

**ГОСУДАРСТВЕННОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ  
«ИНСТИТУТ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ БОТАНИКИ  
им. В.Ф. КУПРЕВИЧА НАН БЕЛАРУСИ»**

УДК 581.08.132: 535-31:631.544

**КОВАЛЁВА**  
**Ольга Александровна**

**ВЛИЯНИЕ УЛЬТРАФИОЛЕТОВОГО ОБЛУЧЕНИЯ НА  
ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ  
РЕГЕНЕРАНТОВ КАРТОФЕЛЯ**

**Автореферат**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

по специальности 03.01.05 – физиология и биохимия растений

МИНСК, 2010

Работа выполнена в лаборатории оптимизации минерального питания и фотосинтеза ГНУ «Институт экспериментальной ботаники им. В.Ф. Купревича НАН Беларуси», г. Минск

Научный руководитель: **ЯНЧЕВСКАЯ Тамара Георгиевна**  
кандидат биологических наук, заведующая лабораторией оптимизации минерального питания и фотосинтеза ГНУ «Институт экспериментальной ботаники им. В.Ф. Купревича НАН Беларуси»

Официальные оппоненты: **АВЕРИНА Наталия Георгиевна**  
доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории биофизики и биохимии растительной клетки ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси»

**ФОМЕНКО Татьяна Ивановна**  
кандидат биологических наук,  
и.о. заведующей лабораторией клеточной биотехнологии ГНУ «Центральный ботанический сад НАН Беларуси»

Оппонирующая организация: РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по картофелеводству и плодоовощеводству»

Защита диссертации состоится «16» ноября 2010 г. в 14<sup>00</sup> на заседании Совета по защите диссертаций Д. 01.38.01 при ГНУ «Институт экспериментальной ботаники им. В.Ф. Купревича НАН Беларуси» по адресу: 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27.

E-mail: [exp-bot@biobel.bas-net.by](mailto:exp-bot@biobel.bas-net.by), тел/факс (017) 284-18-53

С диссертацией можно ознакомиться в Центральной научной библиотеке им. Я. Колоса НАН Беларуси.

Автореферат разослан «\_\_» октября 2010 г.

Ученый секретарь  
Совета по защите диссертаций  
кандидат биологических наук

Т.Ф. Сосновская

## КРАТКОЕ ВВЕДЕНИЕ

Свет выступает регулятором всех процессов жизнедеятельности растений, которые требовательны к его спектральному составу, предопределяющему участие специфических молекул – фоторецепторов, поглощающих определенные участки фотосинтетически активной радиации (ФАР). Существование многообразных рецепторных систем и тесная связь видимого и ультрафиолетового (УФ) участков спектра (фотореактивация, фотозащита) создают комплекс специфического действия ультрафиолетовой радиации (УФР) на растения. Система фоторегуляции начинается с возбуждения фоторецептора, включая в дальнейшем трансдукторы и трансляторы сигнала, изменяющие состояние генома, определяющего физиологический ответ, который проявляется не только в изменении ростовых и фотосинтетических реакций, но, в итоге, влияет на продукционный процесс [Stapleton, 1992].

Исследованию действия УФ облучения на растения уделялось большое внимание в 1930-1960 годы [Fuller, 1931; Харламов, Arnold, 1933; Benedict, 1936; Ивановская, Arthur, 1937; Brodfuhrer, 1955; Колесников, 1957; Bishop, 1959; Годнев, Акулович, 1960; Гурский, 1961; Шахов, 1965], когда рассматривалось его влияние на растительную клетку, биосинтез пигментов, а также генетический аппарат клетки и метилирование ДНК, как репарационные эффекты, хотя систематические исследования влияния УФ излучения и выявление стимулирующего его действия на сельскохозяйственные растения в литературе отсутствуют. В последние десятилетия интерес к этому направлению возрос [Жалилова, Barnet, 1993; Calduell, Jordan, Teramura, 1994; Ballare, Murphy, 1995; Allen, Kalbin, 1997; Ракитина, Barka, 2001; Данильченко, Chanishvili, Neill, 2002; Загоскина, 2003; Raviv, 2004; Ебрахим, 2005] в связи с глобальным изменением климата, истончением озонового экрана и увеличением УФР диапазона В ( $\lambda=280 - 315$  нм).

Исследования действия УФ облучения на растения, выращиваемые в искусственных условиях, имеют значение не только в раскрытии фундаментальных закономерностей биологических процессов, вызванных различной природой, но и практическую ценность: возможность использовать УФР для стимуляции и направленного синтеза органических веществ в растениях, влиять на аттрагирующую способность растений, изменять длительность физиологических фаз их развития, применять в современных аграрных технологиях.

К началу наших исследований имелись разрозненные сведения о чувствительности к УФР около 200 видов культурных растений. Тем не менее, для картофеля, возделывание которого составляет значительную часть сельскохозяйственного производства нашей страны, данные по влиянию искусственного УФ света на рост, развитие и продукционный процесс отсутствовали. Настоящая диссертационная работа посвящена изучению действия УФР на физиолого-биохимические процессы, выяснению механизмов индуцирования фотозащитных и ростстимулирующих эффектов УФР в меристемных растениях картофеля и их регенерантах при микроклональном размножении.

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Связь работы с крупными научными программами (проектами) и темами.** Диссертационная работа выполнена в лаборатории оптимизации минерального питания и фотосинтеза ГНУ «Институт экспериментальной ботаники им. В.Ф. Купревича» НАН Беларуси в рамках заданий ИП: «Ресурсосберегающая технология круглогодичного получения миниклубней ранних сортов картофеля в биотехнических системах» (2002-2004 гг., № ГР 20023204); «Обоснование механизмов защитного действия биологически активных пестицидов природного и синтетического происхождения на ионитопонную рассаду картофеля *in vivo*» (ГПОФИ «Биорациональные пестициды», 2004-2008 гг., № ГР 20051607); «Изучить основы формирования устойчивого искусственного ценоза микроклонов растений, полученных в условиях ионитопоники на основе принципов оптимизации минерального питания, фотосинтеза, тепловлагообеспеченности и оценки активности биосенсоров стрессовых воздействий» (ГПОФИ «Ресурсы растительного и животного мира», 2006-2010 гг., № ГР 20065434), а также гранта Президиума НАН Беларуси для докторантов и аспирантов по теме «Влияние ультрафиолетового излучения на сопряженные с фотосинтезом процессы у растений в искусственных условиях» (2005-2006 гг., № ГР 20053580).

**Цель и задачи исследования.** Цель настоящего диссертационного исследования – выявление действия УФР на физиолого-биохимические процессы, выяснение механизмов индуцирования фотозащитных и ростстимулирующих эффектов УФР в растениях картофеля при их микроклонировании в искусственных условиях.

Данная цель достигнута посредством решения следующих логически и содержательно взаимосвязанных задач:

1. Выявить эффекты действия УФР на морфообразовательные и продукционные процессы меристемных регенерантов картофеля.
2. Изучить динамику изменения свободных фитогормонов в меристемных регенерантах картофеля при УФ облучении в дозах 120, 240, 360 Дж/м<sup>2</sup>.
3. Определить активность фотосинтеза, динамику накопления пигментов и изменение состава белков листьев регенерантов картофеля при УФ облучении.
4. Исследовать влияние УФР на изменение активности оксидоредуктаз: супероксиддисмутазы, пероксидазы и инфицированность X-вирусом картофеля.

***Объектом*** исследования служили меристемные растения картофеля (*Solanum tuberosum* L.) среднеранних сортов Скарб, Явар, Одиссей (белорусской селекции) и Никита (голландской селекции).

***Предметом*** исследования являлись особенности морфообразовательных процессов, клубнеобразования, активность фотосинтеза, пигменты, ферменты (супероксиддисмутаза и пероксидаза), инфицированность X-вирусом картофеля, фитогормоны и состав белков листьев картофеля при УФ облучении.

### **Основные положения диссертации, выносимые на защиту.**

На защиту выносятся следующие положения:

1. Облучение УФР дозами 120, 240 и 360 Дж/м<sup>2</sup> увеличивает скорость ризогенеза, интенсивность ростовых процессов меристемных регенерантов картофеля и клубневой коэффициент размножения. Стимуляция морфообразователь-

ных, ростовых и продукционных процессов под действием УФР обусловлена изменением соотношения фитогормонов.

2. При УФ облучении растений картофеля в листьях возрастает содержание флавоноидов, каротиноидов и претерпевает изменения скорость затухания переменной флуоресценции хлорофилла. При однократном облучении УФР изменяется количественный и качественный состав растворимых и мембранных белков, многократное облучение вызывает увеличение содержания *Хл а* и *Хл в*.

3. УФР снижает инфицированность растений X-вирусом, вызывает изменения активности пероксидазы и молекулярных форм супероксиддисмутазы.

#### **Личный вклад соискателя.**

Экспериментальные результаты, представленные в диссертационной работе, получены лично автором или при непосредственном его участии. Соискателем проведена статистическая обработка данных. Выбор условий эксперимента, интерпретация и анализ полученных данных, подготовка к публикации печатных работ осуществлялись совместно с научным руководителем к.б.н. Янчевской Т.Г. при решающем участии автора.

**Апробация результатов диссертации.** Материалы диссертационной работы были представлены, доложены и обсуждены на Международном симпозиуме «Сигнальные системы клеток растений: роль в адаптации и иммунитете» (Казань, 2006); IX Международной конференции молодых ботаников (Санкт-Петербург, 2006); IV съезде общества биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова (Пушино, 2006); XIV Международной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов – 2007» (Москва, 2007); III Международной конференции молодых ученых «Биоразнообразие. Экология. Эволюция. Адаптация» (Одесса, 2007); Международной конференции «Современная физиология растений: от молекул до экосистем» (Сыктывкар, 2007); II Международном симпозиуме «Регуляторы роста растений: внутриклеточная гормональная сигнализация и применение в агротехнологии» (Киев, 2007) и др.

**Опубликованность результатов диссертации.** По материалам диссертации опубликовано 20 работ, в том числе лично автором - 10, в соавторстве - 10. Среди них 10 статей (8 - в рецензируемых научных журналах и сборниках, 2 - в сборниках научных трудов), 6 - в материалах конференций, 3 тезисов, 1 научная работа (в соавторстве). Общий объем публикаций в изданиях, включенных в перечень научных изданий Республики Беларусь для опубликования результатов диссертационных исследований - 2,69 авторских листа.

**Структура и объем диссертации.** Диссертационная работа изложена на 152 страницах машинописного текста и состоит из введения, общей характеристики, аналитического обзора, методической главы, 4 экспериментальных глав, заключения, библиографического списка, включающего 312 использованных источников, в том числе 214 на иностранных языках, список публикаций соискателя (20 работ) и приложений. В основной части размещено 28 таблиц и 18 рисунков; в приложении - 2 таблицы и 8 рисунков.

**Принятые сокращения.** АБК - абсцизовая кислота; ЗР - зеатин + зеатинрибозид; ИУК - индолилуксусная кислота; Мм - молекулярная масса; ПААГ - полиакриламидный гель; ПФХ - переменная флуоресценция хлоро-

филла; РЦ – реакционный центр; с. – сорт; СОД – супероксиддисмутаза; УФ – ультрафиолет; УФР – ультрафиолетовая радиация; ФС 1 – фотосистема 1; ФС 2 – фотосистема 2; ВКХ – X-вирус картофеля; *Хл а* – хлорофилл *а*; *Хл б* – хлорофилл *б*; ЭТЦ – электронотранспортная цепь; *Car* – каротиноиды; Rf – относительная электрофоретическая подвижность.

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

### Объекты и методы исследования

Объектом исследования служили растения картофеля (*Solanum tuberosum* L.) среднеранних сортов Скарб, Явар, Одиссей (белорусской селекции) и Никита (голландской селекции), полученные *in vitro* (РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по картофелеводству и плодоовощеводству»), которые черенковали и затем высаживали в пластиковые контейнеры с ионообменным субстратом Триона, сбалансированном по элементам питания для картофеля. Растения выращивали на биотехнических комплексах БТК-1 в контролируемых условиях с искусственным освещением (лампы ДНаЗ-400 при  $\lambda_{max} = 594-600$  нм, освещенность 24000 лк, фотопериод 16/8 ч), при влажности воздуха (75-80%) и температуры: днем –  $20 \pm 2^\circ\text{C}$ , ночью –  $-17 \pm 2^\circ\text{C}$ . Регенеранты в возрасте 14 сут облучали УФР от лампы ДРТ – 1000 ( $\lambda = 240-320$  нм; 128 Вт). Однократная доза облучения составляла  $120 \text{ Дж/м}^2$  или  $1,2 \cdot 10^5 \text{ эрг/м}^2$  (оценивали по УФР-дозиметру ДАУ-81). Эксперимент выполняли в соответствии с представленными схемами для однократного облучения (таблица 1) и множественного с интервалом в 24 часа между экспозициями (таблица 2).

Таблица 1 – Схема эксперимента I

Сутки	Контроль	Варианты опыта		
		доза облучения УФР ( $\text{Дж/м}^2$ )		
		I	II	III
1-е	-	120	240	360

Таблица 2 – Схема эксперимента II

Сутки	Контроль	Варианты опыта			
		доза облучения УФР ( $\text{Дж/м}^2$ )			
		I	II	III	IV
1-е	-	120	120	120	120
2-е	-	-	120	120	120
3-и	-	-	-	120	120
4-е	-	-	-	-	120
Суммарная доза УФР ( $\text{Дж/м}^2$ )	0	120	240	360	480

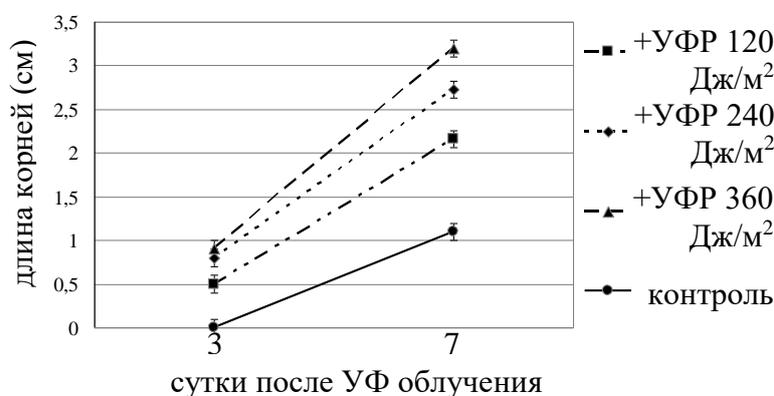
Морфофизиологический анализ растений осуществляли согласно [Андрюшина, 1967]. Содержание сухого вещества, крахмала определяли по общепринятым методикам [Андрюшина, 1967]. Содержание фотосинтетических пигментов (*Хл а* и *Хл б*, *car*) определяли по Гавриленко и др. [1975]. Количественное определение суммы флавоноидов осуществляли спектрофотометрическим методом [Точкова, Бубенчикова, 1991]. Активность пероксидазы изучали микрометодом [Хайрулин, 2000]. Содержание белка в образцах определяли с помощью метода Бредфорда [Bradford, 1976]. Проведение SDS электрофорети-

ческого анализа в ПААГ в денатурирующих условиях осуществляли по Laemmli [1970]. Активные изоформы СОД в ПААГ обнаруживали методом Beauchamp, Fridovich [1971]. Определение фитовирусов картофеля проводили с помощью метода иммуоферментного анализа (ИФА) [2003]. Количественное определение содержания фитогормонов в регенерантах картофеля проводили с помощью твердофазного ИФА по Кудояровой [1988] с использованием наборов для ИФА фирмы "Виконт" (Уфа). Кривые затухания переменной флуоресценции регистрировали с помощью двулучевого флуориметра, полученные данные анализировали согласно методике Карапетяна [1986]. Вегетационные опыты проводили в вегетационном павильоне на территории Центрального ботанического сада НАН Беларуси в 2004 и 2005 гг. Регенеранты картофеля облучали УФР как описано ранее (см. таблицу 1, 2) и в возрасте 21 сут пересаживали в сосуды Митчерлиха с торфогрунтом «Двина» (рН 6,4) и выращивали до конца вегетации. Все анализы проводились в трехкратной повторности. Статистическую обработку результатов проводили с помощью электронных таблиц MS Excel 2003 и прикладного пакета STATISTICA 6.0. Экспериментальные данные представлены в виде  $M \pm m$ , т.е. как среднеарифметические значения и их стандартные ошибки с учетом числа биологических повторностей. Достоверность оценивали по критерию Стьюдента [Доспехов, 1965]. Электрофоретические профили белков растворимых и мембранных белков обрабатывали и анализировали с помощью программы TotalLab Control Centre v.2.01 и Gel-Pro Analyzer v.4.0.

## ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

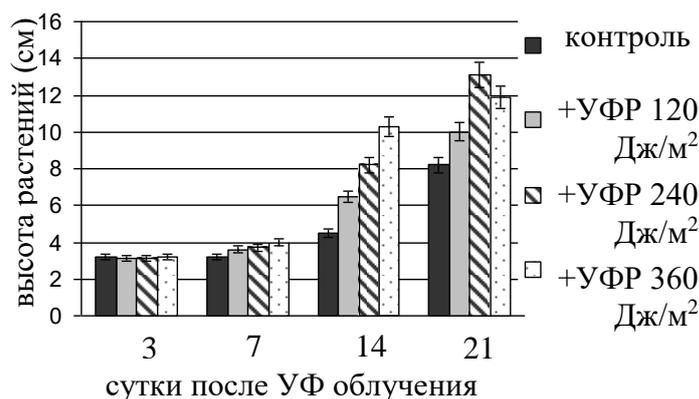
### Действие УФ облучения на морфообразовательные процессы меристемных регенерантов картофеля

Был проведен поиск условий УФ облучения, приводящих к усилению развития регенерантов картофеля при их клональном микроразмножении. В ходе экспериментов установлено (рисунок 1), что облученные УФР растения характеризовались ускоренным образованием и развитием первичных корней.



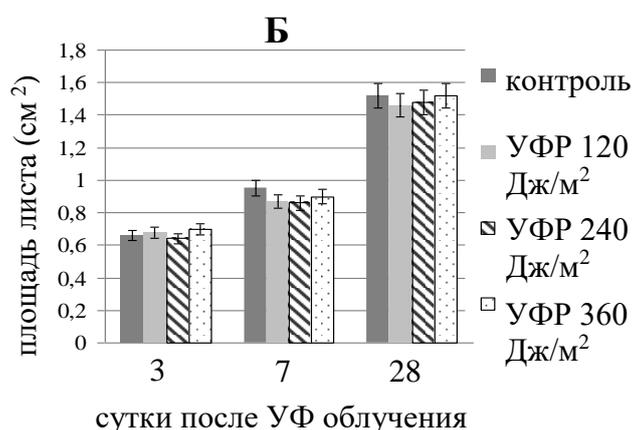
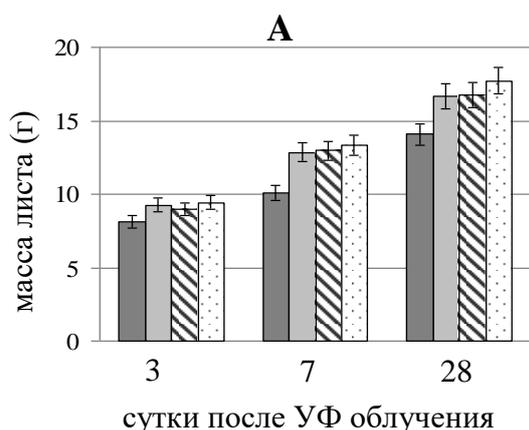
**Рисунок 1 - Влияние различных доз УФР на процессы ризогенеза меристемных регенерантов картофеля на примере с. Одиссей (схема I)**

Отсчет времени анализа эффектов, проявляющихся при действии УФР, был определен 7-ю сут (сутками). Это вызвано особенностью регенерантов образовывать первичные корни без каких-либо обработок именно к этому периоду времени. На полученных данных (рисунок 1), можно проследить начало образования первичных корней на 3-е сут. Так, у с. Одиссей при УФ облучении дозой 120 Дж/м<sup>2</sup> средняя длина корней (см) превышала контроль на



**Рисунок 2 - Динамика изменения высоты меристемных регенерантов на ранних стадиях онтогенеза при УФ облучении на примере с.Скарб (схема I)**

облучения регенерантов картофеля наблюдали более выраженные изменения морфологических параметров (рисунок 2).



**Рисунок 3 – Влияние УФ облучения на сырую массу (А) и площадь (Б) листа растений картофеля на примере с.Скарб (схема I)**

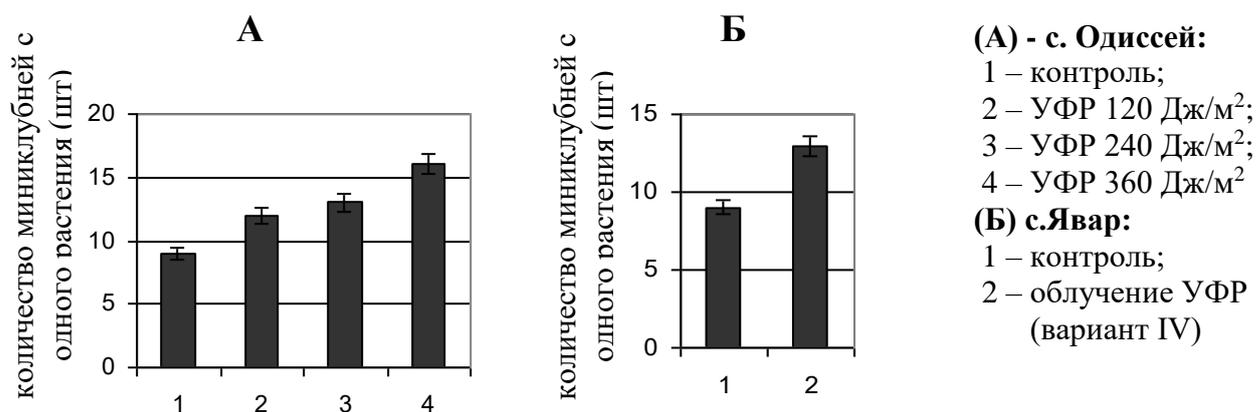
Данную стимуляцию роста растений под действием УФ облучения можно объяснить более ранним началом и завершением процессов ризогенеза. УФ облучение растений картофеля с. Скарб достоверно увеличивало массу листьев в зависимости от дозы облучения, причем возрастание данного параметра отмечалось при использовании как схемы I (рисунок 3, А), так и II.

Таблица 3 – Влияние УФ облучения на морфометрические показатели растений картофеля при уборке урожая (возраст растений – 90 сут; схема II)

Сорт	Вариант	Кратность облучения	Средняя масса клубня (г)	Содержание абсолютно сухого вещества в клубнях (%)
Одиссей	Контроль	-	26,20±1,3	18,32±0,20
	+ УФР	4	16,31±1,3	19,22±0,29

Примечательным является тот факт, что на фоне увеличения массы листа, не происходило изменение его площади (рисунок 3, Б). Используя схемы I и II, удалось добиться перераспределения продукционного потенциала растения на

образование максимального числа миниклубней за счет уменьшения их массы (таблица 3, 4, рисунок 4).



**Рисунок 4 – Влияние УФ облучения на количество миниклубней с одного растения: А - схема I; Б – схема II (возраст растений – 90 сут)**

Активация роста и развития используемыми дозами УФР на протяжении полной вегетации позволила увеличить коэффициент клубневого размножения по сравнению с контролем и способствовала накоплению большего количества сухого вещества в клубнях (таблица 3, 4, 5 рисунок 4).

**Таблица 4 – Влияние УФ облучения на морфометрические показатели растений картофеля при уборке урожая (возраст растений – 90 сут; схема I)**

Сорт	Вариант	Средняя масса клубня (г)
Одиссей	Контроль	10,7±0,9
	+ УФР (доза 120 Дж/м <sup>2</sup> )	6,73±0,4
	+ УФР (доза 240 Дж/м <sup>2</sup> )	6,96±0,3
	+ УФР (доза 360 Дж/м <sup>2</sup> )	10,38±0,8*

Примечание: \* различия по сравнению с контролем несущественны при P=0,95

**Таблица 5 – Влияние УФ облучения на морфометрические показатели растений картофеля при уборке урожая (возраст растений – 90 сут; схема II)**

Сорт	Вариант	Кратность облучения	Количество миниклубней с 1 растения (шт.)	Средняя масса клубня (г)
Никита*	Контроль	-	3,3±0,6	49,26±1,05
	+ УФР	4	5,5±0,7	44,5±0,7

Примечание: \*растения выращивались в вегетационном павильоне на территории Центрального ботанического сада НАН Беларуси

Так средняя масса одного клубня максимальна в контрольных вариантах (таблица 3, 4, 5, рисунок 4), а количество миниклубней с 1 растения преобладает у опытных растений, т.е. при УФ облучении достоверно образуется большее количество миниклубней, но с меньшей массой, что представляет существенный интерес для первичного семеноводства картофеля.

## Динамика изменения свободных фитогормонов в регенерантах картофеля при ультрафиолетовом облучении

Были изучены изменения содержания ИУК, цитокининов (ЗР – зеатинрибозид) и АБК в меристемных регенерантах картофеля при УФ облучении на ранних стадиях онтогенеза. Облучение регенерантов проводили сразу после черенкования согласно схеме I. Для изучения содержания фитогормонов брались растения на 3, 7, 14 и 21-е сут после УФ облучения. Выбор сроков анализа обусловлен динамикой ризогенеза и роста регенерантов. Результаты исследований показали, что максимальное количество приходилось на ауксины, особенно в возрасте 7 – 14 сут (таблица 6). Содержание свободной ИУК в облученных растениях в несколько раз превышало концентрацию фитогормона у контрольных, причем не выявлено достоверно значимых сортовых особенностей. Полученные экспериментальные данные показывают, что УФ облучение вызывает активацию биосинтеза ИУК. Известно, что инициация образования корней на регенерантах растений тесно связана с эндогенным уровнем ауксинов в зоне ризогенеза [Гуськов, 1991]. В нашей работе показано (таблица 6), что в возрасте 3 сут УФ облучение регенерантов приводит к максимальному содержанию ИУК относительно контроля. С возрастом регенерантов эта разница уменьшается и составляет к 7 сут – 6,2, на 14-е сут – 2,7 и на 21-е сут – 2,6. В процессах регуляции роста и развития растения важнейшее значение придается соотношению групп фитогормонов с различной направленностью физиологического действия. Если соотношение ЗР / ИУК низкое – то в растении идут процессы ризогенеза [Алехина, 2005], что и показано нами при УФР облучении на 3-и сут (таблица 6, рисунок 1).

Таблица 6 – Содержание свободной ИУК, ЗР и АБК в листьях меристемных регенерантов картофеля на примере с.Скарб (схема I)

Сорт	Вариант	Содержание свободной ИУК, мкг/г сырой массы			
		Сутки после облучения			
		3	7	14	21
Скарб	Контроль	0,012±0,002	0,352±0,022	0,400±0,015	0,294±0,012
	+ УФР 120 Дж/м <sup>2</sup>	0,362±0,021	1,800±0,045	1,120±0,050	0,680±0,032
	+ УФР 240 Дж/м <sup>2</sup>	0,370±0,014	2,130±0,320	1,200±0,060	0,716±0,034
	+ УФР 360 Дж/м <sup>2</sup>	0,440±0,035	3,050±0,268	1,560±0,075	0,784±0,036
		Содержание ЗР, нг/г			
	Контроль	2,6±0,2	4,2±0,1	10,8±0,2	12,2±0,4
	+ УФР 120 Дж/м <sup>2</sup>	2,3±0,2*	26,4±1,2	44,6±1,7	48,4±2,0
	+ УФР 240 Дж/м <sup>2</sup>	2,2±0,2*	30,6±1,5	48,2±2,0	51,2±2,0
	+ УФР 360 Дж/м <sup>2</sup>	1,8±0,1	32,0±1,6	50,0±1,5	60,0±2,2
		Содержание АБК, нг/г			
	Контроль	2,3±0,1	6,2±0,3	10,2±0,5	16,8±0,8
	+ УФР 120 Дж/м <sup>2</sup>	23,3±1,1	63,3±2,3	82,0±3,0	95,0±4,2
	+ УФР 240 Дж/м <sup>2</sup>	26,0±1,3	62,2±2,2	84,0±4,0	102,0±5,0
+ УФР 360 Дж/м <sup>2</sup>	32,0±1,4	76,4±3,4	94,0±4,2	116,0±5,3	

Примечание: \* различия по сравнению с контролем незначительны при P=0,95

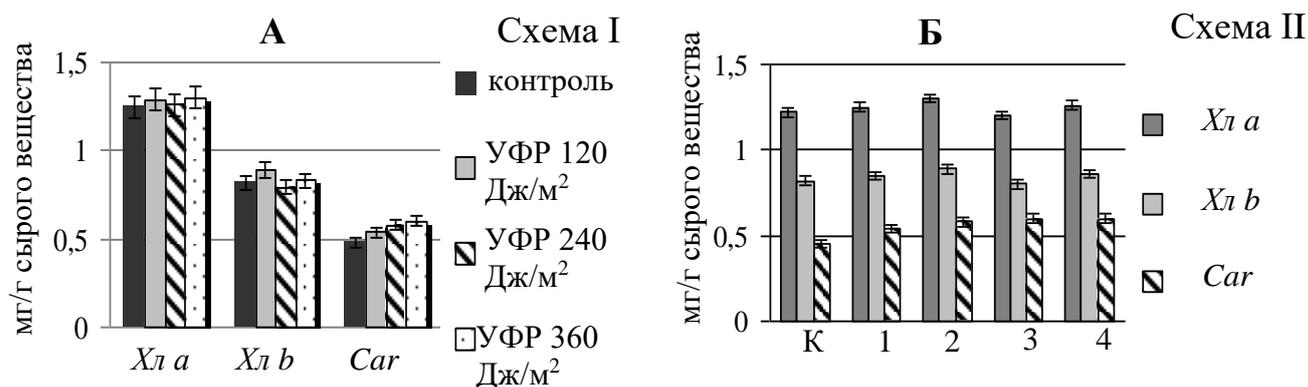
Высокое соотношение гормонов (ЗР / ИУК) у контрольных растений в раннем возрасте (3-и сут) не позволяет интенсифицировать процесс ризогенеза. И лишь при действии УФР происходит изменение этого соотношения, резко

стимулирующее корнеобразование уже в возрасте 3-х сут (таблица 6, рисунок 1). Накопление цитокининов под действием УФР было наименьшим по сравнению с другими гормонами и в суточной динамике наблюдалось постепенное увеличение содержания ЗР как в контрольных образцах, так и в опытных (таблица 6). Причём, на 3-и сут у облучённых регенерантов содержание ЗР меньше, чем в контроле, а, начиная с 7-х сут, содержание ЗР в опытных образцах в несколько раз превышает контрольное значение как в с.Скарб, так и в с.Одиссей. На всём протяжении эксперимента с возрастом растений уровень АБК возрастал как в контроле, так и в опыте (таблица 6) и УФ облучение вызывало дозозависимое увеличение содержания АБК. Высокое содержание АБК при УФ облучении, возможно, предохраняет растения от излишней потери воды (что согласуется с полученными нами данными по увеличению массы листа – рисунок 3, А), и тем самым способствует его выживанию, поскольку хорошо изучена роль АБК в водном обмене растений и, прежде всего, участие в регуляции устьичной проводимости [Кузнецов, 2005]. Проведенные исследования позволяют заключить, что гормональная система реагирует на действие УФР изменением баланса фитогормонов, что представляет собой одну из наиболее важных неспецифических (общих) реакций растений на действие изученного диапазона УФР и объясняет механизм стимулирования роста и развития регенерантов картофеля под действием УФ.

#### **Активность фотосинтеза и изменение состава белков листьев картофеля при УФ облучении**

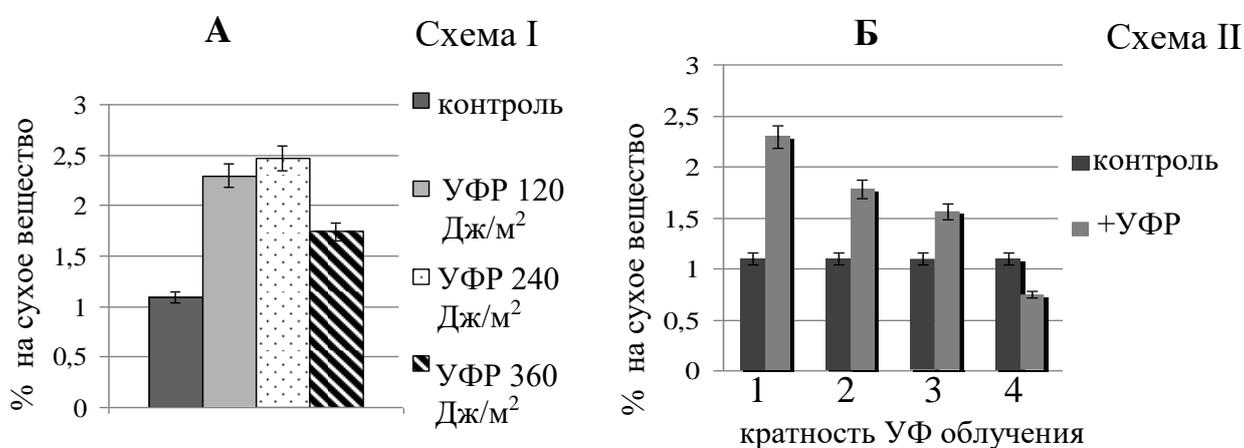
Изучение механизмов регуляторного действия УФР на различные физиологические процессы в растительной клетке вызывает необходимость проведения комплексных исследований, включающих установление концентраций в листьях основных фотосинтетических пигментов (*Хл а*, *Хл b* и *Car*), флавоноидов, изменения качественного состава белков листьев картофеля, активности фотосинтеза, характеризующейся скоростью затухания переменной флуоресценции хлорофилла как чувствительного индикатора физиологического состояния фотосинтетического аппарата растений.

**Накопление пигментов в листьях меристемных регенерантов картофеля при УФ облучении.** Было изучено влияние УФР на накопление пигментов в листьях картофеля с.Скарб и с.Одиссей (содержание пигментов определяли через сутки после УФ облучения). Нами установлено, что УФР при использовании схемы I не приводила к статистически достоверно значимым отличиям в содержании *Хл а* и *Хл b* по сравнению с контролем (рисунок 5, А). При УФ облучении растений картофеля согласно схеме II, изменения концентрации пигментов в листьях имели динамику преимущественно колебательного характера, при этом наблюдали увеличение содержания в листьях *Хл а* и *Хл b* по сравнению с контролем (К) при 2-кратном УФ облучении с временным интервалом в 24 ч. При использовании как I, так и II схемы облучения, прослеживали некоторое увеличение содержания каротиноидов (*Car*) при повышении дозы облучения (рисунок 5, А и Б), что может быть связано с их светособирающей и защитной функциями.



**Рисунок 5 - Влияние УФ облучения на содержание пигментов (мг/г сырого вещества) в листьях регенерантов картофеля на примере с. Одиссей**

Согласно полученным данным (рисунок 6, А), облучение дозой УФР в 120 Дж/м<sup>2</sup> приводило к увеличению суммарного содержания и флавоноидов в листьях картофеля более чем в два раза по сравнению с контролем, достигая своего максимума при увеличении дозы облучения до 240 Дж/м<sup>2</sup>. Дальнейшее (3-кратное) увеличение дозы облучения (360 Дж/м<sup>2</sup>) снижало активирующий эффект синтеза флавоноидов. При многократном УФ облучении (схема II) был также получен эффект увеличения содержания флавоноидов под влиянием УФР (рисунок 6, Б), но при такой схеме облучения наблюдается снижение содержания флавоноидов в зависимости от кратности облучения.



**Рисунок 6 - Суммарное содержание флавоноидов в листьях меристемных регенерантов картофеля на примере с. Одиссей**

Так 1-кратное облучение приводило к увеличению содержания флавоноидов более чем в два раза по отношению к контролю, 2-кратное облучение приводило к увеличению содержания флавоноидов почти на четверть, 3-кратное – на 10 % по сравнению с контролем, а 4-кратное облучение вызывало снижение суммарного содержания флавоноидов в листьях регенерантов картофеля на 21 % по сравнению с контролем (рисунок 6, Б), что может свидетельствовать об адаптации растений к дозам УФР и защите от фотодеструкции.

**Изменение переменной флуоресценции хлорофилла листьев картофеля при УФ облучении.** Было проанализировано влияние УФР на затухание ПФХ листьев регенерантов картофеля с. Скарб и с. Одиссей. Проведенные исследования показали, что при многократном облучении (схема II) растений кар-

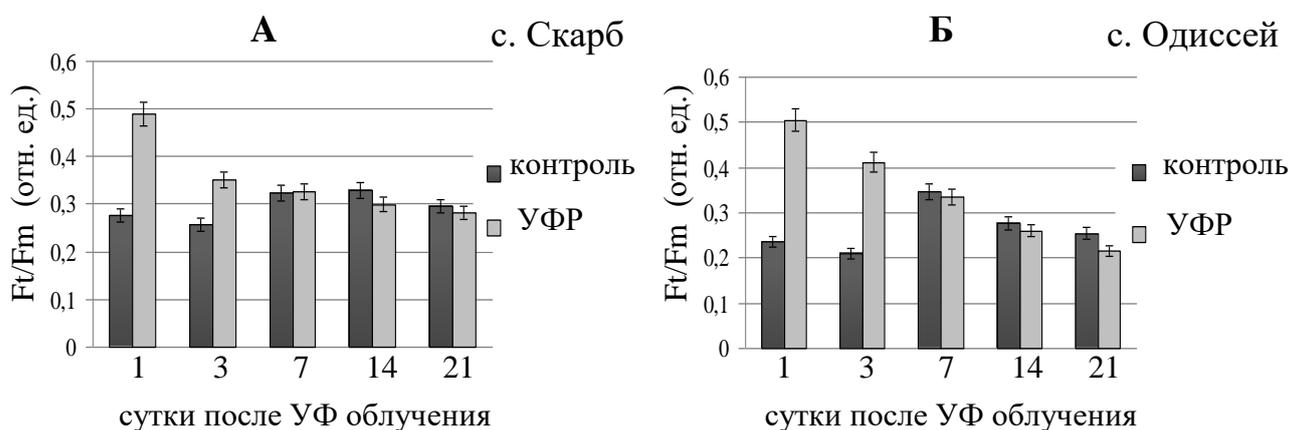
тофеля наблюдали относительно контрольного варианта (таблица 7) постепенное увеличение интенсивности затухания ПФХ ( $F_t/F_m$ ) с каждой очередной дозой поглощенных листьями квантов УФР. Аналогичные изменения происходили и при использовании схемы I. Это указывает на то, что ФС 2 и вся цепь переноса электронов функционировали с меньшей эффективностью, т.е. наблюдалось некоторое замедление первичных фотосинтетических процессов в хлоропластах листьев картофеля вследствие уменьшения скорости переноса электронов по ЭТЦ при облучении растений УФР.

Таблица 7 – Изменение интенсивности ПФХ листьев меристемных растений картофеля на примере с. Скарб в зависимости от дозы УФ облучения (схема II).

Однократная доза облучения	Кратность облучения УФР	Интенсивность ПФХ (отн. ед.)					
		Контроль			Опыт (+УФР)		
		$F_m$	$F_t$	$F_t/F_m$	$F_m$	$F_t$	$F_t/F_m$
120 Дж/м <sup>2</sup>	1	13.4±0.2	5.4±0.6	0.403	15.3±0.4	6.3±0.4	0.412
	2	8.03±0.3	3.8±0.4	0.473	10.9±0.3	5.1±0.5	0.468
	3	11.3±0.5	3.4±0.3	0.301	11.2±0.6	6.0±0.3	0.535
	4	2.7±0.2	0.95±0.3	0.351	2.13±0.2	1.2±0.1	0.547

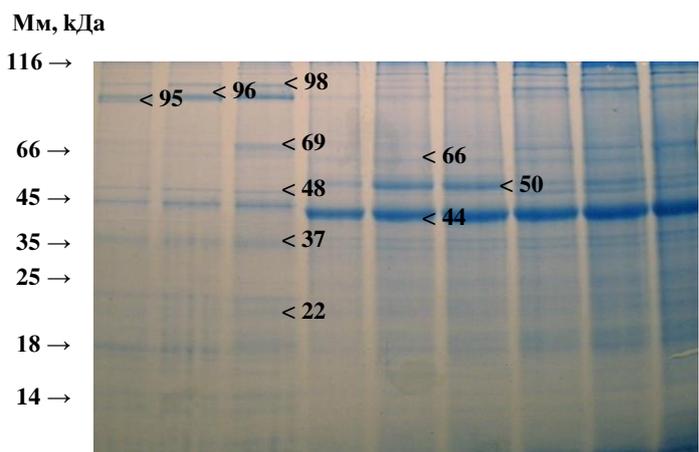
Примечание:  $F_m$  – максимальная амплитуда фотоиндуцированных изменений интенсивности ПФХ под действием актиничного света;  $F_t$  – амплитуда изменений ПФХ через 3 мин после включения актиничного света

На 1–3 сут после УФ облучения в с. Скарб (рисунок 7, А) и с. Одиссей (рисунок 7, Б) прослеживали четкое увеличение интенсивности затухания ПФХ, которое в дальнейшем (7–14 сут) нивелировалось. Этот факт стабилизации активности фотосинтетических процессов в регенерантах картофеля после действия УФР может быть связан с изменением гормонального уровня, непосредственно влияющего на активность фотосинтеза.



**Рисунок 7 – Изменение интенсивности ПФХ при УФ облучении регенерантов картофеля (схема II, вариант IV)**

В соответствии с данными (таблица б), в период с 7 по 14 сут происходит нормализация формирования градиентов ИУК и стабилизация интенсивности морфообразовательных процессов. Этим фактом объясняется возвращение к уровню контроля возникших первоначально изменений в ПФХ к 7 сут (рисунок 7), отражающих активность фотосинтеза. С увеличением возраста все физиологические процессы приобретают достаточно стабильный уровень (14-21 сут).



1 – 3 – мембранные фракции хлоропластов; 4 – 9 – цитоплазматическая фракция белков; 3, 9 – контроли; облучение УФР дозой, Дж/м<sup>2</sup>: 1, 4 – 360; 2, 5, 6 – 240; 7, 8 – 120

**Рисунок 8 - Электрофоретическое разделение растворимой цитоплазматической и мембранной хлоропластной фракций белков листьев картофеля на примере с. Одиссей при облучении различными дозами УФР (схема I)**

ских и мембранных белков хлоропластов листьев регенерантов картофеля с. Скарб и с. Одиссей при облучении УФР. В мембранной фракции хлоропластов при облучении УФР дозами 240, 360 Дж/м<sup>2</sup> (рисунок 8, треки 1, 2) уменьшается количество большинства представленных белков: 98, 69, 48, 45, 22 кДа. При облучении УФР дозой 360 Дж/м<sup>2</sup> (трек 1) увеличивается количественное содержание белка с Мм 18 кДа и 95 кДа. В растворимой цитоплазматической фракции белков (треки 4 – 9) особо заметные изменения наблюдаются при облучении УФР дозами 240, 360 Дж/м<sup>2</sup> (трек 4 - 6): уменьшается количественное содержание белков с Мм 98, 69, 66, 44 кДа и увеличивается – с Мм 50 кДа. В варианте с дозой облучения УФР 120 Дж/м<sup>2</sup> (трек 7, 8) заметно значительное увеличение белка с Мм 50 кДа, близкое по количеству к варианту при облучении дозой 240 Дж/м<sup>2</sup> (трек 5, 6).

Полученные результаты по изменению качественного и количественного состава, как мембранных белков хлоропластов, так и цитоплазматических белков свидетельствуют о неспецифической стрессовой реакции, происходящей под действием УФР и вызывающей выявленную динамику белков.

**Влияние ультрафиолетовой радиации на изменение активности СОД, пероксидазы и инфицированность X-вирусом картофеля**

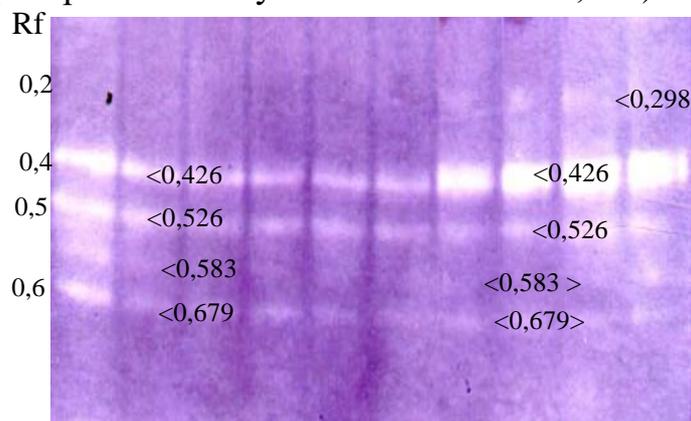
В настоящее время выделяют ряд сигнальных систем в живой клетке, одной из которых является супероксидсинтазная сигнальная система. Окисление НАДФ·Н молекулярным кислородом приводит к образованию супероксид-анионов, которые в результате реакции, катализируемой супероксиддисмутазой (СОД), превращаются в перекись водорода [McCord, 1969]. Резкое повышение содержания активных форм кислорода (АФК) и перекиси водорода (так назы-

Факт постоянства фотосинтетической активности может объясняться стабильностью морфофизиологических характеристик, формирующихся на однократное действие УФ облучения (площадь листьев и содержание Хл *a*, Хл *b* не изменяются). Многократное облучение УФ (схема II) не давало преимуществ в формировании стимулирующих эффектов. В качестве защиты от фотоповреждения большими дозами УФР можно отметить повышение содержания Хл *a*, Хл *b*, *Car*, стабилизирующих ССК, и увеличение флавоноидов.

**Состав белков в листьях картофеля и его изменение при УФ облучении.** Проанализированы изменения качественного и количественного состава цитоплазматических

ваемый «окислительный взрыв») в клетке являет собой начальную стадию биохимического ответа, направленную на подавление стрессовой реакции и процесса инфицирования. Активные формы кислорода и перекись водорода являются вторичными посредниками, вызывающими, как установлено [Тютереv, 2002], активацию факторов регуляции транскрипции и экспрессию защитных генов. В связи с этим задачей данного раздела явилось исследование влияния УФР на изменение активности СОД и пероксидазы в листьях регенерантов картофеля, и инфицированность их ВКХ.

**Действие УФ облучения на активность СОД в листьях меристемных регенерантов картофеля.** В результате проведенных экспериментов было установлено, что облучение УФР (рисунок 9) вызывает значительные изменения содержания СОД в листьях растений картофеля с.Скарб и с.Одиссей. При сравнении 1 и 2 треков (рисунок 9) в с. Скарб (трек 1) наблюдается более высокая активность молекулярных форм СОД, чем в с. Одиссей (трек 2, отсутствуют реперные точки устойчивости с Rf 0,583).



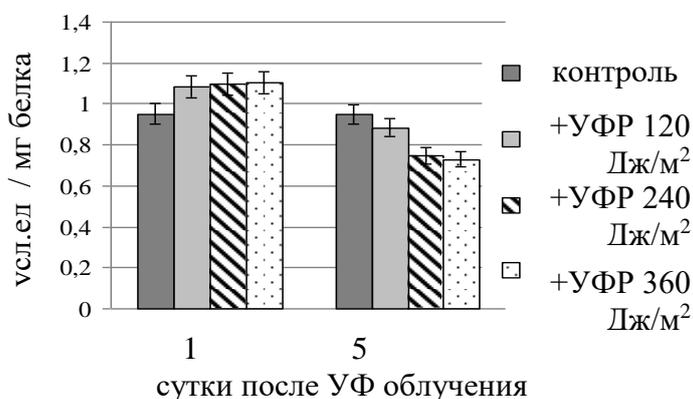
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10  
с. Скарб: 1 – контроль; облучение УФР дозой, Дж/м<sup>2</sup>: 3 –120; 5 –240; 7, 8 –360; с. Одиссей: 2 – контроль; облучение УФР дозой, Дж/м<sup>2</sup>: 4 –120; 6 –240; 9, 10 – 360.

**Рисунок 9 – Изоферментные спектры молекулярных форм СОД в листьях растений картофеля с. Скарб и с. Одиссей при УФ облучении (схема I)**

Это можно объяснить сортовой спецификой. Сорт Скарб по сумме баллов в реестре сортов более устойчивый по сравнению с с.Одиссей и, соответственно, характеризуется более эффективной системой защиты. Облучение УФР дозами 120, 240 Дж/м<sup>2</sup> (треки 3 – 6) не достаточно для увеличения активности молекулярных форм СОД с Rf 0,583. Облучение дозой 360 Дж/м<sup>2</sup> вызывает значительную активацию уже имеющихся молекулярных форм СОД (Rf 0,426; 0,526), как в с. Скарб (трек 7, 8), так и в с. Одиссей (трек 9, 10), а также приводит к появлению у неустойчивого с.Одиссей молекулярных

форм СОД с Rf 0,298 и 0,583 по сравнению с контролем (треки 2, 9, 10). Известно, что активация СОД при различных стрессовых воздействиях может быть обусловлена активацией его латентных форм и (или) синтезом новых молекул фермента [Gomez, 2003; Mittova, 2003] и является ответом на увеличение продукции радикалов супероксида, что обеспечивает защиту клеток и тканей растений от окислительных повреждений. Проведенные исследования, позволяют резюмировать: УФР способна активизировать процессы защиты растений на молекулярном уровне. Это следует из наших данных о влиянии дозы УФ облучения на появление новых молекулярных форм СОД. Полученные результаты дают возможность использовать УФ в методах защиты неустойчивых сортов картофеля, индуцируя образование молекулярных форм СОД.

**Изменения активности пероксидазы в листьях регенерантов картофеля при УФ облучении.** Нами изучено изменение активности пероксидазы в листьях регенерантов. Установлено (рисунок 10), что УФ облучение дозами 120, 240 и 360 Дж/м<sup>2</sup> вызывает увеличение активности пероксидазы в 1-е сут после облучения, но к 5-7 сут активность пероксидазы у опытных растений начинает снижаться по сравнению с контрольными, сохраняя этот диапазон различий в последующем как у с.Скарб, так и у с.Одиссей.



**Рисунок 10 - Изменение активности пероксидазы листьев меристемных регенерантов картофеля на примере с. Скарб при УФ облучении (схема I)**

предположить, что при воздействии на растения УФ в клетках формируется уникальный стрессовый набор СОД и пероксидаз, который в устойчивых растениях образует оптимальное для нормального функционирования соотношение белков с требуемыми свойствами. У неустойчивых растений, генетического потенциала организма не хватает для того, чтобы сформировать оптимальный изоферментный комплекс.

**Влияние ультрафиолетовой радиации на зараженность регенерантов картофеля X-вирусом.** Меристемные регенеранты картофеля подвергались заражению ВКХ (механическая инокуляция клеточным соком инфицированных растений) в возрасте 7 сут. Опытные растения облучали УФР (схема I) дозой 240 и 360 Дж/м<sup>2</sup> в возрасте 14 сут. Контролем служили инфицированные растения, не подвергавшиеся УФ облучению (таблица 8).

Таблица 8 – Зараженность ВКХ меристемных регенерантов картофеля с. Скарб при УФ облучении

Вариант	J <sub>492</sub>	
	Время после заражения, сут	
	7	21
Контроль 1 (не инфицированные растения)	0,012±0,01	0,011±0,01
Контроль 2 (инфицированные растения)	1,961±0,12	1,990±0,11
+УФР 240 Дж/м <sup>2</sup>	1,608±0,23	1,596±0,18
+УФР 360 Дж/м <sup>2</sup>	1,578±0,15	1,547±0,10

Примечание: P=0,95

Определение ВКХ осуществляли на 7-е, 21-е сут после облучения с помощью метода ИФА. Данный метод позволяет фотометрически определить нали-

чие вирусного заражения по оптической плотности ( $J_{492}$ ) при длине волны  $\lambda = 492$  нм. Величина  $J_{492}$ , превышающая значение 0,1, считается показателем присутствия вируса в объекте исследования. В соответствии с представленными результатами было установлено (таблица 8), что при УФ облучении наблюдается снижение инфицированности ВКХ регенерантов картофеля. Так доза УФР в  $240 \text{ Дж/м}^2$  снижает инфицированность ВКХ, а доза  $360 \text{ Дж/м}^2$  незначительно усиливает эффект частичной инактивации вирусной инфекции, однако УФ облучение полностью её не подавляет.

Учитывая, что вирусное инфицирование растений представляет собой многоступенчатый процесс, вызывающий значительные изменения метаболизма растений, и реализуется через ряд молекулярных взаимодействий патогена и растения, наши результаты показывают, что УФР активирует лишь часть этих процессов, изменяя на ранних стадиях активность оксидоредуктаз, как сигнальной супероксиддисмутазной системы, т.е. УФР в используемых дозах, недостаточна для полной инактивации инфекции.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

### Основные научные результаты диссертации

1. УФ облучение в дозах  $120, 240, 360 \text{ Дж/м}^2$  вызывает интенсификацию морфообразовательных процессов: увеличивает скорости образования листьев и междоузлий, ризогенеза регенерантов картофеля на ранних этапах онтогенеза (1–3 сут), и тем самым способствует более раннему укоренению и развитию опытных растений (на 3-и сут) по сравнению с контрольными (на 7-е сут), приводит к реализации продукционного потенциала растения за счет увеличения клубневого коэффициента размножения [3, 11, 12, 13, 20].
2. Установлен и обоснован механизм действия УФР, обуславливающий стимулирующие физиологические эффекты роста и развития растений среднеранних сортов картофеля, реализуемые через изменения соотношения фитогормонов. Установлено, что на ранних стадиях онтогенеза УФ облучение вызывает активацию биосинтеза ауксинов (ИУК), дозозависимое увеличение содержания АБК, изменяет динамику содержания цитокининов (ЗР) в регенерантах картофеля. Вызываемые УФР изменения баланса фитогормонов представляют собой одну из наиболее важных неспецифических (общих) реакций растений на действие изученного диапазона УФР [8, 10].
3. Обнаружен эффект сортоспецифического действия УФР в выявленных стимулирующих физиологических процессах дозах  $120, 240, 360 \text{ Дж/м}^2$  на регенеранты картофеля среднеранних сортов. Активность процесса фотосинтеза, как при однократном, так и при многократном облучении УФ претерпевала снижение, что демонстрируется возрастанием скорости затухания переменной флуоресценции, которая в дальнейшем (7–14 сут) восстанавливалась к контрольным значениям. Многократное воздействие УФ облучения сопровождалось увеличением в листьях растений содержания  $Xл a$  и  $Xл b$ , каротиноидов, флавоноидов, что может указывать на вовлечение в ответные реакции на действие ультрафиолета ССК ФС2 и механизмов защиты от фотораспада [1, 2, 6, 7, 14, 15, 17, 18, 19].
4. Установлено, что при облучении листьев регенерантов картофеля УФР до-

зами 120, 240, 360 Дж/м<sup>2</sup> изменяется количественный и качественный состав как мембранных фракций хлоропластов, так и цитоплазматических белков в зависимости от частоты и дозы облучения и определяется только сортом картофеля (Скарб, Одиссей) [4, 16].

5. Обнаружено, что при УФ облучении инфицированных меристемных регенерантов картофеля с. Скарб наблюдается эффект частичной инактивации вирусной инфекции, снижение зараженности X-вирусом, сопровождающееся активацией пероксидазы и появлением новых молекулярных форм СОД (Rf 0,298). Выявлено, что УФ облучение инфицированных растений с. Одиссей показало большую активность СОД в листьях, чем в с. Скарб, что указывает на причастность действия УФСР к супероксидазной сигнальной системе клетки и может отражать сортоспецифичность и степень устойчивости растений к экологическим факторам [5, 9, 12].

#### **Рекомендации по практическому использованию результатов**

1. Полученные данные легли в основу практических рекомендаций по применению облучения регенерантов картофеля при клональном микроразмножении в работе ИЭБ НАН Беларуси, как участника Госреестра РБ с целью улучшения их укоренения, получения большего количества миниклубней и усиления антивирусной защиты.

2. По экспериментальным данным оформлены 3 акта внедрения в учебный процесс студентов-биологов с дополнительными специальностями: химия, валеология, психология, география, а также в организации научных исследований кафедры ботаники и основ сельского хозяйства УО «БГПУ им. М. Танка» от 30.10.2008 г.

3. По полученным экспериментальным результатам работы оформлена, подана заявка на изобретение и получено положительное решение о первичной экспертизе на «Способ обработки посадочного материала картофеля» Национального центра интеллектуальной собственности от 23.12.2008 г.

#### **Список публикаций соискателя**

##### ***Статьи в научных журналах и рецензируемых сборниках:***

1. Ковалёва, О.А. Влияние УФ-облучения на биосинтез пигментов и фотодинамические характеристики переменной флуоресценции листьев меристемных регенерантов картофеля (*Solanum tuberosum*) / О.А. Ковалёва // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2006. – № 5. – С. 85 – 88.

2. Ковалёва, О.А. Влияние УФСР на фотодинамические характеристики переменной флуоресценции хлорофилла меристемных регенерантов картофеля (*Solanum tuberosum*) / О.А. Ковалёва // Молодёжь в науке – 2007: прил. к журн. «Весці НАНБ» в 4-х ч. Ч. 1. Сер. биол. наук. – 2008. – С. 109 – 113.

3. Ковалёва, О.А. Действие УФ облучения на морфометрические показатели картофеля на ранних стадиях вегетативного онтогенеза / О.А. Ковалёва // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2005. – № 5. – С. 112 - 114.

4. Янчевская, Т.Г. Белковый полиморфизм цитоплазматических и мембранных фракций хлоропластов листьев меристемных регенерантов / Т.Г. Янчевская, А.Н. Гриц, О.А. Ковалёва // Весці БДПУ. Сер. 3. – 2006. – № 3. – С. 45 – 49.

5. Янчевская, Т.Г. Влияние ультрафиолетового облучения суммарного диапа-

зона на активность пероксидазы листьев меристемных регенерантов картофеля (*Solanum tuberosum*) / Т.Г. Янчевская, А.Н. Гриц, О.А. Ковалёва // Весці БДПУ. Сер. 3. – 2006. – № 2. – С. 38 – 40.

6. Янчевская, Т.Г. Влияние ультрафиолетового облучения суммарного диапазона на биосинтез пигментов листьев меристемных регенерантов картофеля (*Solanum tuberosum*) / Т.Г. Янчевская, О.А. Ковалёва // Весці БДПУ. Сер. 3. – 2007. – № 1. – С. 39 – 43.

7. Ковалёва, О.А. Влияние ультрафиолетовой радиации на фотохимическую активность хлоропластов и содержание флавоноидов в листьях картофеля и гороха / О. А. Ковалёва, С.П. Избавителев, Т.Г. Янчевская, С.В. Мурашко, Л.В. Обуховская, Т.Б. Макарова, Н.А Копылова // Ботаника (исследования). Выпуск 34. / ИЭБ НАН Беларуси. – 2006. – С. 149 – 157.

8. Ковалёва, О.А. Зависимость процессов ризогенеза от активности пероксидазы и эндогенного уровня ауксина в меристемных регенерантах картофеля (*Solanum tuberosum* L.) при УФ облучении / О. А. Ковалёва, Т.Г. Янчевская, А.Н. Гриц // Ботаника (исследования). Вып. 36: к 80-летию образования НАН Беларуси / ИЭБ НАН Беларуси. – 2008. – С. 372 – 380.

***Статьи в сборниках научных трудов:***

9. Ковалёва, О.А. Влияние ультрафиолетовой радиации на зараженность меристемных регенерантов картофеля (*Solanum tuberosum* L.) X-вирусом / О.А. Ковалёва // Изучение, охрана и использование биоразнообразия растений и животных: сб. науч. ст. преп. каф. ботаники и зоологии фак. естествознания БГПУ; редкол.: Е.И. Бычкова [и др.]; отв. ред. И.Э. Бученков. – Минск: Право и экономика, 2009. – С. 31 – 35.

10. Ковалёва, О.А. Содержание свободных фитогормонов в меристемных регенерантах картофеля (*Solanum tuberosum* L.) при ультрафиолетовом облучении / О.А. Ковалёва, О.В. Страшкевич // Изучение, охрана и использование биоразнообразия растений и животных: сб. науч. ст. преп. каф. ботаники и зоологии фак. естествознания БГПУ; редкол.: Е.И. Бычкова [и др.]; отв. ред. И.Э. Бученков. – Минск: Право и экономика, 2009. – С. 35 – 39.

***Материалы конференций:***

11. Kovalyova, O.A. Physiological effects of action ultra-violet radiation on regenerants of potato / O.A. Kovalyova // Plant growth substances: intracellular hormonal signaling and applying in agriculture. Abstracts of 2nd International symposium, Kyiv, 8-12 October, 2007 y. / NAS of Ukraine, Institute of bioorganic chemistry and petroleum chemistry NAS of Ukraine. – Kyiv, 2007. – P. 134.

12. Ковалёва, О.А. Влияние облучения ультрафиолетовой радиацией меристемных регенерантов картофеля (*Solanum tuberosum*) на активность пероксидазы и способность к ризогенезу / О.А. Ковалёва // Актуальные проблемы биологии и экологии: материалы XV Всероссийской молодёжной науч. конф. (в 3-х томах). Т. 3. Сыктывкар, 14 – 18 апреля 2008 г. / Институт биологии Коми НЦ УрО РАН; редкол.: А.И. Таскаев [и др.]. – Сыктывкар, 2008. – С. 119-120.

13. Ковалёва, О.А. Влияние УФ облучения суммарного диапазона на морфобиологические показатели картофеля (*Solanum tuberosum*) на ранних стадиях вегетативного онтогенеза / О.А. Ковалёва // Материалы I (IX) Междунар. конф.

молодых бот. в Санкт-Петербурге, Санкт-Петербург, 21–26 мая 2006 г. / Рос. акад. наук, Бот. ин-т, рус. Ботан. об-во; редкол.: В.Т. Ярмишко [и др.]. – Санкт-Петербург, 2006. – С. 157.

14. Ковалёва, О.А. Влияние УФР на фотодинамические характеристики переменной флуоресценции хлорофилла меристемных регенерантов картофеля / О.А. Ковалёва // Современная физиология растений: от молекул до экосистем: Материалы докладов международной конференции (в трех частях). Часть 2. Сыктывкар, 18-24 июня 2007 г. / Коми НЦ УрО РАН; редкол.: Т.К. Головако [и др.]. – Сыктывкар, 2007. – С. 191-193.

15. Ковалёва, О.А. Действие ультрафиолетовой радиации на биосинтез пигментов у *Solanum tuberosum* / О.А. Ковалёва // Актуальные проблемы ботаники, экологии и биотехнологии: матер. Межд. конф. мол. ученых-ботаников, Киев, 27-30 сентября 2006 г. / НАН Украины, ИБ им. Н.Г. Холодного НАН Украины; редкол.: О.А. Петльованый. – Киев: Фитосоциоцентр, 2006. – С. 144 – 145.

16. Ковалёва, О.А. Изменение белковых спектров фракций цитоплазматических растворимых белков и мембран хлоропластов листьев меристемных регенерантов картофеля (*Solanum tuberosum*) под действием ультрафиолетового облучения *in vivo* / О.А. Ковалёва, А.Н. Гриц, Т.Г. Янчевская // Сигнальные системы клеток растений: роль в адаптации и иммунитете: тез. докл. II Межд. симпоз., Казань, 27-30 июня 2006 г. / Казанский научн. центр РАН, Казанский институт биохимии и биофизики РАН. – Казань, 2006. – С. 182 – 183.

#### ***Тезисы докладов конференций:***

17. Kovalyova, O.A. Influence of ultra-violet radiation on photochemical activity chloroplasts and contents flavonoids in leaves of the potato and peas / O.A. Kovalyova // Biodiversity. Ecology. Adaptation. Evolution: proceedings of the III International Young scientists conference, dedicated to 100 anniversaries from birth of famous Ukrainian lichenologist Maria Makarevych, Odesa, 15 – 18 may, 2007. – Odesa: Pechatniy Dom, 2007. – P. 35.

18. Ковалёва, О.А. Влияние ультрафиолетовой радиации на содержание флавоноидов в листьях меристемных регенерантов картофеля / О.А. Ковалёва, Т.Б. Макарова, А.Н. Гриц // Материалы IV съезда Общества биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова, Пущино, 6-7 декабря 2006 г. / РАН, общество биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова; ред.: Р.Г. Васильев. – Москва: МАКС Пресс, 2006. – С. 108 – 109.

19. Ковалёва, О.А. Физиологические эффекты действия УФР на меристемные регенеранты картофеля / О.А. Ковалёва // Ломоносов – 2007: материалы докладов XIV Междунар. конф. студентов, аспирантов и молодых ученых, Москва, 11 – 14 апреля 2007 г. / МГУ им. М.В. Ломоносова; ред.: И.А. Алешковский, П.Н. Костылев. [Электронный ресурс]. – Москва: Издательский центр Факультета журналистики МГУ им. М.В. Ломоносова, 2007. ISBN 5-7776-0079-4.

#### ***Научные издания:***

20. Янчевская, Т.Г. Получение безвирусной рассады картофеля по ионитопонной технологии в биотехнических комплексах / Т.Г. Янчевская, А.Л. Ольшанникова, С.В. Мурашко, О.А. Ковалёва, Н.А. Копылова. – Минск: ЧПУП «БелАниГал», 2004. – 52 с.

## РЕЗЮМЕ

Ковалёва Ольга Александровна

### Влияние ультрафиолетового облучения на физиолого-биохимические процессы регенерантов картофеля

**Ключевые слова:** картофель, УФР (ультрафиолетовая радиация), ризогенез, продуктивность, фитогормоны, фотосинтетические пигменты, пероксидаза, СОД, X-вирусная инфекция.

**Цель работы:** изучить действие УФР на физиолого-биохимические процессы, выяснить механизмы индуцирования фотозащитных и ростстимулирующих эффектов УФР в растениях картофеля при их микроклонировании в искусственных условиях.

**Методы исследования:** стандартные физиолого-биохимические, молекулярные, биофизические, морфофизиологические.

**Использованная аппаратура:** спектрофотометр СФ-26, прибор для вертикального электрофореза SE-250 (Amersham Biosciences, Великобритания), двухлучевой флуориметр, центрифуга Sigma 3-18 К (Германия), вакуумная гелевая сушка SE-60 (USA), прибор для иммуноферментного анализа АИФ-М/340 (Витязь, Беларусь).

**Полученные результаты и их новизна:** установлен и обоснован механизм действия УФР, обуславливающий стимулирующие физиологические эффекты роста и развития растений среднеранних сортов картофеля, реализуемые через изменения соотношения фитогормонов, как один из наиболее важных неспецифических (общих) реакций растений на действие УФР. Облучение УФ в дозах 120, 240, 360, 480 Дж/м<sup>2</sup> увеличивало клубневой коэффициент размножения и скорость ризогенеза, вызывало изменение эндогенного уровня ИУК в регенерантах картофеля. Однократное и многократное облучение УФ снижало активность фотосинтеза, тестируемое по скорости затухания переменной флуоресценции, которая в дальнейшем (7–14 сут) восстанавливалась к контрольным значениям в полном соответствии со стабилизацией фитогормонального градиента. Многократное УФ облучение сопровождалось увеличением в листьях растений содержания *Xl a* и *Xl b*, каротиноидов, флавоноидов, что может указывать на вовлечение в ответные реакции на действие ультрафиолета ССК ФС2 и механизмов защиты от фотораспада. В условиях УФ облучения наблюдался эффект частичной инактивации X-вирусного инфицирования, активация пероксидазы и появление новых молекулярных форм СОД в устойчивых и неустойчивых сортах картофеля, что указывает на причастность действия УФР к супероксидазной сигнальной системе.

**Рекомендации по использованию:** полученные данные легли в основу практических рекомендаций по применению УФ облучения регенерантов картофеля при клональном микроразмножении в работе ИЭБ НАН Беларуси, как участника Госреестра РБ, с целью улучшения их укоренения, получения большего количества миниклубней и усиления антивирусной защиты.

**Область применения:** физиология и биохимия растений, сельское хозяйство.

## РЭЗІЮМЭ

Кавалёва Вольга Аляксандраўна

### Уплыў ультрафіялетавага апраменьвання на фізіёлага-біяхімічныя працэсы рэгенерантаў бульбы

**Ключавыя словы:** бульба, УФР (ультрафіялетавая радыяцыя), рызагенез, прадуктыўнасць, фітагармоны, фотасінтэтычныя пігменты, пераксідаза, САД, Х-вірусная інфекцыя.

**Мэта даследавання:** вывучыць дзеянне УФР на фізіёлага-біяхімічныя працэсы, высветліць механізмы індукцыравання фотааховацельных і ростстимулюючых эфектаў УФР ў раслінах бульбы пры іх мікракланіраванні ў штучных умовах.

**Метады даследавання:** стандартныя фізіёлага-біяхімічныя, малекулярныя, біяфізічныя, морфафізіялагічныя.

**Выкарыстаная апаратура:** спектрафатометр СФ-26, прыбор для вертыкальнага электрафарэзу SE-250 (Amersham Biosciences, Аўстрыя), двухпрамянёвы флуарыметр, вакуумная гелевая сушка SE-60 (USA), цэнтрафуга Sigma 3-18 К (Германія), прыбор для імунаферментнага аналізу АІФ-М/340 (Віцязь, Беларусь).

**Атрыманыя вынікі і іх навізна:** ўсталяваны і абгрунтаваны механізм дзеяння УФР, які абумоўлівае стымулюючыя фізіялагічныя эфекты росту і развіцця раслін бульбы, якія рэалізуюцца праз змены суадносін фітагармонаў, як адна з найбольш важных неспецыфічных (агульных) рэакцый раслін на дзеянне УФР. Апрамяненне УФР ў дозах 120, 240, 360, 480 Дж/м<sup>2</sup> павялічвала каэфіцыент размнажэння клубняў і хуткасць рызагенеза, выклікала змяненне эндагеннага ўзроўню ІВК у рэгенерантах бульбы. Аднаразовае і шматразовае апрамяненне УФ зніжала актыўнасць фотасінтэзу, тэстоўваная па хуткасці згасання зменнай флуарэсцэнцыі, якая ў далейшым (7-14 дзён) аднаўлялася да кантрольных значэнняў у поўнай адпаведнасці са стабілізацыяй фітагарманальнага градыенту. Шматразовае УФ апрамяненне суправаджалася павелічэннем у лісці раслін утрымання Хл а і Хл b, караціноідаў, флаваноідаў, што можа паказваць на ўцягванне ў адказ рэакцыі на дзеянне УФ ССК ФС 2 і механізмаў абароны ад фотараспада. Ва ўмовах УФ апрамянення назіраўся эфект частковай інактывацыі Х-віруснага інфіцыравання, актывацыя пераксідазы і з'яўленне новых малекулярных формаў САД ва ўстойлівых і няўстойлівых гатунках бульбы, што паказвае на дачыненне дзеяння УФР да супераксідазнай сігнальнай сістэмы.

**Рэкамендацыі па выкарыстанню:** атрыманыя вынікі ляглі ў аснову практычных рэкамендацый па ўжыванні УФ апрамянення рэгенерантаў бульбы ў рабоце ІЭБ НАН Беларусі, як удзельніка Дзяржрэстра РБ, з мэтай паляпшэння іх укаранення, атрымання большай колькасці мініклубняў і ўзмацнення антывіруснай абароны.

**Галіна выкарыстання:** фізіялогія раслін, сельская гаспадарка.

## SUMMARY

Kovalyova Olga Alexandrovna

### **Influence of ultra-violet irradiation on physiological - biochemical processes of regenerants of a potato**

**Key words:** a potato, UVR (ultraviolet radiation), rhizogenesis, productivity, plant hormones, photosynthetic pigments, peroxidase, SOD, X-viral infection.

**The aim of research** was to study action of UVR on physiological - biochemical processes, finding-out of induction mechanisms photoprotective and stimulation of growth effects by UVR in plants of a potato at their microcloning in artificial conditions.

**The methods of research:** standard physiological and biochemical, molecular, biophysical, morphological.

**The used equipment:** spectrophotometer SF-26, the device for vertical electrophoresis SE-250 (Amersham Biosciences, Austria), two-beam fluorimeter, vacuum gel-drying SE-60 (USA), centrifuge Sigma 3-18 K (Germany), the device for immunofluorescence analysis AIF-M/340 (Vityaz, Belarus)

**The received results and their novelty:** installed and grounded the mechanism of action of UVR conditioning stimulating the physiological effects of plant growth medium early potato varieties, sold through changing the balance of phytohormones, as one of the most important non-specific (common) plant responses to the action of UVR. Irradiation of UVR in doses of 120, 240, 360, 480 Dj/m<sup>2</sup> increased the multiplication factor of tubers and speed rhizogenesis causes a change in the endogenous level indolylacetic acid regenerant potatoes. Single and repeated UV irradiation reduces the activity of photosynthesis, tested at the rate of decay of variable fluorescence, which later (7-14 days) restores to the control values in full compliance with the stabilization the gradient of phytohormones. Repeated UV irradiation was accompanied by an increase in leaves of chlorophyll *a* and *b*, carotenoids, flavonoids, which may indicate involvement in responses to the action of UV light-harvesting complex of photosystem 2 and the mechanisms of protection against photodecomposition. In terms of UV exposure we observed the effect of partial inactivation of the X-viral infection, activation peroxidase and development of new molecular forms of SOD in stable and unstable potato varieties, which indicates the involvement of UV radiation to superoxidizing signaling system.

**Recommendations on using:** the data obtained formed the basis for practical recommendations on the use of UV irradiation of potato regenerated in the Institute of Experimental Botany, National Academy of Sciences of Belarus, as a participant in the State Register of Belarus, with a view to improving their establishment, getting more minituber and strengthen anti-virus protection.

**The fields of application:** plant physiology, agriculture.