers // *Physiol. Plant.* 1995. V. 94. P. 64–70.
11. *Allakhverdiev S.I., Nishiyama Y., Takahashi S. et al.* // *Plant Physiol.* 2005. V. 137. P. 263–273.
12. *Сухов В.С., Воденеев В.А., Орлова О.В.* // Вестник Нижегородского ун-та. Сер. Биология. 2005. Вып. 2 (10). С. 218–224.