

*На правах рукописи*

**ШУКУРОВА МУСАВВАРА ХАИТОВНА**

**РОСТ, МИКРОКЛУБНЕОБРАЗОВАНИЕ И АКТИВНОСТЬ  
АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ У УСТОЙЧИВЫХ К ЗАСОЛЕНИЮ  
ГЕНОТИПОВ КАРТОФЕЛЯ *IN VITRO***

**(03.01.05 – физиология и биохимия растений)**

**АВТОРЕФЕРАТ**  
**диссертации на соискание ученой степени**  
**кандидата биологических наук**

**Душанбе-2011**

Работа выполнена в Институте ботаники, физиологии и генетики растений АН Республики Таджикистан

**Научный руководитель:**

член-корреспондент АН  
Республики Таджикистан,  
доктор биологических наук,  
профессор К.А. Алиев

**Официальные оппоненты:**

доктор биологических наук,  
профессор Эргашев А.Э.

кандидат биологических наук,  
доцент Нарзуллаев М.С.

**Ведущая организация:**

Таджикский аграрный университет  
им. Ш. Шотемура

Защита диссертации состоится «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 20\_\_ г. в \_\_\_\_\_ часов на заседании диссертационного совета Д 047.001.01 при Институте ботаники, физиологии и генетики растений АН Республики Таджикистан (734017, г. Душанбе, ул. Каримова, 27. E-mail: asrtkarimov@mail.ru)

С диссертацией можно ознакомиться в Центральной научной библиотеке им. Индиры Ганди АН Республики Таджикистан.

Автореферат разослан «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 20\_\_ г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета  
доктор биологических наук

Джумаев Б.Б.

## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность работы.** Клубнеобразование у картофеля является одной из основных форм репродуктивного процесса развития растений и зависит от фитохромного, гормонального и углеводного воздействий (Аксенова и др., 2002). Несмотря на достигнутые успехи в изучении процесса клубнеобразования остается еще много нерешенных вопросов, касающихся механизмов взаимодействия фитохромной и гормональной систем, регуляторов роста в процессе инициации и формирования микроклубней *in vitro*, особенно в условиях стрессорных воздействий.

Стрессовые природные факторы, такие как засуха, высокая температура, засоление, провоцируют в клетках растений сверхпродукцию активных форм кислорода (АФК), как проявление окислительного стресса (Mitteler, 2002).

Показано, что высокая концентрация хлористого натрия (NaCl) вызывает индукцию окислительного стресса, сопровождающегося разрушением мембран и деградацией хлорофилла (Meloni et al., 2003). При этом происходит образование малонового диальдегида (МДА) – продукта перекисного окисления липидов мембран (Dionisio-Sese, Tobita, 1998).

Было установлено, что растения томата, хлопчатника и пшеницы обладают большей устойчивостью к повреждению в условиях стресса, особенно при засолении, благодаря высокой активности антиоксидантной системы (Shalata et al., 2001). Показано, что растения пшеницы, выращенные на питательной среде с аммонием, более устойчивы к развитию окислительного стресса в листьях, чем растения, выращенные на среде с нитратами (Полесская и др., 2006).

В связи с этим определенный интерес представляют изыскания регуляторных веществ, ослабляющих действие стресса на растение, главным образом солевого стресса. Нами ранее было показано, что паклобутразол (ПБ) – синтетический регулятор роста, ингибируя ростовые процессы пробирочных растений, резко стимулировал образование микроклубней *in vitro* (Шукурова и др., 2007). Другие исследователи показали, что ПБ ослаблял действие солевого стресса на растения гуавы, виноградной лозы (Mehomachi et al., 1996) и пшеницы на стадии опыления (Хайихамеми и др., 2009). В то же время работы относительно картофеля практически отсутствуют.

Поэтому возможность регулирования регуляторами роста физиологического потенциала, заложенного в генотипе растения, можно использовать для повышения толерантности растений к стрессовым факторам среды.

**Цель и задачи работы.** Целью данной работы являлось изучение реакции разночувствительных гибридов картофеля к засолению в условиях *in vitro*; возможности повышения устойчивости растений-регенерантов путем использования регуляторов роста, фитогормонов и разных форм азота, а также выявление роли ростовых процессов, активности антиоксидантных ферментов и перекисного окисления липидов (ПОЛ) в формировании устойчивости растений к солевому стрессу.

Для достижения поставленной цели предстояло решить следующие задачи:

1. Оценить устойчивость растений-регенерантов к засолению.
2. Выбрать индуцированную систему и определить концентрацию иницирующих факторов.
3. Разработать условия микроклубнеобразования и оптимизации получения исходного материала *in vitro*.
4. Изучить роль антиоксидантных ферментов в формировании устойчивости гибридов картофеля к солевому стрессу.
5. Изучить влияние фитогормонов на устойчивость генотипов картофеля к засолению.

**Научная новизна работы.** Показано, что применение паклобутразола и кинетина в определенных концентрациях в качестве регуляторных факторов способствует улучшению процесса микроклубнеобразования *in vitro* и повышению устойчивости растений картофеля к засолению.

Выявлено нарушение взаимовлияния цитокининов и ауксинов в регуляции морфофизиологических процессов у длительно культивируемых растений картофеля *in vitro*. При длительном культивировании растений *in vitro* происходит ослабление эпигенетических процессов, регулирующих рост, развитие регенерантов и стрессоляторных систем клетки, в отличие от вновь введенных в культуру меристемных и/или столоновых растений.

Получены результаты, которые дают основание утверждать, что интенсификация перекисного окисления липидов (ПОЛ) и снижение антиоксидантного потенциала у растений-регенерантов в условиях нитратного питания ( $\text{NO}_3^-$ ) приводит к формированию «окислительного стресса», который более выражен у неустойчивых генотипов, чем у устойчивых, и является одним из физиологических механизмов, понижающим толерантность растений к стрессу.

**Практическая ценность.** Получение растений из меристемных и столоновых культур *in vitro* позволяет ускорить создание системы получения оздоровленного базисного семенного картофеля. Использование регуляторов роста и различных форм азота в системе *in vitro* может служить методом для изучения физиологических механизмов устойчивости к стрессорным факторам, а также может быть рекомендовано для тестирования толерантных форм картофеля и других видов культурных видов растений на солеустойчивость. Выявление гибридов картофеля с высокой активностью СОД может расширить набор пищевых диетических продуктов для человека как источников антиоксидантов.

**Апробация работы.** Материалы диссертации доложены/представлены на следующих конференциях, симпозиумах, совещаниях: Научная конференция памяти академика Ю.С. Насырова «Достижения современной физиологии растений: теоретические и прикладные аспекты». 2008 г. Душанбе; Международный тренинг «Использование ботанических семян для обеспечения населения продовольствием». Март, 2009 г. Душанбе. Институт физиологии растений и генетики АН РТ; Международный семинар «Обеспечение улучшения продовольствия и увеличение доходов в Юго-Западной и Центральной Азии (SWCA) через сорта картофеля с улучшенной устойчивостью к абиотическому стрессу», 29-30 ноября 2010 г. Индия (Гуджарат); VI Московский Международный Конгресс «Биотехнология: состояние и перспективы развития», 21-25 марта 2011 г. Москва (Россия); Совместный семинар лабораторий молекулярной биологии и биотехнологии, биохимии, генетики фотосинтеза и генетики растений Института ботаники, физиологии и генетики растений Академии наук Республики Таджикистан

**Публикации.** По материалам диссертации опубликовано 7 работ.

**Структура и объем работы.** Диссертационная работа изложена на 94 страницах машинописного текста и состоит из: введения; 4-х глав; выводов; списка литературы, приложения. Работа содержит 8 рисунков, 11 таблиц. Список цитируемой литературы включает 129 наименований, из которых 90 на иностранных языках.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

### ГЛАВА 2. Объекты и методы исследований

**Объектами исследований** служили меристемные и столоновые пробирочные растения картофеля (*Solanum tuberosum* L.) широко распространенного в Таджикистане сорта Пикассо (не устойчивый к NaCl), сорта Жуковский ранний и гибриды картофеля №1, №24, №6, №27, и №25, полученные из Международного Центра Картофеля СІР (Перу, Лима). Солеустойчивые гибриды отобраны нами путем скрининга в культуре *in vitro* на устойчивость к хлористому натрию. Впоследствии клон-гибрид №1 (СІР 397077.16), устойчивый к NaCl, получил название сорт Файзабад. Растения-регенеранты из столонов были получены согласно проведенным ранее опытам (Шукурова, Назарова и др., 2007).

Растения размножали клонированием *in vitro* на среде Мурасиге и Скуга (МС) (1962), содержащей витамины, агар и сахарозу. Растения культивировали при 20...22°C при 16-часовом освещении люминесцентными лампами белого цвета (4000 люкс.).

В экспериментах использовали одноузловые черенки с одним листом, высаженные на среду МС, содержащую 2% сахарозы и разные концентрации паклобутразола (ПБ) (25; 50; 75 мкг/л среды), в зависимости от задач опыта, с добавлением различной концентрации

кинетина и 1-нафтилуксусной кислоты (НУК). Растения культивировали в течение 28 дней, в обычном режиме культивирования *in vitro*. После этого часть растений переносили в режим клубнеобразования (культивировали в течение 70 дней при температуре 16°C, при 10-часовом освещении).

**Получение микроклубней *in vitro*.** Растения-регенеранты картофеля сначала культивировали в среде МС, содержащей агар – 0.6% и сахарозу – 8% при 16-часовом фотопериоде в течение 30 дней при температуре 20...22°C. В культуральную среду добавляли 1 мг/л бензиламинопурина (6-БАП) или 1.25 мг/л кинетина и 1 мг/л нафтилуксусной кислоты ( $\alpha$ -НУК). Затем растения переводили в условия короткого фотопериода – 8 ч освещения и выдерживали в течение 35-40 дней при температуре 18...20°C. Для увеличения размера клубней растения переносили в темное помещение и выдерживали при температуре 20...22°C в течение 20-25 дней. В ходе экспериментов анализировали также действие углеводов и ростовых веществ, таких как паклобутразол, в комбинации с минеральными солями, на качество микроклубней в период покоя. Для каждого эксперимента было использовано по 60 растений-регенерантов. В таблицах представлены средние значения экспериментальных данных, полученных с использованием всех показателей пробирочных растений (20-30 проб).

**Опыты с использованием разных форм азота.** Гибриды картофеля выращивали в условиях *in vitro* на МС-среде, содержащей хлористый натрий (NaCl) в концентрациях от 100 до 300 мМ и разные формы азота: NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-вариант – 5 мМ KNO<sub>3</sub>; в контроле соли нитрата заменили на эквимолярное по катионам количество CaSO<sub>4</sub>; NH<sub>4</sub><sup>+</sup> – вариант – 2-5 мМ (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

Растения-регенеранты выдерживали в световой установке при температуре 23...25°C, при 16-часовом фотопериоде. Освещенность составляла 5–7 клк. Растения выращивали в пробирках (18x200 мм), закрытых ватно-марлиевыми пробками. Объем питательной среды в пробирках составлял 12 мл. В каждом варианте использовалось по 10-12 пробирочных растений. Длительность культивирования растений-регенерантов *in vitro* составляла от 25 до 55 суток.

Устойчивость опытных растений к NaCl оценивали по степени угнетения роста (высота, сырая масса побега, количество корней). При микрочеренковании отбирали по два одноузловых черенка с одинаково развитыми листьями и использовали черенки со средней части побега.

Во всех опытных и контрольных вариантах были определены активность супероксиддисмутазы (СОД), содержание малонового диальдегида (МДА) и фотосинтетические пигменты.

**Содержание МДА** определяли по методу, описанному в работе (Heath, Pusker, 1968), с применением тиобарбитуриевой кислоты. Оптическую плотность супернатанта измеряли при двух длинах волн - 532 нм и 600 нм на Ultraspec-II. Содержание МДА рассчитывали с использованием коэффициента экстинкции  $\epsilon=156 \text{ мМ}^{-1}\cdot\text{см}^{-1}$ , после вычисления неспецифического поглощения при 600нм.

**Активность СОД** определяли с использованием нитросинего тетразолия по методу, описанному в работе (Giannopolitis, Ries, 1977). Оптическую плотность измеряли при длине волны 560нм на спектрофотометре (Ultraspec-II). Все процедуры проводились на льду. За единицу активности СОД принимали 50%-ное ингибирование образования формазона.

**Активность каталазы** определяли по скорости разложения перекиси водорода (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) по методу (Kumar, Knowles, 1993).

**Содержание сахаров** определяли по методу (Туркина, Соколова, 1971).

**Пигменты** выделяли экстрагированием из навески растений 80%-ым ацетоном и определяли содержание хлорофилла и каротиноидов по методу (Шлык, 1971). Чистоту материала проверяли методом иммуноферментного анализа (ИФА) с помощью диагностических моновалентных тестов согласно рекомендации Международного Центра Картофеля СІР (Лима, Перу).

### ГЛАВА 3. Микроклубнеобразование столоновых растений картофеля *in vitro* в зависимости от условий культивирования растений-регенерантов

#### 3.1. Рост растений-регенерантов и размер микроклубней картофеля в зависимости от концентрации азота в культуральной среде

Одной из наших задач являлось изучение условий, способствующих интенсификации роста и образования микроклубней *in vitro*. Известно, что размер стеклянных пробирок и объем культуральных сред оказывает влияние на рост эксплантов и образование микроклубней. Нами было изучено влияние азота (N) на рост регенерантов и образование микроклубней *in vitro*. Для этого использовали среду с измененным составом минеральных солей.

В табл. 1 приведены данные, указывающие на зависимость роста растений-регенерантов от дозы нитратов в среде культивирования. В зависимости от увеличения концентрации нитрата в среде культивирования *in vitro* увеличивался и размер микроклубней. Наибольший эффект на размер микроклубней оказывала концентрация 120 мМ, при которой рост растений составлял 7.3 см, а диаметр микроклубня 1.14 см. Было обнаружено, что высокое содержание нитратов уменьшает сырой вес микроклубней примерно в два раза.

Таблица 1

Рост растений и размер микроклубней в зависимости от концентрации азота в культуральной среде *in vitro*

Содержание азота (KNO <sub>3</sub> ), мМ	Рост растений, см	Диаметр микроклубней, мм
84	5.1	0.37
120	7.3	1.14
168	9.9	0.93
336	13.4	0.82

Значительное увеличение размеров микроклубней было достигнуто при комбинированном использовании фитогормонов (кинетин) и стимуляторов роста растений (паклобутразол). Наибольший размер микроклубней был получен при добавлении в культуральную среду 0.5 мг/л кинетина и 50 мкг/л стимулятора роста паклобутразола (ПБ).

Повышение концентрации кинетина в культуральной среде до 1.5 мг/л в присутствии 50 мкг/л паклобутразола было пропорционально ингибированию сырого веса и размера микроклубней.

Паклобутразол (50 мкг/л) без присутствия кинетина стимулировал увеличение сырого веса и размера микроклубней *in vitro* несколько меньше - 485 мг и 19 мм соответственно.

Получено большее количество микроклубней, формирующихся при низком содержании азота (120 мМ) в культуральной среде растений *in vitro*, и обнаружена стимулирующая роль регулятора роста растений паклобутразола в культуральной среде.

Эти результаты инициировали дальнейшие исследования их роли в физиолого-биохимических процессах в зависимости от условий культивирования растений *in vitro*, что и послужило основой для более детального анализа генотипов, различающихся по устойчивости к стрессорным факторам, в частности к засолению.

К таким генотипам относится сорт Файзабад (клон-гибрид №1), устойчивый к засолению, и широко распространенный в Таджикистане сорт Пикассо и клон-гибриды № 6, 25, 27 - не устойчивые к засолению.

Более того, имеются сведения о возможности усиления солеустойчивости растений с помощью веществ, регулирующих ростовые и репродуктивные процессы. Одним из таких веществ является регулятор роста растений паклобутразол (ПБ).

#### 3.2. Действие регуляторов роста на микроклубнеобразование *in vitro*

Были проведены опыты с содержанием в среде культивирования различных концентраций NaCl (от 0.5% до 1%) и регулятора роста ПБ (20; 50 и 75 мкг/л среды МС). Как видно из данных табл. 2, солевой стресс ингибировал высоту побегов пробирочных растений у обоих генотипов картофеля (солеустойчивый сорт Файзабад и солечувствительный сорт Пикассо). У солеустойчивого сорта Файзабад ингибирование побегов наблюдалось при всех использованных в эксперименте концентрациях NaCl. Высокую степень ингибирования роста побега можно было наблюдать при 1% концентрации NaCl. При 1% концентрации NaCl снижение роста составляло примерно 50% от контроля.

Ингибирование роста также наблюдалось и у солечувствительного сорта Пикассо. Однако, у сорта Пикассо, в отличие от сорта Файзабад, рост побегов прекратился уже при концентрации 1% NaCl и составил примерно 9-10% от контроля, а при концентрации 1.5% NaCl образование побегов практически прекратилось.

**Таблица 2**

**Влияние ПБ на параметры роста растений картофеля, культивированных при разной степени засоления**

Варианты, NaCl, %	Параметры роста, см	Концентрация ПБ, мкг/л			
		Контроль	25	50	75
<b>Сорт Файзабад</b>					
Контроль	Высота растений	10.5 ± 0.4	9.1 ± 0.4	8.6 ± 0.3	9.2 ± 0.3
0.5		9.8 ± 0.5	6.2 ± 0.3	4.4 ± 0.3	4.0 ± 0.2
1.0		4.8 ± 0.2	3.3 ± 0.1	2.5 ± 0.1	2.2 ± 0.1
1.5		3.7 ± 0.1	2.7 ± 0.1	2.2 ± 0.1	1.8 ± 0.1
Контроль	Длина корней	3.8 ± 0.2	3.2 ± 0.3	5.7 ± 0.3	6.1 ± 0.3
0.5		3.5 ± 0.3	4.7 ± 0.2	5.5 ± 0.3	5.2 ± 0.3
1.0		2.9 ± 0.2	3.5 ± 0.1	4.6 ± 0.2	4.4 ± 0.2
1.5		1.8 ± 0.1	2.5 ± 0.1	3.5 ± 0.2	3.6 ± 0.1
Контроль	Длина междоузлий	0.6 ± 0.02	0.4 ± 0.02	0.4 ± 0.02	0.4 ± 0.02
0.5		0.5 ± 0.01	0.3 ± 0.01	0.3 ± 0.01	-
1.0		0.3 ± 0.01	-	-	-
<b>Сорт Пикассо</b>					
Контроль	Высота растений	9.8 ± 0.5	9.1 ± 0.4	9.2 ± 0.4	8.4 ± 0.3
0.5		6.3 ± 0.4	5.8 ± 0.3	4.8 ± 0.3	3.8 ± 0.2
1.0		0.9 ± 0.1	2.1 ± 0.1	2.2 ± 0.1	1.7 ± 0.1
1.5		-	-	-	-
Контроль	Длина корней	5.5 ± 0.4	6.1 ± 0.5	6.6 ± 0.5	6.1 ± 0.1
0.5		2.9 ± 0.2	3.3 ± 0.2	3.5 ± 0.2	2.6 ± 0.1
1.0		0.7 ± 0.01	1.1 ± 0.1	1.2 ± 0.1	-
Контроль	Длина междоузлий	0.6 ± 0.1	0.3 ± 0.03	0.3 ± 0.03	-
0.5		0.2 ± 0.03	0.2 ± 0.01	0.2 ± 0.01	-

**Примечание:** «-» определение не проводилось.

Добавление в культуральную среду ПБ на фоне NaCl также приводило к снижению роста побегов пробирочных растений у обоих сортов картофеля. Однако, при добавлении в культуральную среду ПБ несколько усиливалось корнеобразование - и у сорта Файзабад, и у сорта Пикассо. Приведенные результаты (табл. 3) показывают, что сорт Файзабад сильнее реагировал на увеличение концентрации ПБ, чем сорт Пикассо. Оптимальная концентрация ПБ для корнеобразования и роста составляла 50 мкг/л, повышение концентрации до 75 мкг/л не оказывало влияния на длину корней растений.

Следует отметить, что более чувствительной к действию ПБ оказалась длина междоузлий. У обоих сортов длина междоузлий уменьшалась с повышением концентрации ПБ в культуральной среде *in vitro*. Однако, при концентрации 0.5% NaCl у сорта Пикассо прекратилось образование междоузлий.

Культивирование растений на фоне ПБ несколько увеличило сырую массу побегов у обоих генотипов картофеля, независимо от степени устойчивости к засолению (табл. 3). При концентрации 50 мкг/л ПБ сырая масса побегов и корней увеличилась до максимального уровня, а повышение концентрации до 75 мкг/л не оказало влияния.

Таблица 3

**Влияние ПБ на величину сырой массы органов (г/орган) растений картофеля, культивированных при разной степени засоления**

Варианты NaCl, %	Органы растений	Концентрация ПБ, мкг/л			
		контроль	25	50	75
<b>Сорт Файзабад</b>					
Контроль	Побеги	2.2 ± 0.2	2.9 ± 0.3	3.3 ± 0.3	3.3 ± 0.3
0.5		2.2 ± 0.2	2.8 ± 0.2	3.0 ± 0.2	2.9 ± 0.3
1.0		2.1 ± 0.2	2.9 ± 0.2	3.0 ± 0.2	2.8 ± 0.2
1.5		1.7 ± 0.1	2.2 ± 0.2	2.5 ± 0.2	2.6 ± 0.2
Контроль	Корни	0.22 ± 0.02	0.24 ± 0.01	0.25 ± 0.02	0.26 ± 0.02
0.5		0.22 ± 0.02	0.25 ± 0.02	0.96 ± 0.02	0.27 ± 0.02
1.0		0.22 ± 0.02	0.31 ± 0.03	0.34 ± 0.02	0.33 ± 0.02
1.5		0.08 ± 0.01	0.33 ± 0.02	0.38 ± 0.02	0.36 ± 0.02
<b>Сорт Пикассо</b>					
Контроль	Побеги	1.9 ± 0.2	2.2 ± 0.2	2.7 ± 0.2	2.6 ± 0.2
0.5		1.4 ± 0.2	2.1 ± 0.1	2.3 ± 0.1	2.2 ± 0.1
1.0		0.8 ± 1.2	1.3 ± 0.1	1.6 ± 0.1	1.6 ± 0.1
Контроль	Корни	0.8 ± 0.2	0.8 ± 0.1	2.7 ± 0.1	0.7 ± 0.1
0.5		0.7 ± 0.1	0.9 ± 0.1	1.1 ± 0.1	0.8 ± 0.1
1.0		0.1 ± 0.01	0.14 ± 0.01	0.16 ± 0.01	0.15 ± 0.01

Полученные результаты указывают на то, что добавление ПБ в культуральную среду *in vitro* способствует увеличению солеустойчивости картофеля. Особенно заметно было повышение солеустойчивости у сорта Пикассо под действием ПБ - на фоне повышенной концентрации NaCl существенно увеличивалась масса побегов и корней.

Для достоверности полученных результатов нами были проведены опыты по определению фермента СОД при наличии ПБ в культуральной среде *in vitro*. Как видно из данных табл. 4, активность СОД у сорта Файзабад была примерно в 1.5 раза выше, чем у сорта Пикассо. Активность СОД у обоих сортов на фоне 0.5 и 1% NaCl и при добавлении ПБ (50 мкг/л, оптимальная концентрация) в культуральную среду выращивания усиливалась примерно одинаково.

Таблица 4

**Действие ПБ на активность супероксиддисмутазы (мкмоль/г сырого веса) в зависимости от степени засоления**

Варианты, NaCl, %	Концентрация ПБ, мкг/л		Увеличение, %
	50	75	
<b>Сорт Файзабад</b>			
Контроль	24.7 ± 9.2	23.4 ± 2.7	120
0.5	14.4 ± 2.1	20.2 ± 2.1	140
1.0	11.8 ± 1.4	17.7 ± 2.3	124
<b>Сорт Пикассо</b>			
Контроль	16.6 ± 1.5	20.3 ± 1.4	123
0.5	8.8 ± 0.7	12.4 ± 1.2	140
1.0	8.9 ± 0.4	8.2 ± 0.7	138

Уровень активности СОД у солеустойчивого сорта Файзабад был гораздо выше, чем у солечувствительного сорта Пикассо. Но относительное увеличение активности СОД на фоне



ПБ у обоих генотипов составляло от 120 до 140 %. Эти данные свидетельствуют о том, что один из факторов повышения солеустойчивости, которое было выявлено при действии ПБ, возможно связан с усилением активности СОД как протекторной системы окислительного стресса.

Как видно из табл. 5, ПБ также стимулировал возрастание средней массы микроклубня, но не влиял на образование количества клубней. У сорта Пикассо средняя масса микроклубня увеличилась примерно в 2.5 раза по сравнению с контролем, а у сорта Файзабад в 1.8 раза.

Итак, можно подвести итог, что ПБ оказывал стимулирующее влияние на укрупнение и увеличение массы образующихся в культуре *in vitro* микроклубней, что может быть связано с ингибированием биосинтеза гиббереллина и метаболизацией АБК и других гормонов (цитокинины). Более того, ПБ не только стимулировал нарастание массы микроклубней *in vitro*, но и повышал устойчивость растений к солевому стрессу.

Таблица 5

**Влияние ПБ на микроклубнеобразование картофеля *in vitro***

Варианты	Количество пробирочных растений, шт.	Общее количество микроклубней, шт.	Общая масса клубня, г	Средняя масса 1 клубня, г	Количество клубней/растение, шт.
<b>Сорт Пикассо</b>					
Контроль (без добавления в культуральную среду МС ПБ)	26	102	17.03	0.370±0.4	2.2±0.1
Опыт (добавление в культуральную среду МС ПБ 50 мкг/л)	32	103	32.3	0.801±0.7	2.7±0.3
<b>Сорт Файзабад</b>					
Контроль (без добавления в культуральную среду МС ПБ)	44	112	18.25	410±5	2.5±0.3
Опыт (добавление в культуральную среду МС 50 мкг/л+ ПБ)	52	108	38.47	740±8	2.1±0.3

Одним из возможных механизмов действия фитогормонов, регуляторов роста в условиях стрессорных воздействий может быть метаболизм сахаров, что и послужило одной из задач наших исследований.

**3.3. Действие фитогормонов на микроклубнеобразование у различных по длительности культивирования растений-регенерантов картофеля *in vitro***

Длительное культивирование растений картофеля в системе *in vitro* приводит к постепенному снижению способности корнеобразования и заметным морфологическим изменениям (Мардяшин, Шарафудинова, 2000). При этом наиболее заметным является плохое развитие корневой системы в почве (Reinecke, Bandurski, 1987). Одна из возможных причин потери жизнеспособности при длительном культивировании растений *in vitro* связана с изменением содержания гормонов, которые влияют на образование корневой системы и процессы, способствующие адаптации растений в разных условиях среды (Evans, 1985).

В связи с этим для изучения влияния кинетина на формирование микроклубней нами были проведены опыты по их влиянию на разные по длительности культивирования меристемные и столоновые растения-регенеранты в условиях *in vitro*.

Как видно из результатов, приведенных в табл. 6, выживаемость растений при посадке в почву оздоровленных растений составляла от 96% до 100% , а у длительно культивируемых *in vitro* растений выживаемость при пересадке в почву резко снижалась. Степень выживаемости зависела также от генотипа картофеля. Так, у сорта Пикассо выживаемость длительно культивируемых растений *in vitro* составляла 77%, у клон-гибрида №25 (не

устойчивого к засолению) – 64% и у клон-гибрида №1 (сорт Файзабад, устойчивого к засолению) – 96%.

Образование клубней у растений-регенерантов при посадке в почву также зависит, во-первых, от генотипа, во-вторых, от длительности культивирования растений *in vitro*. Наибольшее образование клубней отмечено у клон-гибрида №1. У вновь оздоровленного этого клон-гибрида формировалось до 11 клубней, а при длительном культивировании образование клубней сокращалось до 8 шт. на одно растение.

При посадке в почву у вновь оздоровленных растений сорта Пикассо и клон-гибрида №25 количество клубней на растение составляло 7-8 шт., а у длительно культивируемых растений данного сорта и клон-гибрида наблюдалось уменьшение количества клубней до 5 шт. на растение.

У длительно культивируемых растений *in vitro* происходило также уменьшение суммарной массы клубня: у сорта Пикассо – на 24%, клон-гибрида №25 – на 31% и у клон-гибрида №1 – на 12%.

Эти результаты свидетельствуют о том, что количественные признаки продуктивности растений имеют генотипический характер и отчетливо проявляются при многократной пересадке культивируемых растений в условиях *in vitro*.

Выживаемость растений в условиях почвы, количественные характеристики продуктивности также зависят от устойчивости к стрессорным факторам. Очевидно, генотипы, обладающие устойчивостью к засолению, при длительном культивировании *in vitro* способны к меньшей потере массы клубней, чем чувствительные генотипы (табл.б).

Одной из причин этого, возможно, является неодинаковое снижение содержания фитогормонов при длительном культивировании растений, то есть процесс длительного культивирования *in vitro* может оказать влияние на содержание цитокининов и ауксинов, регулирующих морфологические процессы и продуктивность растений картофеля.

**Таблица 6**  
**Выживаемость и продуктивность оздоровленных и длительно культивируемых *in vitro* растений картофеля при пересадке в почву**

Варианты опыта	Количество высаженных в почву растений, шт.	Количество выживших в почве растений, шт.	Выживаемость, %	Количество клубней, шт./растение	Масса клубней/растение, г	Потеря массы клубней, %
<b>Пикассо (контроль)</b>						
Вновь оздоровленные	100	98	98	7	374±11	-
Длительно культивируемые	100	77	77	5	285±7	24
<b>Клон-гибрид №1 (сорт Файзабад)</b>						
Вновь оздоровленные	100	100	100	11	452±14	-
Длительно культивируемые	100	96	96	8	398±12	12
<b>Клон-гибрид №25</b>						
Вновь оздоровленные	100	97	100	8	385±14	-
Длительно культивируемые	100	64	96	5	265±13	31

Показано действие кинетина на образование и массу микроклубней картофеля у вновь оздоровленных и длительно культивированных растений *in vitro*. Для микроклубнеобразования *in vitro* использовали среднюю часть пробирочных растений. В среду культивирования добавляли кинетин в концентрации от 0.3 мг до 1.5 мг на литр МС-среды. Растения выращивали при фотопериоде 8 ч света и 16 ч темноты.

Наблюдалось заметное увеличение массы микроклубней по мере повышения концентрации фитогормона, но до определенной его дозы в культуральной среде выращивания растений. Наивысшее накопление массы микроклубней наблюдалось при использовании концентрации фитогормона от 1.0 до 1.25 мг/л культуральной среды. При увеличении концентрации гормона до 1.5 мг/л имело место ингибирование клубнеобразования и их массы. При этом уменьшение массы клубней составило 40 – 45%.

Так, при оптимальных концентрациях гормона (1.0 мг/л) в культуральной среде накопление массы клубней у длительно культивируемых растений сорта Пикассо составило примерно 189 мг/растение, у клон-гибрида №1 – 325 мг/растение и у клон-гибрида №25 – 137 мг/растение.

У вновь оздоровленных растений-регенерантов сохранялась та же тенденция к увеличению массы микроклубней: у сорта Пикассо - 388 мг/растение, у клон-гибрида №1 – 392 мг/растение и у клон-гибрида №25 – 286 мг/растение.

Полученные данные существенны и достоверны, так как учитывалось среднее значение из 100 опытных пробирочных растений.

Анализ опыта показывает, что при низких концентрациях гормона образование клубней значительно ниже у длительно культивируемых растений, чем у вновь оздоровленных. Различия в клубнеобразовании у клон-гибрида №1 от концентрации гормона в обоих вариантах было небольшим и составляло от 25% при низких концентрациях (0.3 мг/л) до 12-17% при высоких концентрациях (0.75 мг/л – 1.5 мг/л) кинетина в культуральной среде выращивания. Полученные результаты показывают, что клон-гибрид №1 при длительном культивировании способен продуцировать гормоны, независимо от условий среды выращивания, для поддержания физиологического статуса растений, без существенного снижения продуктивности.

Микроклубнеобразование у сорта Пикассо и клон-гибрида №25 более зависимо от концентрации гормона, особенно у растений, прошедших длительное культивирование *in vitro*. Это очень важный факт, указывающий на возможность существования особого механизма адаптации растений к изменяющимся условиям среды и на различный уровень эпигенетической регуляции активности генов, ответственных за продукционный процесс.

Представляет интерес то, что у чувствительных к засолению генотипов при длительном культивировании заметно ухудшалось корнеобразование, и пересадка растений в почву приводило к потере количества высаженных растений (табл.6).

Ауксины также играют важную роль в процессе микроклубнеобразования *in vitro*. Согласно данным (Evans,1985), росто- и корнестимулирующее действие ауксинов играет существенную роль в адаптации растений в почве.

Понижение уровня ауксинов у длительно культивируемых *in vitro* растений может быть связано с невысоким уровнем цитокининов, поскольку имеются данные о том, что цитокинины влияют на продукцию ауксинов (Evans,1985).

При пересадке в почву длительно культивируемых растений цитокинины, возможно, играют более значимую функциональную роль в регуляции координации генетических, эпигенетических и физиологических функций у растений в соответствии с условиями обитания. Не исключено, что способность длительно культивируемых растений продуцировать цитокинин может быть одной из причин, обуславливающих их неспособность адаптироваться в условиях почвы.

Можно предположить, что изменение гормонального статуса растений в процессе длительного культивирования *in vitro* является одной из причин снижения продуктивности пробирочных растений картофеля при пересадке их для выращивания в почве.

Таким образом, анализ полученных результатов показал, что при длительном культивировании растений *in vitro* происходит снижение эпигенетической активности, регулирующей рост, развитие и стрессоляторные системы растений, незамедлительно оказывающей отрицательное влияние на выживаемость и продуктивность растений, что не наблюдается у вновь введенных в культуру меристемных и столоновых растений-регенерантов *in vitro*.

#### ГЛАВА 4. Активность антиоксидантных систем растений картофеля в условиях солевого стресса в зависимости от форм азота в среде *in vitro*

Как показали результаты, наших экспериментов, внесение в питательную среду NaCl в высокой концентрации приводило к деградации хлорофилла и накоплению малонового диальдегида (МДА) у неустойчивых генотипов растений-регенерантов, выращенных *in vitro*. Солевой стресс оказывал влияние на содержание МДА во всех вариантах опыта ( $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_3^-$  и N-дефицитный), но в разной степени. В проведенных опытах, во всех вариантах также наблюдалась активность антиоксидантного фермента - супероксиддисмутазы (СОД).

Как видно из данных табл. 7, у солеустойчивых генотипов картофеля (гибриды №1 и №24) на фоне азотного питания ( $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_3^-$ ) наблюдалось неодинаковое содержание хлорофилла *a*, *b* и каротиноидов.

У устойчивых генотипов (гибриды №1 и №24) содержание хлорофиллов было несколько меньше в варианте с  $\text{NO}_3^-$ , чем в варианте с  $\text{NH}_4^+$  и в N-дефицитном варианте. Та же самая тенденция снижения содержания хлорофиллов сохранилась у неустойчивых гибридов (гибриды №6 и №27) на фоне  $\text{NO}_3^-$ , но различие с N-дефицитным вариантом было меньше. При этом наблюдалась более высокая деградация хлорофилла *b*, чем хлорофилла *a*.

Содержание каротиноидов в результате солевого стресса подверглось изменению не меньше, чем хлорофиллов. Наибольшее снижение содержания каротиноидов наблюдалось также на фоне  $\text{NO}_3^-$  питания.

При переводе растений на питательные среды с экстремальным содержанием NaCl, в концентрации 258 мМ, во всех вариантах у солеустойчивых гибридов, наблюдалось уменьшение содержания пигментов.

Небольшое снижение содержания хлорофилла *a* имело место в  $\text{NH}_4^+$ -варианте и составило примерно 30% в сравнении с контрольным вариантом. Снижение содержания хлорофилла *a* в  $\text{NO}_3^-$  - и N-дефицитном вариантах составляло примерно 40-50% в сравнении с контролем. Наибольшее снижение содержания хлорофилла *b* наблюдалось во всех трех вариантах. Однако у гибрида №27 наибольшее снижение содержания хлорофиллов наблюдалось на фоне N-дефицитного питания.

Содержание хлорофилла *a* оказалось более устойчивым к действию соли как у устойчивых, так и у не устойчивых к засолению генотипов.

Таким образом, можно подвести итог, что в условиях проведенных нами опытов фотосинтетические пигменты являются одним из компонентов клеточной системы, остро реагирующим на действие экстремальных стрессорных факторов. При этом содержание хлорофилла *b* снижалось в большей степени, чем содержание хлорофилла *a*. В результате солевого стресса содержание каротиноидов также имело тенденцию к снижению во всех вариантах опыта.

Снижение содержания фотосинтетических пигментов сопровождалось увеличением в растениях-регенерантах содержания МДА (табл.8).

Содержание МДА увеличилось у гибрида №1 на 40% в растениях с  $\text{NH}_4^+$ -типом азотного питания, на 37% с  $\text{NO}_3^-$ -типом питания и в N-дефицитных растениях-регенерантах на 66% (табл. 8).

Примерно то же самое наблюдалось у другого солеустойчивого гибрида - №24. У данного гибрида при солевом стрессе содержание МДА увеличилось на 51% в варианте с  $\text{NH}_4^+$ -типом питания, на 25% с  $\text{NO}_3^-$ -типом, и на 41% в N-дефицитных растениях-регенерантах. Следует отметить также, что у не устойчивых к солевому стрессу генотипов (гибриды №6 и №27) образование МДА было значительно больше, чем у устойчивых к солевому стрессу генотипов (гибриды №1 и №24). Особенно высокое содержание МДА проявилось у гибрида №27.

Таблица 7

Содержание фотосинтетических пигментов (мг/г сырой массы) у разных генотипов картофеля в зависимости от условий азотного питания

Гибриды	Варианты	Условия эксперимента								
		NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>			NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>			ДефицитN		
		Хлорофилл <i>a</i>	Хлорофилл <i>b</i>	Каротиноиды	Хлорофилл <i>a</i>	Хлорофилл <i>b</i>	Каротиноиды	Хлорофилл <i>a</i>	Хлорофилл <i>b</i>	Каротиноиды
Гибрид №1		<i>Устойчивые генотипы</i>								
	Контроль	2.15±0.14	0.98±0.06	0.75±0.07	1.75±0.13	0.63±0.08	0.72±0.06	2.05±0.14	0.44±0.03	0.29±0.01
	Опыт (258 мМ NaCl)	1.68±0.19	0.57±0.18	0.70±0.02	1.53±0.11	0.41±0.02	0.63±0.05	1.41±0.13	0.27±0.03	0.27±0.01
	Снижение содержания, %	22	58	7	13	35	13	32	39	7
Гибрид №24	Контроль	2.32±0.22	0.84±0.07	0.72±0.06	1.87±0.41	0.66±0.07	0.53±0.03	1.81±0.23	0.59±0.06	0.55±0.02
	Опыт (258 мМ NaCl)	1.75±0.15	0.28±0.01	0.64±0.03	1.53±0.37	0.41±0.03	0.44±0.03	1.48±0.13	0.31±0.03	0.50±0.03
	Снижение содержания, %	25	67	12	19	38	17	19	43	10
Гибрид №6		<i>Неустойчивые генотипы</i>								
	Контроль	1.81±0.03	0.48±0.05	0.52±0.02	1.63±0.14	0.55±0.07	0.58±0.06	1.62±0.11	0.56±0.04	0.45±0.03
	Опыт (258 мМ NaCl)	1.21±0.04	0.23±0.01	0.39±0.02	1.29±0.15	0.27±0.01	0.38±0.05	1.27±0.03	0.28±0.01	0.32±0.02
	Снижение содержания, %	34	52	25	21	51	35	22	50	29
Гибрид №27	Контроль	2.55±0.19	1.14±0.11	0.42±0.01	2.25±0.17	1.38±0.27	0.59±0.06	1.86±0.11	0.88±0.07	0.31±0.01
	Опыт (258 мМ NaCl)	1.68±0.12	0.42±0.03	0.32±0.01	1.64±0.02	0.87±0.01	0.39±0.04	0.98±0.11	0.43±0.04	0.22±0.02
	Снижение содержания, %	35	64	24	28	37	34	48	51	30

Таблица 8

**Действие солевого стресса на содержание малонового диальдегида  
(мкМоль /г сырой массы) у разных генотипов картофеля**

Гибриды	Варианты	Условия эксперимента					
		$\text{NH}_4^+$	%	$\text{NO}_3^-$	%	N-дефицитный вариант	%
<i>Устойчивые генотипы</i>							
Гибрид №1	Контроль	10.6±1.3	100	11.2±0.8	100	11.9±0.5	100
	Опыт (258мМ NaCl)	14.9±1.5	140	15.4±0.7	137	18.5±0.3	166
Гибрид №24	Контроль	10.7±1.6	100	18.4±1.3	100	12.8±0.9	100
	Опыт (258мМ NaCl)	16.2±1.4	151	23.1±1.4	125	18.1±0.6	141
<i>Неустойчивые генотипы</i>							
Гибрид №6	Контроль	16.7±1.1	100	16.3±0.5	100	16.1±0.3	100
	Опыт (258мМ NaCl)	28.2±1.7	168	29.6±1.7	182	25.4±1.1	158
Гибрид №27	Контроль	17.2±1.2	100	14.1±1.1	100	13.3±0.8	100
	Опыт (258мМ NaCl)	29.1±1.5	169	28.8±1.8	204	20.1±1.4	151

Как показано в табл. 9, устойчивость растений в варианте с  $\text{NH}_4^+$  коррелировала с явным увеличением активности СОД. При солевом стрессе активность СОД у гибрида №1 в варианте  $\text{NH}_4^+$  увеличилось на 100%, в  $\text{NO}_3^-$  варианте на 42% и в N-дефицитном варианте на 62%. Такое же увеличение активности СОД наблюдалось также у гибрида - №24. У не устойчивых к NaCl гибридам также наблюдалось увеличение активности СОД, особенно на фоне  $\text{NH}_4^+$ . Наибольшая активность этого фермента была свойственна гибриду №1, по сравнению с другими гибридами.

На основе полученных нами результатов можно утверждать, что растения-регенеранты, выращенные в условиях *in vitro* на среде с  $\text{NH}_4^+$ -типом питания, оказались более устойчивыми к засолению, чем растения, выращенные на среде с  $\text{NO}_3^-$ -типом питания. Устойчивость растений-регенерантов в  $\text{NH}_4^+$ -варианте проявлялась с увеличением активности СОД, а увеличение содержания МДА указывало на уровень подверженности генотипов окислительному стрессу. При  $\text{NO}_3^-$ -типе питания признаки окислительного стресса были более выражены, чем при  $\text{NH}_4^+$ -типе питания и в N-дефицитном варианте.

На основании полученных результатов можно сделать вывод, что азотистое питание является фактором устойчивости растений к окислительному стрессу, однако для подтверждения данного факта требуются дополнительные исследования метаболизма растений, обладающих устойчивостью к солевому стрессу, и оценка роли органоидов клетки - хлоропластов, митохондрий.

Таблица 9

**Влияние солевого стресса на активность супероксиддисмутазы  
(ед. активности/г сырой массы) у разных генотипов картофеля**

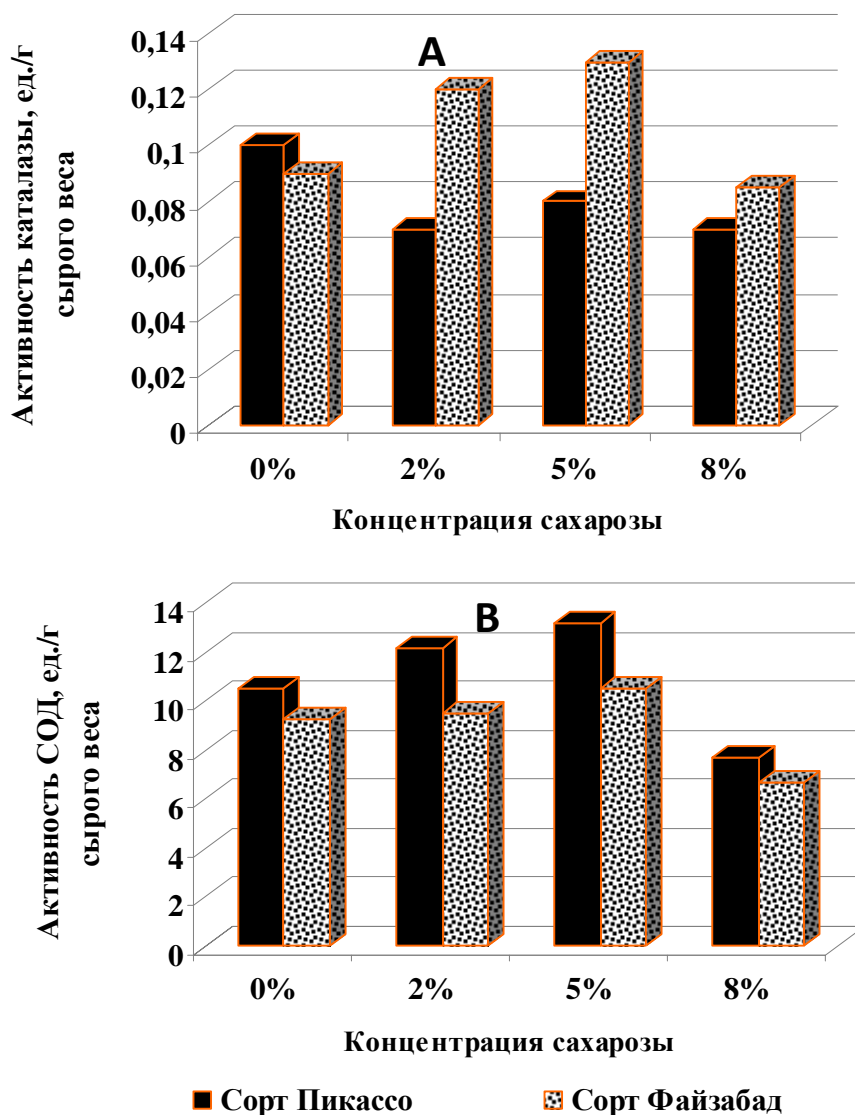
Гибриды	Варианты	Условия эксперимента					
		$\text{NH}_4^+$	%	$\text{NO}_3^-$	%	Н-дефицитный вариант	%
<i>Устойчивые генотипы</i>							
Гибрид №1	Контроль	20.7±1.5	100	17.1±1.6	100	19.8±2.1	100
	Опыт (258мМ NaCl)	42.7±3.5	206	24.3±3.1	142	32.2±2.7	162
Гибрид №24	Контроль	25.2±1.7	100	20.5±1.2	100	18.2±1.3	100
	Опыт (258мМ NaCl)	44.5±3.1	176	30.6±2.2	149	33.7±1.7	185
<i>Неустойчивые генотипы</i>							
Гибрид №6	Контроль	11.3±0.04	100	13.7±0.8	100	12.1±0.7	100
	Опыт (258мМ NaCl)	20.2±1.8	178	17.2±1.5	125	14.7±1.2	121
Гибрид №27	Контроль	14.6±1.1	100	16.7±1.2	100	13.8±0.4	100
	Опыт (258мМ NaCl)	22.1±1.7	151	23.2±2.2	138	16.6±1.7	120

**Влияние сахаров на регуляцию антиоксидантных ферментов при засолении.**

Проведенные эксперименты показали, что после краткосрочного действия NaCl (60, 120 и 180 мин) наблюдались некоторые изменения содержания сахаров в листьях картофеля. При нормальных условиях (23°C) содержание растворимых сахаров у устойчивого гибрида №1 было на 37% выше, чем у чувствительного к NaCl гибрида №25. Такие результаты были получены после 60 мин воздействия NaCl. Изменение в содержании сахара у обоих генотипов было выявлено только после 120-180-минутного воздействия. Содержание сахаров после 180 мин выдерживания растений в условиях засоления значительно снизилось и составило 25-30% от исходных значений у обоих генотипов.

Эти результаты дают основание утверждать о роли растворимых сахаров в защите растений от окислительного стресса. Можно предполагать, что низкая скорость окислительных процессов у гибрида №1 при повышенной скорости образования АФК связана с более высокой работой антиоксидантной системы защиты, чем у чувствительного гибрида №25, который имеет низкую антиоксидантную защиту, что возможно, связано с низким уровнем содержания сахаров при засолении.

На рис. 1 показаны результаты опытов по действию сахарозы на активацию ферментов антиоксидантной системы (СОД и каталазы). Как видно из рисунка, при выращивании растений с сахарозой различной концентрации в питательной среде активность каталазы у сорта Файзабад увеличилась по мере повышения концентрации сахарозы, в отличие от сорта Пикассо. В то же время активность СОД при тех же самых концентрациях была выше у сорта Пикассо, чем у сорта Файзабад.



**Рис. 1. Активность каталазы (А) и СОД (В) при выращивании пробирочных растений на средах, содержащих разные концентрации сахарозы (от 0% до 8%)**

Из рисунка видно, что для сорта Пикассо была характерна обратная зависимость активности каталазы от концентрации сахарозы в культуральной среде.

Несколько другая картина активности антиоксидантных ферментов была обнаружена при добавлении в среду выращивания различных концентраций хлористого натрия (рис. 2).

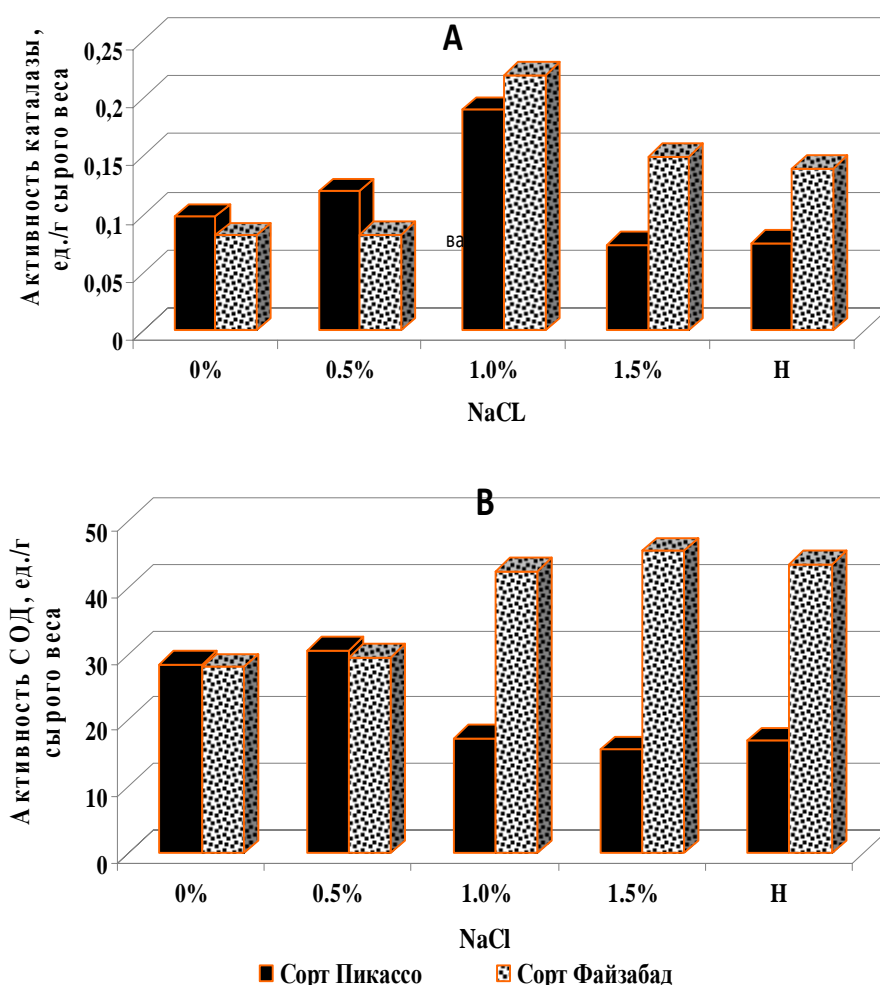
Активность каталазы в нормальной среде (без NaCl) и при 0,5% NaCl была несколько выше у сорта Пикассо, чем у сорта Файзабад. По мере повышения концентрации NaCl в среде выращивания резко снижалась активность каталазы у сорта Пикассо и, наоборот, увеличивалась у сорта Файзабад.

Из рис. 2 (В) видно, что уровень активности СОД у растений обоих генотипов в нормальных условиях выращивания (без NaCl) и при минимальной концентрации NaCl в среде выращивания был практически одинаков. По мере увеличения концентрации NaCl в среде выращивания наблюдалось резкое снижение активности СОД у сорта Пикассо, а у сорта Файзабад увеличилась в два раза. Следует отметить, что спустя сутки после переноса растений в нормальные условия у сорта Пикассо активность ферментов почти восстановилась до уровня контроля (без NaCl), а у сорта Файзабад осталась повышенной.

Кроме того, можно заключить, что реакция разных генотипов картофеля на действие солевого стресса не одинакова. Более того, имеются сведения о возможности усиления



солеустойчивости растений с помощью веществ, регулирующих ростовые и репродуктивные процессы. Одним из таких веществ является регулятор роста растений паклобутразол (ПБ).



**Рис. 2. Активность каталазы (А) и СОД (В) при выращивании пробирочных растений сорта Пикассо и сорта Файзабад на средах, содержащих разные концентрации NaCl. Н - через 1.5 суток после переноса растений в нормальные условия (без NaCl)**

### ВЫВОДЫ

1. Подобраны условия культивирования столонов картофеля (*Solanum tuberosum L.*) *in vitro*, при которых интенсифицируется образование микроклубней, пригодных к использованию в качестве базисного семенного материала. Показано влияние азота на размер микроклубней. Оптимальной концентрацией азота, влияющей на формирование размера микроклубней, оказалась концентрация 120 мМ.
2. Обнаружена стимулирующая роль комбинированного использования кинетина и регулятора роста растений паклобутразола (ПБ) на увеличение сырого веса и размер микроклубней *in vitro*. Оптимальной оказалась концентрация кинетина 0.5 мг/л и ПБ 50 мкг/л. ПБ без кинетина также оказывал влияние на размер и сырой вес микроклубней. Наибольший эффект оказала концентрация ПБ, равная 75 мкг/л. Повышение концентрации ПБ приводило к ингибированию ростовых процессов и микроклубнеобразования, а повышение концентрации азота уменьшало сырой вес микроклубней.

3. По уровню накопления малонового диальдегида (МДА) и активности супероксиддисмутазы (СОД) растения-регенеранты, выращенные в условиях *in vitro* на среде с аммонием, оказались более устойчивыми к засолению, чем растения, выращенные на среде с нитратом. Устойчивость растений-регенерантов в  $\text{NH}_4^+$ -варианте коррелировала с увеличением активности СОД. У растений-регенерантов, выращенных *in vitro* на среде с нитратами ( $\text{NO}_3^-$ -вариант), содержание МДА намного выше, чем в  $\text{NH}_4^+$ -варианте, т.е. признаки окислительного стресса были более выражены. Растения-регенеранты, выращенные *in vitro*, на МС-средах с разным типом азотного питания имеют разную толерантность к окислительному стрессу, вызванному солевым фактором, т.е. формирование устойчивости гибридных растений картофеля к солевому стрессу зависит от формы азотного питания в условиях *in vitro*.
4. Показано, что добавление в культуральную среду регулятора роста ПБ на фоне NaCl приводило к снижению роста побегов у двух сортов картофеля (сорт Пикассо и сорт Файзабад), но при этом заметно увеличилась сырая масса побегов и длина корней. Оптимальной концентрацией ПБ для корнеобразования и увеличения массы побегов роста оказалась концентрация 50 мкг/л. Более чувствительной к действию ПБ оказалась длина междоузлий. У обоих сортов длина междоузлий уменьшалась с повышением концентрации ПБ в культуральной среде *in vitro*. Паклобутразол также оказал влияние на увеличение сырой массы микроклубней *in vitro*. Средняя масса 1 клубня увеличилась примерно в 2.5 раза от контроля.
5. Показана роль воздействия сахаров при краткосрочном засолении (60, 120 и 180 мин воздействия NaCl) на активность антиоксидантных ферментов (каталазы и СОД) у клон-гибрида №25 (солечувствительный) и сорта Файзабад (солеустойчивый). По мере увеличения концентрации сахарозы у сорта Файзабад увеличивалась активность каталазы, а у сорта Пикассо – активность СОД. Однако при добавлении в культуральную среду NaCl (0.5% -1.5%) активность каталазы была более высокой у сорта Пикассо при контрольной среде (без NaCl) и 0.5% NaCl, чем у сорта Файзабад, но по мере увеличения концентрации соли она понижалась у сорта Пикассо и увеличивалась у сорта Файзабад. Активность СОД была одинаковой у обоих генотипов в нормальных условиях выращивания (без NaCl) и при минимальной концентрации NaCl в среде выращивания. Но по мере увеличения концентрации NaCl в среде выращивания активность СОД резко снижалась у сорта Пикассо, а у сорта Файзабад, наоборот, увеличивалась в два раза.
6. Показана роль кинетина и ауксина в регуляции клубнеобразования у различных по устойчивости генотипов картофеля к засолению. Устойчивый генотип (клон-гибрид №1) к засолению имеет более повышенную выживаемость при посадке в почву, чем неустойчивые генотипы (клон-гибрид №25 и сорт Пикассо).
7. Показано, что при длительном культивировании растений-регенерантов *in vitro* происходит снижение эпигенетических процессов, регулирующих рост, развитие, и, очевидно, стрессоляторные системы клетки, в отличие от вновь введенных в культуру регенерантов меристемных и столоновых регенерантов.
8. Показано, что у чувствительных генотипов содержание гормонов заметно ниже у длительно культивируемых растений по сравнению с вновь введенными в культуру. У устойчивых к засолению генотипов такого явного изменения содержания гормонов при длительном культивировании не наблюдалось, что свидетельствует о способности устойчивых генотипов продуцировать гормоны, независимо от условий среды выращивания, для поддержания физиологического статуса растений, без существенного снижения продуктивности.

## СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ

1. М. Шукурова, Н.Н. Назарова, З.Б. Давлятназарова, А.Ф. Салимов, К.Нозимов, К.А. Алиев. «Микроклубнеобразование столоновых растений картофеля *in vitro* в зависимости от условий культивирования растений-регенерантов». Известия АН РТ. Отделение биол. и мед. наук. 2007, №3, стр. 39-44.
2. К. А. Алиев, Карли Карло\*, М.Л. Азимов, З.С. Неъматуллоев, Г.О. Мирзохонова, М.Х. Шукурова, З. Б. Давлатназарова, А.Ф. Салимов, Н.Н. Назарова «Испытание гибридов картофеля на устойчивость к NaCl и регенерация солеустойчивых гибридов *in vitro*». Доклады АН РТ, 2007, №8, стр.716-721
3. З.С. Нематуллоев, М.Л. Азимов, З.Б. Давлатназарова, С. Ашуров, М. Шукурова, Н.Н. Назарова, Карли Карло, К.А. Алиев «Некоторые особенности роста и микроклубнеобразования у гибридов картофеля в условиях *in vitro*». Известия АН РТ. Отделение биол. и мед. наук. №2, 2008, стр. 56-62.
4. Шукурова М.Х., Назарова Н.Н., Ашуров С. Алиев К.А., и др., «Влияние абиотического стресса на антиоксидантную систему клон-гибридов картофеля». Материалы научной конференции, посвященной памяти академика Ю.С. Насырова «Достижения современной физиологии растений: теоретические и прикладные аспекты», Душанбе, 2008, стр. 131.
5. Шукурова М.Х., Назарова Н.Н., Давлятназарова З.Б., Азимов М.Л., Карли Карло, Алиев К.А. «Активность антиоксидантных систем растений картофеля в условиях солевого стресса в зависимости от форм азота в среде *in vitro*». Известия АН РТ. Отделение биол. и мед. наук. №2; 2010, стр. 37-48.
6. Файзиева С.А., Шукурова М.Х., Ватаншоева Н.А., Алиев К. «Биотехнология стрессоустойчивости сельскохозяйственных культур». Материалы научной конференции, посвященной 60-летию образования Академии наук Республики Таджикистан, Душанбе, 2011, стр. 126-128.
7. Шукурова М.Х., Назарова Н.Н., Гадов С., Алиев К. «Регуляция микроклубнеобразования у генотипов, различающихся по толерантности к засолению». Материалы научной конференции, посвященной 60-летию образования Академии наук Республики Таджикистан, Душанбе, 2011, стр. 142-145.