

УДК 635.21:581.1

ВЛИЯНИЕ ЭЛЕКТРОСТАТИЧЕСКИХ ПОЛЕЙ НА РЕГЕНЕРАЦИОННЫЕ ПРОЦЕССЫ И ГОРМОНАЛЬНУЮ СИСТЕМУ КАРТОФЕЛЯ В УСЛОВИЯХ IN VITRO

Н.Н. ТРЕТЬЯКОВ, В.Н. ОВЧИННИКОВА*, Т.И. ЛУЗИНА**, Ч. СУВД

(Кафедра физиологии растений)

Воздействие на растения электрическими полями представляет интерес для изучения регулирования процессов регенерации в культуре тканей и клеток растений, роста и развития регенерантов, в т. ч. полученных на основе генной инженерии, где необходима быстрая регенерация с целью предотвращения нежелательной соматоклональной изменчивости и создания лучших условий для прохождения отдельных этапов морфогенеза.

Проведенные в 1985-1995 гг. на кафедре физиологии растений МСХА исследования показали возможность активно влиять электрическими полями на процессы морфогенеза ряда с.-х. культур (кукуруза, огурец, томат, картофель, плодовые и ягодные культуры) [5-7, 22].

В 2002-2004 гг. при участии сотрудников МСХА, ВНИИ СБ РАСХН и Орловского госуниверситета проведены комплексные исследования по применению электростатического поля на отдельных этапах культивирования растений картофеля в условиях *in vitro*. Выявлено стимулирующее действие отдельных уровней и направленности электростатического поля на регенерацию меристем, клональное микроразмножение, каллусогенез, адвентивное побегообразование разных типов эксплантов, интенсивность видимого фотосинтеза и темнового дыхания, топографию градиентов БЭП (биоэлектрических потенциалов) [18-21]. В настоящей статье приводятся результаты определения гормонального статуса пробирочных растений картофеля 3 генотипов на этапе клонального размножения.

Появление эндогенных электрических токов, входящих в растущие и выходящих из закончивших рост участков клетки, является одной из наиболее ранних реакций, в процессе дифференцировки растительных клеток, характеризующихся полярным типом роста. Эти электрические токи, как правило, предшествуют морфологическим изменениям [28]. Поляризация и, в

первую очередь, возникновение электрических токов имеет важное значение в росте и развитии зародыша [24]. Обработка слабым электрическим полем увеличивает прирост массы каллуса, значительно повышает частоту формирования корней, почек и побегов [8], стимулирует соматический эмбриогенез в культуре мезофильных протопластов [26]. Напротив, под действием

* Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии (ВНИИ СБ РАСХН).

** Орловский Государственный Университет.

электростатических полей и низкочастотных полей высокой напряженности выявлены значительные повреждения надземной части растения: кончиков листьев у ячменя; подавление роста и понижение урожайности на 30% у кукурузы, сорго, бобовых; повреждение клеток эпидермиса, нарушение хода деления клеток [23-25].

Гормональная система — важнейший фактор регуляции процессов жизнедеятельности растений [10]. Место синтеза ИУК — апикальная меристема побега. Отсюда ауксин передвигается по живым клеткам проводящих пучков до кончиков корней. Цитокинины образуются в корневой системе и по сосудам ксилемы пассивно транспортируются во все части растения. Синтез АБК происходит в стареющих листьях и корневом чехлике. Вполне вероятно, что изменение аксиальных градиентов биоэлектрических потенциалов растений может оказывать влияние не только на транспорт минеральных, но и органических соединений, в т. ч. и эндогенных фитогормонов. Еще в 1932 г. Went высказал предположение о том, что именно перемещение фитогормонов из мест синтеза к зонам роста может быть связано с электрическим зарядом растительных тканей. Это было в дальнейшем подтверждено Н.Г. Холодным, показавшим передвижение ауксина в электрическом поле в сторону положительно заряженных участков растительных тканей.

Воздействие электростатического поля на этапе микроразмножения способствует увеличению дополнительной пролиферации пазушных почек и усилению роста микропобега, уменьшению величины пластохрона, что обеспечивает увеличение количества зачаточных

листьев, места синтеза ауксинов, стимулирует рост меристематических верхушек в длину [9]. Работая с трудноукореняемыми черенками ивы, Domanski с соавторами [27] при помощи ростовых биотестов показали, что пропускание электрического тока вызывает выделение в среду для укоренения ростовых протомеров, веществ, одним из которых может быть ИУК. Известно, что базипетальный транспорт ауксина играет существенную роль в процессе корнеобразования. В работе Стрельцова и др. [17] при воздействии на апикальную и базальную части черенков розы разностью потенциалов в 15В наблюдалось усиление каллусогенеза и корнеобразования без применения ростовых веществ, заметно стимулировался рост побегов старовозрастных аномальных пробирочных растений стевии с одновременным приобретением ими нормальной морфологии. Одновременно отмечалось 100%-ное укоренение побегов, что совсем не проявлялось у необработанных пробирочных растений. Эту закономерность авторы объясняют тем, что при воздействии электростатического поля усиливается экспрессия генов, ответственных за рост, активизируется синтез эндогенных ауксинов, цитокининов, гиббереллинов.

Накоплен большой фактический материал, свидетельствующий о том, что фитогормоны играют значительную роль в изменении биоэлектрической активности и соответственно ионного обмена клетки [10-14].

Методика

Исследования проводили в лаборатории физиологии растений МСХА и лаборатории ВНИИСБ, анализы гормонов на кафедре ботаники и физиологии растений Орловского

госуниверситета. В серии опытов изучали влияние электростатического поля (ЭСП) на гормональный статус растений на этапе клонального микроразмножения пробирочных растений картофеля.

В качестве модельного объекта использовали растения сортов Удача (селекция ВНИИ КХ), Шийр-6 (монгольской селекции) и Романо (голландской селекции). Сорты различаются по срокам созревания (Удача и Шийр-6 — раннеспелые, Романо — позднеспелый) и другим физиологическим особенностям в полевых условиях, а также скоростью роста, реакцией на гормональные и внешние условия и другие показатели в культуре *in vitro*.

Все культуральные работы проводили по методике, описанной Р.Г.Бутенко. Культуральная среда МС с добавлением витаминов содержала сахарозу — 20 г/л, агар — 8 г/л. Для индуцирования корнеобразования (ризогенеза) применяли: [3-индолилмасляную кислоту в концентрации 0,1 мг/л. Растения культивировали в климатической камере при 16-часовой продолжительности светового дня, температуре +20°C ночью и +25°C днем, освещенности 3000 лк.

Применяли **бесконтактный способ** воздействия ЭСП разной полярности на ход морфогенеза на этапе микрочеренкования растений картофеля *in vitro*. Регенерация пазушных почек, ризогенез, последующее развитие растений проходило на фоне постоянного воздействия электростатических полей напряженностью ($E = +10$ кВ/м и $E = -10$ кВ/м). ЭСП создавали генератором высокого напряжения В-524 в специальной установке, разработанной в лаборатории кафедры физиологии растений МСХА.

Воздействие электростатическим полем на растения было постоянным на протяжении всего пассажа (30 дней).

Интенсивность CO_2 -газообмена на свету и в темноте определяли газоанализатором ГОА-4 (0-0,05% CO_2) по «замкнутому» контуру [1], учитывали изменение концентрации CO_2 в воздухе после прохождения через последовательную цепочку из 4 пробирок с вегетирующим микропобегами растений картофеля.

Экстракцию эндогенных ИУК, цитокининов и АБК проводили комплексным методом [4] отдельно из апикальной и базальной частей побегов картофеля (2-3 см), предварительно зафиксированных жидким азотом. Модификация метода состояла в экстракционной очистке гормонов по Веселову [3]. После упаривания экстракта на роторном испарителе ИР-1М (Россия) до водного остатка отделяли аликвоту для определения цитокининов. После подкисления водного остатка (рН 2-3) дважды экстрагировали ИУК и АБК диэтиловым эфиром. Из объединенной органической фазы кислые ауксины и АБК реэкстрагировали 1%-м гидрокарбонатом натрия в соотношении 1: 3. Органическую фазу отделяли и отбрасывали, а из водной (после подкисления до рН 2~3) вновь дважды извлекали ауксины и АБК диэтиловым эфиром и метилировали их диазометаном. Аликвоту водного остатка для определения цитокининов доводили 5%-м раствором гидрокарбоната натрия до нейтрального рН. Экстракцию цитокининов проводили бутанолом, а их разделение путем хроматографии на бумаге (ватман 1) в системе растворителей — бутанол : аммиак : вода (3 : 1 : 1) с последующим элюированием 80%-м этанолом

зон хроматограммы с R_f зеатинрибозид (0,4-0,5) и R_f зеатина (0,7 — 0,8). Содержание фитогормонов определяли методом иммуноферментного анализа [3, 12] с использованием реактивов фирмы «Ураливест» (Уфа) на плащечном микрофотометре («Диа-М», Россия). В качестве стандартов были взяты: ИУК, АБК, зеатин («Serva», Германия), зеатинрибозид («Sigma», США). Анализ содержания гормонов в апикальной и базальной частях растений позволяет судить о создаваемых различными электростатическими полями градиенте гормонов.

Результаты и их обсуждение

Целью нашей работы было выяснение влияния ЭСП полярной направленности на гормональный баланс и регенерационные процессы пробирочных растений картофеля *S. tuberosum*. Остановимся на результатах проведенных опытов по действию электростатических полей (ЭСП) разной направленности и напряженности на биометрические показатели и CO_2 -газообмен растений на различных этапах технологии клонального микроразмножения.

Пробирочные растения, выращенные в условиях ЭСП, существенно отличались от контрольных темпами роста и органогенеза, градиентами и уровнем биоэлектрических потенциалов, интенсивностью CO_2 -газообмена.

Следует отметить стимуляцию физиологической активности по большинству показателей в поле напряженностью $E = +10$ кВ/м. Так, высота побега, сухая масса растений, максимальный БЭП (биоэлектрический потенциал), число образовавшихся узлов (междоузлий)

значительно превышали показатели контрольных растений, в среднем на 22,8 %. В то же время рост корней значительно замедлялся и составлял лишь 70,2% от контроля. Воздействие же полем $E = -10$ кВ/м оказало меньшее влияние на прирост фотосинтезирующей части растений всех сортов. Количество междоузлий находилось в прямой корреляции с приростом надземной части побега. Однако увеличение общей длины корней 1-го порядка в этом поле было значительным — на 25,5% выше контроля [18, 20].

При действии электростатического поля на осевые градиенты биоэлектрических потенциалов растений картофеля на этапе микрочеренкования отмечено существенное увеличение градиентов БЭП у скороспелого сорта картофеля Удача и Шийр-6 при выращивании растений в ЭСП $E = +10$ кВ/м, реакция позднеспелого сорта Романо была менее выраженной [22].

Под влиянием ЭСП $E = -10$ кВ/м у сортов Удача и Шийр отмечено существенное снижение осевого градиента БЭП, соответственно на 9 и 5 % по сравнению с контролем. Наоборот, у растений сорта Романо превышение градиента БЭП было значительным и составило 19%.

Процесс прямой регенерации (адвентивного побегообразования) после 30 дней пассажа под воздействием ЭСП существенно ускорился в последующем при пересадке растений на среды соответствующего гормонального состава. В конце 2-го пассажа выход регенерантов увеличивался в лучших вариантах на 22-165% [19].

Ведущим фактором процессов регенерации целого растения в культуре *in vitro* является эндогенная регуляция донорно-акцепторных отношений фотосинтеза, дыха-

ния, роста, транспорта и распределения ассимилятов и др., осуществляемая гормональной и другими системами регуляции.

В связи с этим была исследована взаимосвязь формирования биомассы пробирочными растениями с фотосинтезом и темновым дыханием.

В табл. 1 представлены показатели CO_2 -газообмена растений картофеля в период взятия проб для определения содержания гормонов. При этом определяли интенсивность видимого фотосинтеза (P), темнового дыхания (R), массу растений в вариантах опыта. Как видно из полученных данных, степень влияния электростатических полей (ЭСП) на фотосинтетический и дыхательный газообмен, общую массу растений зависела от особенностей сорта, а также направленности ЭСП. По всем сортам показано преимущество пробирочных растений при воздействии поля $E = +10$ кВ/м перед контролем и полем $E = -10$ кВ/м по сухой массе, особенно скороспелых сортов Удача и Шийр-6. Растения медленно растущего позднеспелого сорта Романо в контроле и опытных вариантах электростатических полей в этот период онтогенеза имели ин-

тенсивность видимого фотосинтеза (P) и темнового дыхания (R) в 2-3 раза меньшую по сравнению с растениями скороспелой группы. Следует также отметить, что у растений в электростатическом поле $E = -10$ кВ/м существенно возростала дыхательная компонента CO_2 -газообмена и отношение R/P по сравнению с растениями картофеля в поле $E = +10$ кВ/м. Электростатические поля, очевидно, существенно влияли на поглощение растениями и *использование углерода органических соединений* питательных сред *in vitro*. Этим отчасти можно также объяснить обнаруженные между вариантами различия в суточном балансе CO_2 в расчете на 1 г сухой массы пробирочных растений. По данным биометрических показателей отмеченное явление, возможно, связано с увеличением затрат метаболитов на дыхание корневой массы по отношению к зеленой фотосинтезирующей части пробирочного растения [20].

Многие изменения в биометрических показателях и газообмене пробирочных растений, очевидно, связаны с изменением *гормонального статуса* под действием электростатического поля.

Таблица 1

Показатели CO_2 -газообмена пробирочных растений картофеля

Сорт	Вариант (напряженность ЭСП, E)	P, мг/ч на 1 г сухой массы	ΣR , мг/ч на 1 г сухой массы	$\Sigma R/P$, %	P_0 , мг/ч на 1 г сухой массы	Баланс CO_2 , мг/сут на 1 г сухой массы	Сухая масса растения, г
Удача	Контроль	7,10±0,36	3,67±0,63	51,7	10,78±0,70	84,3±7,8	0,0180±0,0025
	+10 кВ/м	6,99±0,37	3,16±0,82	45,2	10,15±0,91	86,5±9,6	0,0267±0,0032
	-10 кВ/м	6,23±0,61	4,17±0,15	66,9	10,4±0,67	66,3±9,3	0,0196±0,0025
Романо	Контроль	1,87±0,09	1,90±0,29	101,6	3,77±0,38	14,7±1,1	0,0116±0,0011
	+10 кВ/м	2,64±0,32	1,88±0,26	71,2	4,52±0,58	27,2±3,1	0,0125±0,0016
	-10 кВ/м	2,69±0,27	2,14±0,33	79,6	4,83±0,46	25,8±4,4	0,0116±0,0011
Шийр-6	Контроль	8,90±0,71	2,43±0,51	27,3	11,44±1,33	122,1±8,8	0,0188±0,0012
	+10 кВ/м	8,66±0,92	2,41±0,70	27,8	11,27±1,27	122,4±15,1	0,0209±0,0031
	-10 кВ/м	9,25±0,75	3,80±0,35	41,1	13,05±0,81	117,6±13,4	0,0191±0,0024

Общепризнано, что в каждый период развития растения и его отдельных органов поддерживается определенное содержание и соотношение гормонов, *гормональный статус*.

Полученные данные о содержании гормонов дают представление о гормональном статусе растений в конце пассажа, предшествующего переносу растений картофеля (регенерантов) в установку для получения миниклубней или в теплицы (парники) для получения адаптированной к полевым условиям рассады картофеля. Как показали полевые исследования, клонированные в ЭСП напряженностью $E = +10$ кВ/м растения имели лучшую приживаемость и семенную продуктивность по сравнению с растениями в контрольных условиях (вне ЭСП $E = +10$ кВ/м). Для анализа гормонального состояния растений картофеля под действием ЭСП разной напряженности и направленности использовали такие показатели, как содержание гормона в мкг/г сухой массы в апикальной и базальной частях побега, градиент и направление градиента гормона в побеге, процентное соотношение ИУК и зетина.

Содержание ИУК. Известно, что ауксины влияют на деятельность

камбия, а также дифференцировку флоэмы и ксилемы [16].

Ауксин влияет на все фазы роста клеток, на энергетический обмен, увеличивает интенсивность фотосинтеза и дыхания, усиливает сопряжение окисления с фосфорилированием. Ауксины определяют полярность, направление транспорта веществ в растении, апикальное доминирование. Осевая полярность — это наличие хорошо развитой продольной оси, несущей латеральные органы — боковые побеги и корни, листья, определяющей порядок закладки и взаимодействия тканей и органов растения. Возникающие при поляризации клеток и тканей градиенты морфогенетических факторов определяют дифференциальную активность генома. В процессе поляризации у растений наиболее существенное значение имеет уровень и активный базипетальный транспорт ауксина [14].

Данные о влиянии электростатического поля на содержание ИУК в апикальной и базальной зонах побега растений картофеля изучавшихся сортов представлены в табл. 2.

В побегах картофеля всех изученных сортов в контроле (без воздействия ЭСП) наблюдался базипетальный градиент содержания ауксина,

Таблица 2
Влияние электростатического поля на содержание ИУК в апикальной и базальной зонах побега растений картофеля разных сортов (мкг/г сухой массы)

Вариант (напряженность ЭСП, E)	Зона побега	Сорта					
		Удача		Романо		Шийр-6	
		содержание ИУК	градиент	содержание ИУК	градиент	содержание ИУК	градиент
Контроль	Апикальная	4,48±0,31	0,49	14,16±0,13	9,68	6,32±0,50	2,77
	Базальная	3,99±0,28		4,48±0,35		3,55±0,24	
+10 кВ/м	Апикальная	6,32±0,56	5,20	28,25±2,54	23,77	28,30±1,98	14,14
	Базальная	1,12±0,08		4,48±0,31		14,16±0,99	
-10 кВ/м	Апикальная	22,44±1,57	8,28	13,56±1,08	12,76	4,50±0,31	3,08
	Базальная	14,16±1,13		0,80±0,07		1,42±0,10	

так как максимум гормона отмечен в апикальной части побега. Величина градиента была различной: максимальная у сорта Романо — 9,6 мкг/г сухой массы, минимальная — у сорта Удача — 0,5, а у сорта Шийр-6 — 2,8 мкг/г. Максимальная величина градиента у позднеспелого сорта Романо связана с существенно большим содержанием ауксина в апикальной ростовой зоне побега по сравнению с другими сортами. По содержанию ИУК в базальной зоне сорта различались незначительно.

ЭСП разной полярности оказали неоднозначное влияние на содержание ИУК в зонах стебля. ЭСП с $E = +10$ кВ/м повысило уровень содержания эндогенной ИУК в апикальной зоне побега у всех сортов. Тогда как эффект в базальной зоне зависел от сортовой специфичности. А именно: содержание ИУК уменьшилось против контроля у сорта Удача, повысилось у сорта Шийр-6 и не изменилось у позднеспелого сорта Романо. Иная картина наблюдалась при нахождении растений-регенерантов в ЭСП с $E = -10$ кВ/м. Содержание ауксина несколько снизилось в обеих зонах побега как у сорта Романо, так и Шийр-6. Напротив, у сорта Удача содержание ауксина существенно возросло. Несмотря на изменение уровня гормона в зонах побега картофеля под воздействием изучавшихся ЭСП направление градиента ауксина в побеге осталось *базипетальным*. Вместе с тем, его величина возросла против контроля у всех сортов. Для сортов Романо и Шийр-6 максимальный эффект наблюдался под воздействием $E = +10$ кВ/м, а для сорта Удача — в ЭСП с $E = -10$ кВ/м.

Содержание зеатина. Цитокининами богаты все меристематические ткани. В основном они синтези-

руются в корнях, а затем пассивно транспортируются в надземные органы растений. В условиях *in vitro* цитокинины стимулируют растяжение клеток у изолированных листьев, отрезков стеблей или коллоптей. В опытах В.Н. Овчинниковой [15] показано, что с увеличением в среде концентрации цитокининов снижалась корнеобразовательная активность черенков картофеля. Зеатин сильнее всего ингибировал корнеобразование по сравнению с 6-БАП и кинетином. На средах с цитокининами наблюдалось интенсивное развитие боковых побегов и столонов, клубнеобразование. Как снижение, так и увеличение концентрации цитокининов в среде приводило к уменьшению числа растений с клубнями и числа клубней на растении. Как правило, базальные черенки картофеля образуют большее число клубней на растении, чем апикальные черенки.

Известно, что цитокинины ускоряют метаболизм и рост изолированных органов [29]. Ауксины и цитокинины синтезируются в полярных органах и их взаимодействие может играть значительную роль в регуляции сбалансированного роста [16].

Данные о влиянии ЭСП на содержание зеатина в апикальной и базальной зонах побега картофеля изученных сортов представлены в табл. 3. Градиент цитокинина в побегах картофеля зависел от сорта: у сортов Удача и Шийр-6, как и в случае с ауксином, он был базипетальным, а у позднеспелого сорта Романо — акропетальным, так как максимум зеатина содержался в базальной зоне побега.

Что касается абсолютной величины градиента, то следует отметить следующее: в отличие от ауксинов максимальный градиент ци-

Таблица 3

Влияние электростатического поля на содержание зеатина в апикальной и базальной зонах побега растений картофеля разных сортов (мкг/г сухой массы)

Вариант (напряженность ЭСП, Е)	Зона побега	Сорта					
		Удача		Романо		Шийр-6	
		содержание ИУК	градиент	содержание ИУК	градиент	содержание ИУК	градиент
Контроль	Апикальная	14,12±1,27	13,23	0,32±0,03	0,57	8,93±0,89	7,50
	Базальная	0,89±0,08		0,89±0,07		1,41±0,12	
+10 кВ/м	Апикальная	3,56±0,32	3,06	0,20±0,02	3,36	8,84±0,79	5,58
	Базальная	0,50±0,05		3,56±0,36		3,26±2,26	
-10 кВ/м	Апикальная	1,42±0,13	0,53	1,42±0,12	4,20	0,89±0,08	0,57
	Базальная	0,89±0,07		5,64±0,51		0,32±0,03	

токинина наблюдался у сорта Удача (13,23 мкг/г сухой массы), а минимальный — у сорта Романо (0,57 мкг/г).

Электростатическое поле с $E = +10$ кВ/м оказало противоположное действие на содержание цитокининов в апикальной зоне побега по сравнению с ИУК. Уровень зеатина уменьшился. Количество гормона в базальной зоне данного варианта зависело от сорта: снизилось у сорта Удача и повысилось у сортов Романо и Шийр-6.

В результате пребывания регенерантов картофеля в электростатическом поле напряженностью -10 кВ/м еще в большей степени уменьшилось содержание зеатина в базальной и апикальной зонах побега сорта Удача по сравнению с вариантом $E = +10$ кВ/м. Существенное снижение уровня гормона отмечено и у сорта Шийр-6. Напротив, у позднеспелого сорта Романо количество зеатина в побеге было выше в варианте с $E = -10$ кВ/м по сравнению с контролем и $E = +10$ кВ/м.

Специфическое действие ЭСП на уровень зеатина в зонах побега не изменило направление градиентов цитокинина у сортов. Однако снизилась (в отличие от ауксина) величина базипетального градиента у

сортов Удача и Шийр-6 и увеличился акропетальный градиент у сорта Романо. Напряженность ЭСП в разной степени снизила градиент гормона зеатина у сортов Удача и Шийр-6 против контроля: в большей степени в варианте, где $E = -10$ кВ/м (соответственно в 25 и 13 раз) и в значительно меньшей степени при $E = +10$ кВ/м (соответственно в 4 и 1,3 раза). Напротив, у сорта Романо действие ЭСП увеличило величину акропетального градиента в побегах картофеля. В данном случае несколько более эффективным было действие поля $E = -10$ кВ/м.

Содержание абсцизовой кислоты (АБК). АБК синтезируется главным образом в стареющих листьях и корневом чехлике и транспортируется в другие части растений. АБК играет ведущую роль в регулировании покоя, ингибирует рост почек. АБК отводится роль медиатора в становлении защитных реакций, способствующих повышению устойчивости растений. Некоторые авторы отмечают способность АБК усиливать приток продуктов фотосинтеза к аттрагирующим центрам (семена, клубни) [13]. Появляются данные о роли АБК в процессах активного роста, о высоком содержании АБК в

активно растущих органах различных растений [2], что свидетельствует о полифункциональности АБК.

Зоны побега регенерантов картофеля различались не только содержанием фитогормонов с положительным знаком действия, но и уровнем абсцизовой кислоты (табл. 4). И в данном случае в побеге наблюдался градиент гормона. У сортов Удача и Шийр-6 отмечен базипетальный градиент АБК (так же, как для ИУК и зеатина) и акропетальный у сорта Романо (как для зеатина). Максимальный градиент АБК наблюдался у сорта Шийр-6 (18,88 мкг/г сухой массы), а минимальный — у сорта Романо (4,9 мкг/г).

Воздействие ЭСП, вне зависимости от характеристики напряженности, увеличило содержание АБК в апикальной зоне у сортов Удача и Романо, но уменьшило у сорта Шийр-6. В базальной части побега сорта Романо количество АБК возросло как в варианте ЭСП $E = +10$ кВ/м, так и $E = -10$ кВ/м. У сорта Удача в базальной зоне отмечено снижение АБК при ЭСП $E = +10$ кВ/м, а у сорта Шийр-6 при $E = -10$ кВ/м.

ЭСП не изменило направление градиентов содержания АБК у исследуемых сортов, но существенно увеличило величину базипетально-

го градиента у сорта Удача и акропетального у сорта Романо. Напротив, величина базипетального градиента снизилась у сорта Шийр-6. Напряженность ЭСП $E = +10$ кВ/м была более эффективной для сорта Романо (градиент АБК увеличился почти в 10 раз), в то время как у сорта Удача величина градиента увеличилась в 3 раза, а у сорта Шийр-6 снизилась в 2 раза. В варианте с напряжённостью $E = -10$ кВ/м градиент АБК минимально увеличился у сорта Романо (в 2 раза), а максимально — у сорта Удача (почти в 4 раза).

Регуляторное действие гормонов в растении определяется не только их содержанием, но и соотношением. Соотношение гормонов различных групп определяет процессы роста, ход морфо- и органогенеза и соответственно уровень физиолого-биохимических процессов в растениях, отдельных его частях и органах. В наших опытах соотношение ИУК и зеатина существенно различалось в апикальной и базальной частях побега контрольных растений (табл. 5). В апикальной части растений скороспелых сортов Удача и Шийр-6 в сумме этих 2 гормонов преобладало содержание цитокинина (зеатина), а у позднеспелого сорта Романо — ИУК. В ба-

Таблица 4

Влияние электростатического поля на содержание АБК в апикальной и базальной зонах побега растений картофеля разных сортов (мкг/г сухой массы)

Вариант (напряженность ЭСП, E)	Зона побега	Сорта					
		Удача		Романо		Шийр-6	
		содержание ИУК	градиент	содержание ИУК	градиент	содержание ИУК	градиент
Контроль	Апикальная	8,93±0,71	6,69	1,42±0,11	4,90	22,44±1,79	18,88
	Базальная	2,24±0,16		6,32±0,44		3,56±0,32	
+10 кВ/м	Апикальная	22,44±2,02	21,03	22,44±1,79	48,50	15,89±1,43	9,77
	Базальная	1,41±0,12		70,96±5,68		6,12±0,43	
-10 кВ/м	Апикальная	31,70±2,54	25,38	6,32±0,44	9,57	8,93±0,71	38,21
	Базальная	6,32±0,51		15,89±1,27		0,72±0,06	

Таблица 5

Влияние электростатического поля на относительное содержание ИУК и зеатина в апикальной и базальной частях побега пробирочного картофеля

Вариант (напряженность ЭСП, Е)	Зона побега	Сорта								
		Удача			Шийр-6			Романо		
		ИУК+ зеатин, мкг/г	% ИУК	% зеатина	ИУК+ зеатин, мкг/г	% ИУК	% зеатина	ИУК+ зеатин, мкг/г	% ИУК	% зеатина
Контроль	Апикальная	18,6	24	76	15,25	41	59	14,48	98	2
	Базальная	4,88	82	18	4,96	72	28	5,37	83	17
+10 кВ/м	Апикальная	9,88	64	36	37,14	76	24	28,45	99	1
	Базальная	1,62	69	31	17,42	81	19	8,04	56	44
-10 кВ/м	Апикальная	23,86	94	6	5,39	84	16	14,98	90	10
	Базальная	15,05	94	6	1,74	82	18	6,44	12	88

зальной части растений сортов Удача и Шийр-6, наоборот, преобладало содержание ИУК. У сорта Романо также преобладала ИУК. Подавляющее присутствие ИУК в апикальной и базальной частях растений этого сорта выражалось соответственно 98 и 83%. Воздействие ЭСП изменило соотношение групп гормонов в апикальной и базальной (прикорневой) частях побега пробирочных растений картофеля. ЭСП напряженностью $E = +10$ кВ/м увеличило процентную долю содержания ИУК в сумме гормонов в апикальной части побега у всех изученных сортов. Напротив, в базальной части повысилась доля цитокинина. Наиболее наглядно это проявилось у сортов Романо и Удача. Иной эффект наблюдался при нахождении регенерантов в ЭСП $E = -10$ кВ/м. Отмечено существенное снижение доли зеатина во всех зонах побега: на 70 и 12% у сорта Удача и 43 и 10% у сорта Шийр-6. У сорта Романо наблюдалось повышение уровня цитокинина на 8 и 61%. Известно, что соотношение ауксина и цитокининов влияет на преимущественный рост побегов или корней.

Анализ полученных данных свидетельствует о том, что длитель-

ное (30 дней) воздействие на пробирочные растения картофеля ЭСП существенно повлияло на содержание и соотношение ИУК, зеатина и АБК. Отмечены сортовые особенности в изменении гормонального статуса растений под влиянием длительного воздействия ЭСП. Содержание фитогормонов в пробирочных растениях картофеля является результатом эндогенных синтезов и поступлением ИМК из питательных сред. Воздействие ЭСП на пробирочные растения картофеля, очевидно, влияет на все процессы, определяющие содержание конкретных фитогормонов (синтез, метаболизм, образование конъюгатов, транспорт и др.) Это влияние прямое и косвенное, через другие метаболические процессы растений.

Изменение гормонального статуса растений под влиянием ЭСП может быть как причиной, так и следствием физиологических процессов (рост, CO_2 -газообмен, БЭП и др.).

ЭСП существенно изменяет *гормональную полярность растений* — осевые градиенты гормонов. Осевые градиенты содержания фитогормонов, очевидно, характеризуют уровень аксиальной полярности побега пробирочного растения картофеля как одного из факторов, опре-

деляющих ход процессов морфо- и органогенеза, уровень отдельных физиологических и биохимических процессов растений. В большинстве случаев в наших опытах отмечено более устойчивое положительное влияние на гормональную систему пробирочных растений картофеля ЭСП с напряжением $E = +10$ кВ/м. В ряде случаев отмечено положительное действие ЭСП с напряжением $E = -10$ кВ/м.

В последующем целесообразно изучить гормональную систему растений при разных сочетаниях (при очередных пассажах) отрицательных и положительных ЭСП и длительности их воздействия на процессы регенерации, рост и развитие растений в условиях *in vitro*.

ЭСП, способствуя оптимизации гормонального статуса растений, очевидно, активирует адаптивные процессы к стрессам, которые неизбежно испытывают пробирочные растения в условиях *in vitro* (малый объем корнеобитаемой и воздушной среды в пробирке, недостаточное освещение и др.). Поэтому при последующих технологических процессах, связанных с пересадкой растений в полевые условия, растения-регенеранты после воздействия ЭСП оказываются более продуктивными по количеству и качеству семенных клубней.

Выводы

1. Пробирочные растения изучавшихся сортов картофеля в контроле и при действии ЭСП отличались по содержанию гормонов в аксиальной и базальной частях побегов.

2. Содержание ауксина (ИУК) в растениях сортов Удача, Шийр-6 и Романо в вариантах опыта варьировало соответственно по сортам (в мкг/г сухой массы) в пределах 1,12-22,44; 1,42-28,3 и 0,8-28,25; цитокинина (зеатин) по тем

же сортам соответственно 0,50-14,12; 0,32-8,93; 0,2-5,64; содержание АБК в пределах 1,41-31,7; 0,72-22,44; 1,42 — 70,96.

3. Выявлены аксиальные градиенты содержания фитогормонов в растениях изучавшихся сортов картофеля в связи с их различным содержанием в апикальной и базальной частях побега. Установлено наличие базипетального градиента ИУК у всех изученных сортов, акропетального градиента зеатина и АБК у позднеспелого сорта Романо и базипетального градиента зеатина и АБК у раннеспелых сортов Удача и Шийр-6. Различия в уровне фитогормонов, очевидно, имеют генетическую основу.

4. Культивирование растений картофеля в условиях электростатического поля (ЭСП) повлияло на содержание гормонов в апикальной и базальной зонах побега, но не изменило направление градиентов фитогормонов по сравнению с контролем, однако оказало воздействие на их величину. Так, ЭСП $E = +10$ кВ/м увеличило градиент ИУК у всех сортов, а также АБК у сортов Удача и Романо, уровень зеатина — у сорта Романо; уменьшило градиент АБК у сорта Шийр-6 и уровень зеатина у сорта Романо.

5. Электростатическое поле $E = +10$ кВ/м снизило уровень зеатина, увеличило концентрацию ИУК и АБК в апикальной части побега. ЭСП $E = -10$ кВ/м уменьшило эффективность действия на содержание зеатина и АБК и увеличило уровень ИУК. Влияние ЭСП разной напряженности на количество гормонов в базальной зоне побега зависело от сорта.

6. Между содержанием и соотношением гормонов пробирочных растений картофеля, их осевых градиентов и функциональной активностью пробирочных растений имеет место сложная связь, выраженная в изменении интенсивности CO_2 -газообмена, уровня и градиента, хода процессов морфо- и органогенеза, накопления биомассы при действии различных электростатических полей.

7. Мы полагаем, что электростимуляция перспективна при регенерации

растений в культуре ткани, которые трудно переходят к органогенезу или из соматклонов, а также из культур, полученных на основе генной инженерии, где необходима ускоренная регенерация с целью предотвращения нежелательной генетической изменчивости.

8. Гормональную систему растений картофеля (содержание фитогормонов, аксиальные градиенты), сложившуюся при выращивании в ЭСП $E=+10$ кВ/м и обеспечившую лучшее развитие пробирочных растений, очевидно, следует признать более благоприятной для регенерационных процессов растений в условиях проведенных опытов по сравнению с контролем.

ЛИТЕРАТУРА

1. **Аканов Э.Н.** Метод герметичной камеры в агрометеорологических и агрофизиологических исследованиях. АФИ ВАСХНИЛ. Автореф. канд. дисс. Л., 1989. — 2. **Бельтская Е.В., Кондратьева В.В., Кириченко Е.Б.** // Изв.АН. Серия биологическая, 1997. Т. 3. С. 261-265. — 3. **Веселов С.Ю.** Использование антител для количественного определения, очистки и локализации регуляторов роста растений. Уфа: Изд-во БГУ, 1998. — 4. **Власов П.В., Мазин В.В., Турецкая Р.Х. и др.** Комплексный метод определения природных регуляторов роста. Первичный анализ незрелых семян кукурузы на активность свободных ауксинов, гиббереллинов и цитокининов // Физиология растений, 1979. Т. 26. Вып. 3. С. 648-655. — 5. **Деменко В.И., Каменская К.И., Третьяков Н.Н.** Влияние электростатического поля на рост и развитие плодовых и ягодных растений in vitro // Доклады ТСХА, 1995. Вып. 226а. С. 107-110. — 6. **Деменко В.И.** Проблемы и возможности микроклонального размножения садовых растений. Введение в культуру // Изв. ТСХА. 2005. Вып. 2. С. 48-58. — 7. **Каменская К.И., Шогенов Ю.Х., Третьяков Н.Н.** Функциональная роль градиентов потенциалов в растениях // Электрофизиологические методы в изучении функционального состояния растений. М.: МСХА, 1988. С. 1-14. — 8. **Китлаев Г.Б., Диас С., Вера-Рамос Т.Ю. и др.** Стимуляция слабым электрическим током регенерации растений в культуре тканей кукурузы // Биотехнология, 2001. № 5. С. 58-63. — 9. **Кулаева О.Н.** Фитогормоны как регуляторы активности генетического аппарата и синтеза белка у растений. М.: Наука, 1985. С. 62-84. — 10. **Кулаева О.Н.** Как регулируется жизнь растений // Соревский Образовательный журнал, 1995. № 1. С. 20-27. — 11. **Кудоярова Г.Р., Веселов С.Ю., Каравайко Н.Н. и др.** Иммуноферментная тест-система для определения цитокининов // Физиология растений, 1990. Т. 37. Вып. 1. С. 193-199. — 12. **Кудоярова Г.Р. и др.** Иммуноферментный анализ регуляторов роста и развития растений. Применение в физиологии и экологии. Уфа: БНЦ УрО АН СССР, 1990. — 13. **Маслова С.П., Коф Э.М.** Интенсивность дыхания и содержания абсцизовой кислоты в подземном побеге столонообразующих растений // Иммуноанализ регуляторов роста в решении проблем физиологии растений, растениеводства и биотехнологии. Уфа: БГУ, 2000. С. 38-40. — 14. **Медведев С.С.** Физиология растений. Учебник. СПб.: Изд-во С.-Перб. Ун-та, 2004. — 15. **Овчинникова В.Н.** Индукция клубнеобразования картофеля в культуре in vitro. Автореф. канд. дисс. М., 1992. — 16. **Пузина Т.И., Кириллова И.Г.** Ключевые соотношения фитогормонов и их роль в регуляции физиологических процессов растений картофеля // Иммуноанализ регуляторов роста в решении проблем физиологии растений, растениеводства и биотехнологии. Уфа: БГУ. 2000. С. 41-46. — 17. **Стрельцов Б.Н. и др.** Электрофизиологическая стимуляция черенков // Цветоводство, 1984. № 5. — 18. **Сувд Ч., Овчинникова В.Н., Паничкин Л.А. и др.** Регенерация меристем и рост черенков картофеля при клональном микроразмножении in vitro под действием электрического поля // С.-х. биотехнология, 2004. № 1. С. 73-77. — 19. **Сувд Ч., Третьяков Н.Н., Овчинникова В.Н. и др.** Влияние ЭСП на прямую регенерацию корневых и стеблевых эксплантов картофеля in vitro // Изв. ТСХА, 2004. № 2. С. 69-75. — 20. **Сувд Ч.,**

- Третъяков Н.Н., Аканов Э.Н. и др.** Действие электростатического поля на этапе клонального микроразмножения картофеля на CO₂-газообмен и морфогенез растений // Изв. ТСХА, 2004. Вып. 4. С. 60-68. — 21. **Третъяков Н.Н., Сувд Ч., Паничкин Л.А. и др.** Особенности действия электростатического поля на динамику осевых градиентов биоэлектрических потенциалов растений картофеля на этапе микрочеренкования // Докл. РАСХН, 2004. № 5 С. 3-6. — 22. **Шогенов Ю.Х., Третъяков Н.Н. и др.** Влияние внешних и биогенных низкоэнергетических потенциалов на адаптацию растений в теплицах. Изв. ТСХА, 2000. Вып. 3. С. 61-77. — 23. **Banskoke et al.** // Some U.S. Research results / Pul. By CIGRE. Paris, 1978. Pap. 36-05. — 24. **Browley S.Y., Wetherell D.R., Robinson K.R.** // Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1984. V. 81. № 19. P. 6064-6067. — 25. **Chvojka L., Volf ova A., Reslava J. et al.** // M. Kaminek, D.W.S. Mok, F. Zazumalova (eds.). Physiology and Biochemistry of Cytokinins in Plants Academic Publishing, The Hague, The Netherlands, 1992. P. 369-372. — 26. **Dijak M., Smith D.L., Wilson T.J., Brown D.C.** // Plant Cell report. 1986. V. 5. № 6. P. 468-470. — 27. **Domanski et al.** // Acta Agrobot, 1978. V. 31. № 1-2. P. 173-179. — 28. **Roy.** Mich.: St. Joseph, 1981. — Weisenseek, Dorn, Jaffe // Plant Physiol. 1979. V. 64. № 4. P. 512-518.

*Статья поступила
28 декабря 2005 г.*

SUMMARY

Electrostatic field (ESF) influence on plant hormone status at a clonal micro reproduction stage with test-tube potato plants was studied. ESF favouring optimization of plants' hormone status, apparently activates adoptive processes to stress, under which all test-tube plants live inevitably under in vitro conditions (small volume for roots, of air medium, insufficient lighting etc.). Therefore subsequent technological processes related with plants' replantation in a field, plants-regenerants after ESF influence become more productive as far as quality and quantity of seed tubers are concerned.