

УДК 635.21:631.527.6:621.319

## ДЕЙСТВИЕ ЭЛЕКТРОСТАТИЧЕСКОГО ПОЛЯ НА ЭТАПЕ КЛОНАЛЬНОГО МИКРОРАЗМНОЖЕНИЯ КАРТОФЕЛЯ (*SOLANUM TUBEROSUM* L.) НА $CO_2$ , ГАЗООБМЕН И МОРФОГЕНЕЗ РАСТЕНИЙ

Ч. СУБД, Н.Н. ТРЕТЬЯКОВ, Э.Н. АКАНОВ, О.С. МЕЛИК-САРКИСОВ\*

(Кафедра физиологии растений)

Отмечаются значительные различия  $CO_2$  газообмена у пробирочных растений по вариантам опыта с обработкой электростатическими полями и изучаемым сортам. Степень влияния ЭСП (электростатического поля) на интенсивность дыхательного и фотосинтетического газообмена зависела от особенностей сорта, а также направленности ЭСП. При действии ЭСП  $E = + 10$  кВ/м у всех сортов увеличивалось накопление биомассы за счет уменьшения доли затрат на дыхание от gross-фотосинтеза вследствие увеличения образования фотосинтезирующей ткани по отношению к корневой массе и более эффективного расходования фотоассимилятов.

Фотосинтетическая функция растений обеспечивается большим количеством самых разнообразных процессов и реакций, включая диффузию  $CO_2$  и  $O_2$ , образование и передачу энергии возбуждения, окислительно-восстановительные реакции, фотоиндуцированное изменение рН и образование трансмембранного электрического потенциала, поток электронов по системам переносчиков, фотосинтетическое фосфорилирование, фиксацию  $CO_2$  и образование промежуточных и конечных продуктов восстановления  $CO_2$ , отток ассимилянтов и т.д. Таким образом, оценивая сложность фотосинтетической функции, нельзя не прийти к выводу о множественности путей ее регуляции, которая и обеспечивает тонкую настроенность фотосинтетического аппарата на конкретные условия существования растений и пе-

реход к новому режиму работы при их изменении [6].

Регуляция фотосинтеза осуществляется на различных уровнях организации, начиная от тилакоидов и кончая целым растением и фитоценозом, причем более простые регуляторные механизмы подчинены более сложным, характерным для высших уровней организации.

Растение в целом может регулировать фотосинтетическую функцию с помощью трех основных механизмов: гормонального, электрического и концентрационного (путем изменения уровня концентрации транспортных продуктов фотосинтеза за счет их потребления в нефотосинтезирующих или слабо фотосинтезирующих органах). Из них биоэлектрическая регуляция фотосинтеза листьев особенно наглядна, когда производится химическое или физическое

---

\* ВНИИ сельскохозяйственной биотехнологии. Данная работа выполнена в рамках программы ФЦП «Интеграция».

раздражение корней. Образующийся при этом потенциал передается по проводящим пучкам стебля в листья, которые отвечают на этот импульс двухфазным изменением интенсивности фотосинтеза [3].

Изменение условий существования растений может оказать большое влияние на протекание фотосинтеза и темнового дыхания, причем изменения интенсивности этих процессов могут быть далеко не синхронными. При этом процесс дыхания гораздо менее чувствителен к различным воздействиям, чем фотосинтез [2].

Поскольку интенсивность истинного фотосинтеза не может быть измерена прямыми методами (из-за сложности разделения фотосинтетического и дыхательного газообмена на свету), то gross-фотосинтез обычно рассчитывают как сумму продуктивности нетто-фотосинтеза и дыхательных затрат:  $P_g = P_n + R$ .

По мнению О.А. Семихатовой [7], непосредственное участие фотосинтеза в процессах роста растений и поддержания путем обеспечения их интермедиатами и энергией должно проявляться при подсчетах баланса углерода и энергии в растении. Этот показатель составляет долю дыхательных затрат (обычно за ночные часы) от дневной продуктивности фотосинтеза.

Прямая связь между дыханием и фотосинтезом сохраняется у растений только при определенном соотношении этих процессов с транспортом ассимилянтов и ростом. Линейность связи нарушается, когда фотосинтез ограничивается каким-нибудь внешним фактором [7].

В литературе имеются довольно противоречивые данные о фотосинтетической и дыхательной составляющих в основном на отдельных органах, тогда как необходимым усло-

вием для выявления точных количественных соотношений является измерение их на целом растении (без нарушения целостности растения) в оптимальных условиях роста. Эти условия были соблюдены в наших экспериментах.

Целью данной работы явилось изучение  $CO_2$  газообмена у пробирочных растений картофеля после 30-дневного воздействия электростатическим полем на этапе клонального микроразмножения для стимулирования морфогенеза растений. Важно было изучить и сортовую специфику физиологической реакции растений картофеля на воздействие электростатическим полем, а также выяснить взаимосвязь формирования биомассы с элементами продукционного процесса — фотосинтезом и темновым дыханием.

## Методика

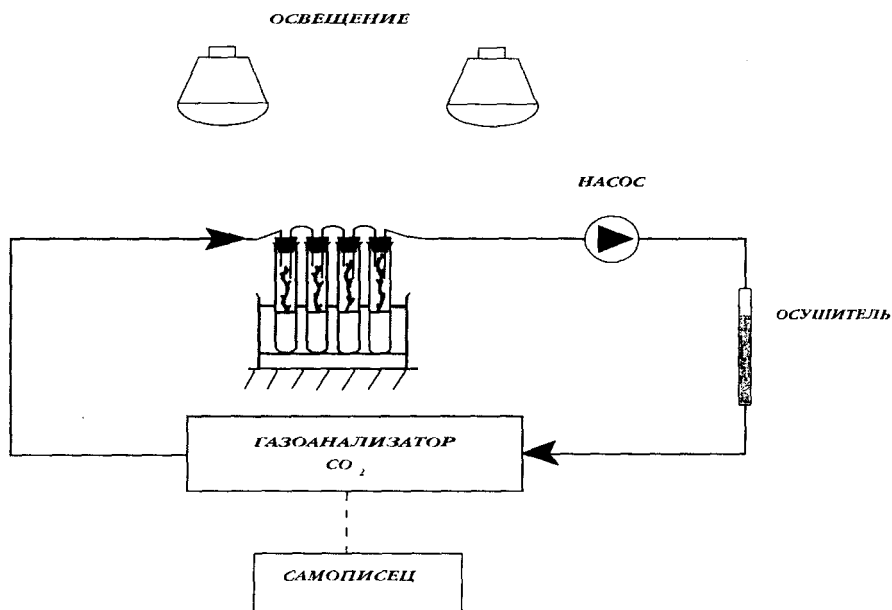
Электростатическое поле создавали генератором высокого напряжения В-524. Установка создана при участии инженеров лаборатории кафедры физиологии растений МСХА Н.А Голика и О.С. Фанталова [8]. Воздействие электростатическим полем было постоянным на протяжении всего пассажа (30 дней).

Объектом исследований служили следующие сорта картофеля: Удача (ВНИИ картофельного хозяйства), Романо голландской селекции и Шийр-6 монгольской селекции, различающиеся по скороспелости.

Внешним проявлением фотосинтеза и дыхательной функции растений являются поглощение  $CO_2$  и выделение  $O_2$ , а также увеличение массы фотосинтезирующих тканей за счет фотосинтетического образования органических веществ. В наших опытах интенсивность  $CO_2$  газообмена на свету и в темноте определяли

газоанализатором ГОА-4 (0-0,05% CO<sub>2</sub>) по «замкнутому» контуру, где измеряли изменение концентрации CO<sub>2</sub> в воздухе после прохождения его через последовательную цепочку из 4 пробирок с вегетирующими мик-

роробегами и выражали в мг/ч на 1 г сухой растительной массы [1]. При освещении воздух обедняется CO<sub>2</sub>, а при затемнении — обогащается (за счет CO<sub>2</sub>, выделяющегося в процессе дыхания) (схема 1).



Интенсивность видимого фотосинтеза и темнового дыхания рассчитывали по формуле

$$J_{д, ф} = \frac{V \cdot \Delta\alpha_{конц}}{m \cdot 100 \% \cdot \Delta\tau},$$

где V — объем анализируемого воздуха в замкнутой системе, мл/см<sup>3</sup>; Δα<sub>конц</sub> — изменение концентрации CO<sub>2</sub> за время экспозиции, %; m — масса анализируемых растительных объектов, г; Δτ — продолжительность экспозиции, мин.

Опыты проводились в 5-8-кратной повторности. Возраст пробирочных растений 30 дней. Культуральная среда MS с добавлением витаминов, сахарозы — 20 г/л, агара — 8 г/л. Для индуцирования корнеоб-

разования (ризогенеза) использовали р-индолилмасляную кислоту в концентрации 0,1 мг/л.

Культивирование вели в климатической камере «Фитотрон» кафедры физиологии растений при 16-часовой продолжительности светового дня, температуре +20°C ночью и +25°C днем и освещенности 3000 лк. Статистическая обработка проводилась с помощью компьютерной программы Excel.

### Результаты

В наших опытах отмечаются значительные различия CO<sub>2</sub> газообмена пробирочных растений по вариантам опыта с обработкой электростатическими полями и изучаемым сортам.

Как видно из рис. 1 и таблицы, видимый фотосинтез у сорта Удача при воздействии электростатическим полем  $E = +10$  кВ/м (вариант I) и в контрольном варианте был одинаков и несколько меньше в варианте с воздействием полем  $E = -10$  кВ/м (вариант III). Показатели же темнового дыхания были минимальными в варианте I, максимальными — в варианте III.

Для более объективной характеристики физиологического состояния целого растения под воздействием внешних условий удобнее использовать не абсолютные величины интенсивностей процессов, а относительные соотношения фотосинтеза и суммарного дыхания [9]. Так, если выразить интенсивность  $CO_2$  газообмена растения соотношением фотосинтетического и темнового газообмена,

то более четко проявляются различия в метаболизме пробирочных растений, подвергавшихся обработке электростатическими полями различной направленности, которая проявилась в общей стимуляции роста, в частности в изменении сырой и сухой массы, высоты растений, формировании большего числа метамеров. Так, в варианте I при воздействии полем  $E = +10$  кВ/м соотношение дыхания и средней величины наблюдаемого фотосинтеза составляло 45,2%, что меньше контроля на 6,5%, в варианте III при воздействии полем  $E = -10$  кВ/м доля затрат на дыхание от gross-фотосинтеза была больше, чем в контроле на 15,2% и составила 66,9%.

Эти данные свидетельствуют о том, что на фоне приблизительно одинаковых значений интенсивнос-

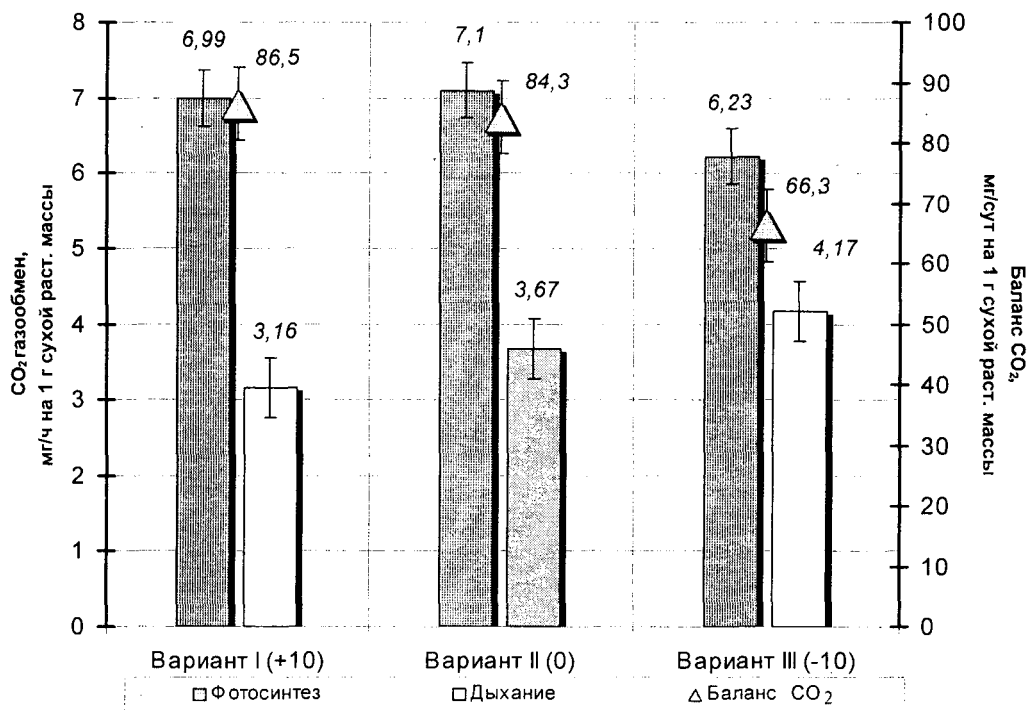


Рис. 1.  $CO_2$  газообмен у пробирочных растений (мг/ч на 1 г сухой раст. массы). Сорт картофеля Удача

СО<sub>2</sub> газообмен у пробирочных растений картофеля

Сорт	Видимый фотосинтез, мг/ч на 1 г сухой раст. массы	Темновое дыхание, мг/ч на 1 г сухой раст. массы	Соотношение дыхательных затрат от фотосинтеза, %	Гресс-фото-синтез, мг/ч на 1 г сухой раст. массы	Баланс СО <sub>2</sub>		Средняя сухая масса растений, г
					мг/сут на 1 г сухой раст. массы	мг/сут на 1 пробирочное растение	
<i>Вариант I (E = +10 кВ/м)</i>							
Удача	6,99 ± 0,37	3,16 ± 0,82	45,2	10,15 ± 0,91	86,5 ± 9,6	2,31 ± 0,03	0,0267 ± 0,0032
Шийр-6	8,66 ± 0,92	2,41 ± 0,70	27,8	11,27 ± 1,27	122,4 ± 15,1	2,55 ± 0,05	0,0209 ± 0,0031
Романо	2,64 ± 0,32	1,88 ± 0,26	71,2	4,52 ± 0,58	27,2 ± 3,1	0,34 ± 0,01	0,0125 ± 0,0016
<i>Вариант II (E = 0 кВ/м)</i>							
Удача	7,10 ± 0,36	3,67 ± 0,63	51,7	10,78 ± 0,70	84,3 ± 7,8	1,52 ± 0,02	0,0180 ± 0,0025
Шийр-6	8,90 ± 0,71	2,43 ± 0,51	27,3	11,44 ± 1,33	122,1 ± 8,8	2,30 ± 0,01	0,0188 ± 0,0012
Романо	1,87 ± 0,09	1,90 ± 0,29	101,6	3,77 ± 0,38	14,7 ± 1,1	0,17 ± 0,001	0,0116 ± 0,0011
<i>Вариант III (E = -10 кВ/м)</i>							
Удача	6,23 ± 0,61	4,17 ± 0,15	66,9	10,4 ± 0,67	66,3 ± 9,3	1,30 ± 0,02	0,0196 ± 0,0025
Шийр-6	9,25 ± 0,75	3,80 ± 0,35	41,1	13,05 ± 0,81	117,6 ± 13,4	2,25 ± 0,03	0,0191 ± 0,0024
Романо	2,69 ± 0,27	2,14 ± 0,33	79,6	4,83 ± 0,46	25,8 ± 4,4	0,30 ± 0,01	0,0116 ± 0,0011

ти фотосинтеза, что поддерживается стационарными условиями выращивания и определенным объемом культуральной среды, вес растений увеличивается за счет уменьшения расхода углерода на дыхание.

Такую же тенденцию можно отметить при проведении расчета суточного баланса  $\text{CO}_2$  в мг/сут на 1 г сухой раст. массы, которая обусловлена связью метаболических процессов, происходящих на свету в течение светлого времени суток, и в темноте ночью, т.е. суточным метаболизмом. Как видно из представленных данных, при воздействии электростатическим полем  $E = +10$  кВ/м баланс  $\text{CO}_2$  у растений картофеля сорта Удача составлял 86,5 мг/сут на 1 г сухой раст. массы, что больше контроля на 2,2 мг/сут на 1 г сухой раст. массы. При этом если учесть, что пробирочные растения в данных вариантах опыта различаются накоплением сухой массы, то различие в балансе  $\text{CO}_2$  резко увеличивается и достигает 134,4% по отношению к контролю.

В то же время при воздействии полем  $E = -10$  кВ/м баланс  $\text{CO}_2$  составлял лишь 66,3 мг/сут на 1 г сухой раст. массы, что по данным биометрических показателей, возможно, связано с увеличением доли затрат на дыхание корней вследствие увеличения корневой массы по отношению к зеленой фотосинтезирующей части пробирочного растения [8].

На сорте Шийр-6, так же как и на сорте Удача вариант I ( $E = +10$  кВ/м) и контрольный практически не различались по интенсивности  $\text{CO}_2$  газообмена как на свету, так и в темноте, и в связи с этим соотношение дыхательных и фотосинтетических затрат от видимого фотосинтеза было одинаковым (рис. 2, таблица).

Если перевести суточный баланс  $\text{CO}_2$  на общую накопленную сухую

массу растений, то здесь проявляются различия: в варианте I на 10,6% больше, чем в контроле.

Данные результаты мы связываем с тем, что в варианте I со стимуляцией электростатическим полем  $E = +10$  кВ/м пик функциональной активности пробирочных растений уже был достигнут, что проявилось в большем накоплении биомассы, а показатели газообмена можно объяснить тем, что растения уже пережили фазу активного роста, а также истощением веществ, уменьшением оводненности питательной среды из-за более интенсивного ее потребления в течение 30-дневного пассажа.

В варианте III при воздействии электростатическим полем  $E = -10$  кВ/м у растений сорта Шийр-6, аналогично сорту Удача, отмечено увеличение доли затрат на дыхание на 13,8% по сравнению с контролем при относительном равенстве фотосинтетического газообмена, что, возможно, тоже объясняется увеличением отношения корневой части к зеленой ассимилирующей ткани.

У сорта Романо показатели газообмена у пробирочных растений значительно отличались от таковых по сравнению с двумя предыдущими сортами. Как видно из данных, представленных на рис. 3 и таблице, показатели  $\text{CO}_2$  газообмена растений при воздействии электростатическими полями разной направленности (+10 и -10 кВ/м) незначительно различались между собой и довольно в большой степени отличались от контроля.

Так, если  $\text{CO}_2$  газообмен на свету в обоих опытных вариантах составлял соответственно 2,64 и 2,69 мг/ч на 1 г сухой массы, то в контроле — лишь 1,87 мг. Интенсивность  $\text{CO}_2$  газообмена в темноте во всех вариантах опыта в отличие от фотосинтеза

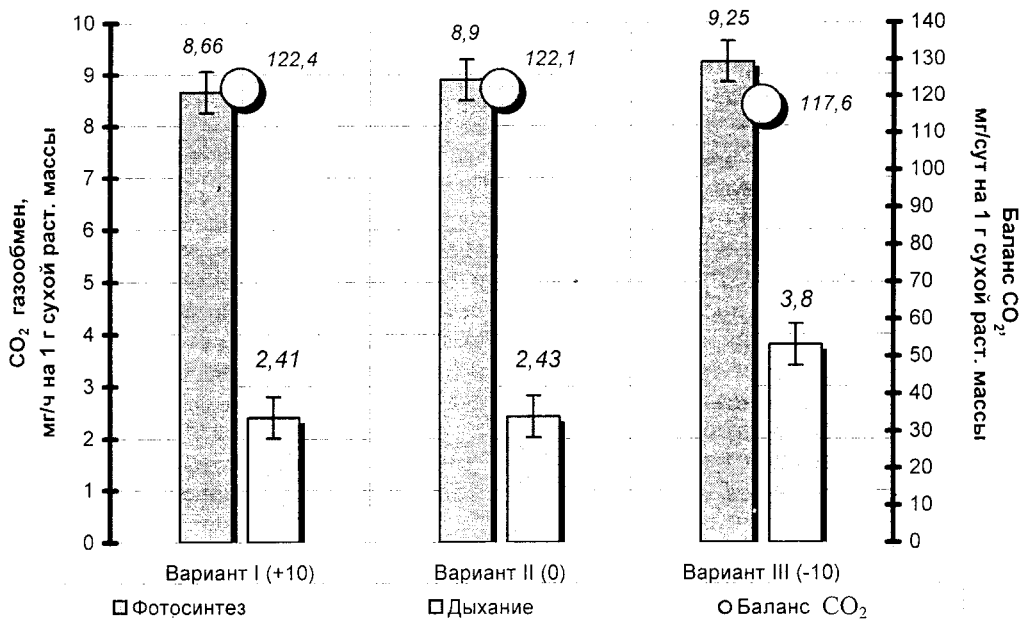


Рис. 2. CO<sub>2</sub> газообмен у пробирочных растений (мг/ч на 1 г сухой раст. массы). Сорт Шийр-6

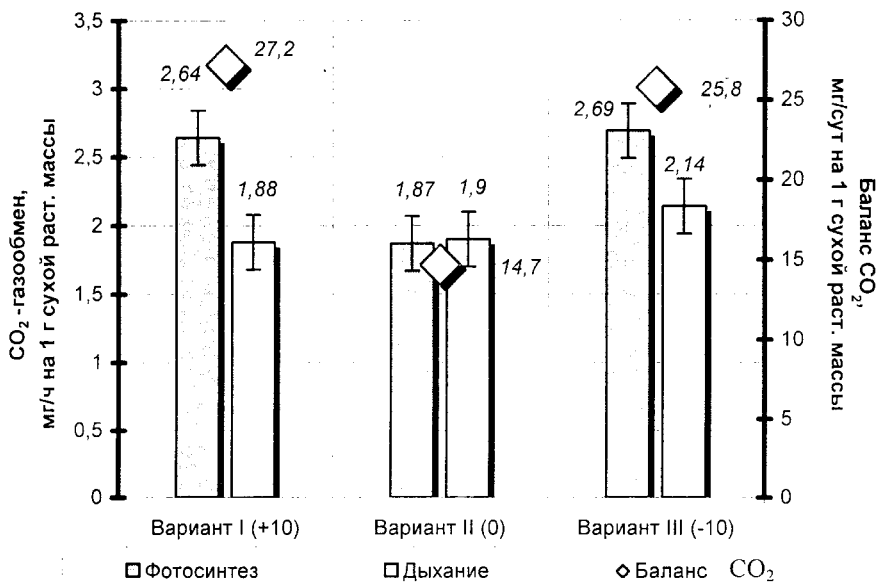


Рис. 3. CO<sub>2</sub> газообмен у пробирочных растений (мг/ч на 1 г сухой раст. массы). Сорт Романо

находилась, примерно, на одинаковом уровне — от 1,88 до 2,14 мг/ч  $\text{CO}_2$  на 1 г сухой массы. При этом соотношение дыхательных затрат и суммарного gross-фотосинтеза в вариантах с воздействием электростатическим полем как положительной, так и отрицательной направленности составляло 71,2 и 79,6% соответственно, тогда как в контроле затраты на дыхание полностью превосходили фотосинтез, т.е. 100% образовавшихся ассимилянтов затрачиваются на создание и поддержание структурной биомассы (углеродного скелета).

Такие различия по этому показателю между вариантами опыта и контролем можно объяснить тем, что сорт Романо позднеспелый и в контрольном варианте пробирочные растения находились на более ранней стадии онтогенеза, когда фиксация  $\text{CO}_2$  происходит по гетеротрофному пути, где общая скорость фиксации  $\text{CO}_2$  довольно мала и соизмерима с выделением  $\text{CO}_2$  при дыхании. Также, возможно, на данном этапе создание и поддержание структурной биомассы происходят за счет углеродных компонентов субстрата. По данным Мокроносова [5], у растений картофеля на ранних этапах онтогенеза углеродный обмен происходит по гетеротрофному пути, когда большая часть образовавшейся ФГК превращается в ФЕП с дальнейшим образованием неуглеродных продуктов (аланина, серина, малата и аспартата), которые используются в ростовых структурообразующих процессах. В дальнейшем метаболизм ФГК начинает проходить по восстановительному пути.

Надо отметить, что регенеранты сорта Романо в электростатических полях разной направленности практически одинаково реагировали на воздействие изменением интенсивности

составляющих  $\text{CO}_2$  газообмена, которые в пересчете на баланс  $\text{CO}_2$  были соответственно 27,2 и 25,8 мг/сут на 1 г сухой массы, в контроле данный показатель составлял лишь 14,7 мг/сут. Причем при воздействии электростатическим полем  $E = -10$  кВ/м, как и у сортов Удача и Шийр-6, доля дыхания в gross-фотосинтезе была выше, чем у растений, экспонированных в положительном поле, что в конечном счете выражается в меньшем накоплении биомассы. Если баланс  $\text{CO}_2$  выразить в пересчете на общую сухую растительную массу, то он выше в варианте I под воздействием электростатическим полем  $E = +10$  кВ/м на 50% и варианте III при  $E = -10$  кВ/м на 43,3% по сравнению с контролем.

Можно предположить, что при данном соотношении дыхательного и фотосинтетического газообмена у позднеспелого сорта Романо под воздействием отрицательного поля при более продолжительной экспозиции, чем в 30 дней, проявились бы различия в накоплении сухой массы, которые при принятой стандартной экспозиции в 30 дней не выявились.

## Заключение

Как видно из представленных данных  $\text{CO}_2$  газообмена, у пробирочных растений степень влияния ЭСП (электростатического поля) на интенсивность дыхательного и фотосинтетического газообмена зависела от особенностей сорта, а также направленности ЭСП.

При действии ЭСП  $E = +10$  кВ/м у всех сортов отмечено большее накопление биомассы за счет уменьшения доли затрат на дыхание от gross-фотосинтеза путем увеличения образования фотосинтезирующей ткани по отношению к корневой массе и более эффективного расходования фотоассимилянтов. При воздействии ЭСП  $E = -10$  кВ/м увеличивалась доля темного дыхания от фо-



тосинтетического газообмена, что в конечном счете у растений сортов Удача и Шийр-6 выразалось в угнетении ростовых функций. У сорта Романо с более растянутым периодом онтогенеза воздействие ЭСП отрицательной направленности в значительной мере стимулировало интенсивность фотосинтеза, что свидетельствует о потенциальных возможностях пробирочных растений данного сорта при более длительных экспозициях стимулировать метаболизм. Уровень фотосинтеза, возможно, лимитировался уровнем корневого питания отличающихся у скороспелых сортов (ограничивающая роль фиксированных объемов субстрата). В связи с этим возможно уточнение технологии при выборе сроков пересадок для различных сортов, различающихся по скороспелости. Раннеспелые сорта в связи с более интенсивными темпами роста после истощения культуральной среды заметно снижают метаболическую активность.

Как отмечает Мокроносов [4], ведущими факторами продукционного процесса на уровне целого растения являются организация и регуляция донорно-акцепторных отношений, где проявляются все элементы интеграции фотосинтеза и роста, включая эндогенную регуляцию фотосинтеза, транспорт и распределение ассимилянтов, вторичный метаболизм и функции запасяющих органов, гормо-

нальную регуляцию. Активность же дыхательных систем изменяется в онтогенезе в соответствии с потребностями процессов роста и развития.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. *Аканов Э.Н.* Метод герметичной камеры в агрометеорологических и агрофизиологических исследованиях. — Автореф. канд. дис. Л., 1989. — 2. *Головки Т.К.* Дыхание растений. СПб, 1999. — 3. *Мокроносов А.Т.* Онтогенетические аспекты фотосинтеза. М.: Наука. 1981. — 4. *Мокроносов А.Т.* Интеграция функций роста и фотосинтеза. — Физиол. раст., 1983, т. 30, вып. 5, с. 868-880. — 5. *Мокроносов А.Т.* Фотосинтез: физиолого-экологические и биохимические аспекты. М., 1992. — 6. *Ничипорович А.А.* Физиология фотосинтеза и продуктивность растений. — Физиология фотосинтеза. М.: Наука. 1982, с. 7-33. — 7. *Семихатова О.А.* Соотношение фотосинтеза и дыхания в продукционном процессе растения. Фотосинтез продукционные процессы. М., 1988, с. 98-109. — 8. *Сувд Ч., Овчинникова В.Н., Третьяков Н.Н. и др.* Регенерация меристем и рост черенков *Solanum tuberosum* L. при клональном микроразмножении *in vitro* под действием ЭСП. — Сельскохозяйственная биология, 2004, № 1, с. 73-77. — 9. *Cannel M.G.R., Thornley J.H.M.* — *Annals of Botany*, 2000, 85, p. 45-54.

*Статья поступила  
5 марта 2004 г.*

#### SUMMARY

Considerable differences in CO<sub>2</sub> gas exchange have been found in test tube plants at variants of experiment with treatment by electrostatic fields and with varieties studied. Degree of effect of ESF (electrostatic field) on intensiveness of respiratory and photosynthetic gas exchange depended on specificity of the variety, as well as on direction of ESF. When with ESF efficiency  $E = +10$  kv/m in all varieties accumulation of biomass increased because of lower expenditure on breathing from gross-photosynthesis due to increased formation of photosynthesized tissue with respect to root mass and more effective consumption of photoassimilators.