

ВЕСЦІ

НАЦЫЯНАЛЬнай
АКАДЭМІІ НАВУК БЕЛАРУСІ

СЕРЫЯ БІЯЛАГІЧНЫХ НАВУК 2013 №3

ИЗВЕСТИЯ

НАЦИОНАЛЬНОЙ
АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ

СЕРИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК 2013 №3

ЗАСНАВАЛЬНІК – НАЦЫЯНАЛЬНАЯ АКАДЭМІЯ НАВУК БЕЛАРУСІ

Часопіс выдаецца са студзеня 1956 г.

Выходзіць чатыры разы ў год

ИЗВЕСТИЯ НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ 2013 №3

Серия биологических наук

на русском, белорусском и английском языках

Комп'ютарная вёрстка А.У. Новік

Здадзена ў набор 20.05.2013. Падапісана ў друк 17.07.2013. Выхад у свет 25.07.2013. Фармат 60 × 84¹/₈. Папера афсетная.

Друк лічбавы. Ум. друк. арк. 14,88. Ул.-выд. арк. 16,4. Тыраж 86 экз. Заказ 137.

Кошт нумару: індывідуальная падпіска – 43 750 руб., ведамасная падпіска – 106 698 руб.

Рэспубліканскае ўнітарнае прадпрыемства «Выдавецкі дом «Беларуская навука». ЛІ № 02330/0494405 ад 27.03.2009.

Вул. Ф. Скарыны, 40. 220141, Мінск. Пасведчанне аб рэгістрацыі № 395 ад 18.05.2009.

Надрукавана ў РУП «Выдавецкі дом «Беларуская навука».

© Выдавецкі дом «Беларуская навука».
Весці НАН Беларусі. Серыя біялагічных навук, 2013

PROCEEDINGS

OF THE NATIONAL ACADEMY
OF SCIENCES OF BELARUS

BIOLOGICAL SERIES 2013 N3

FOUNDER IS THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF BELARUS

The Journal has been published since January 1956

Issued four times a year

УДК 57.085:634.73:547-314

О. А. КУДРЯШОВА, А. А. ВОЛОТОВИЧ, Т. В. ГЕРАСИМОВИЧ, Т. А. АРХИПЕНКО,
М. П. ВОДЧИЦ, Е. В. САХВОН

ЭФФЕКТЫ ЭКЗОГЕННЫХ АУКСИНОВ НА ИЗМЕНЕНИЕ КОЛИЧЕСТВЕННЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ РЕГЕНЕРАНТОВ *VACCINIUM CORYMBOSUM IN VITRO*

Полесский государственный университет, Пинск, e-mail: volant777@tut.by

(Поступила в редакцию 10.09.2012)

Введение. Голубика высокая (*Vaccinium corymbosum* L.) – один из экономически значимых и перспективных видов для культивирования в условиях Беларуси в промышленных масштабах [1]. Данный вид характеризуется выраженной пластичностью, высокой урожайностью ягод, быстрой окупаемостью затрат на создание и поддержание плантаций, пищевой ценностью и богатым химическим составом плодов [2]. Для обеспечения внутреннего рынка Беларуси, а также выхода посадочного материала сортовой голубики на экспорт требуется постоянное совершенствование технологии для ускорения производства качественного посадочного материала с минимизацией затрат при максимальном выходе продукта. Наиболее быстрый способ размножения голубики – микроразмножение *in vitro*. Вопрос об укоренении голубики высокой требует доработки с учетом особенностей каждого конкретного сорта.

Существуют два основных способа укоренения черенков (эксплантов) голубики высокой: укоренение в субстрате (как правило, в смеси торфа и перлита) с предобработкой ауксинами либо без нее [3–7] и укоренение *in vitro* на питательных средах, содержащих ауксины. Одними авторами отмечен достаточно высокий процент укоренения в торфяном субстрате [7, 8], другими же выявлено варьирование процента укоренения в зависимости от времени года [9], от присутствия либо отсутствия ауксиновой предобработки, а также концентрации ауксина [10]. Актуальным остается вопрос об укоренении голубики высокой *in vitro* с использованием гормонов ауксинового ряда. При изучении укоренения брусники обыкновенной и шести сортов голубики высокой на средах, содержащих 0,25; 0,5 и 1,0 мг/л нафтилуксусной (НУК), индолилуксусной (ИУК), либо индолилмасляной (ИМК) кислот, было выявлено, что для брусники и голубики самый высокий процент укоренения (в зависимости от сорта варьирующий в пределах 56–94 %) был на среде, содержащей 1 мг/л ИМК [8]. Этими же авторами отмечено, что при культивировании брусники и голубики на средах WPM и Андерсона (AN) с 1 мг/л ИУК и 5 мг/л 6-(γ,γ -диметилаллиламино)пурина (2iP), либо 4 мг/л ИУК и 15 мг/л 2iP через 3–4 пассажа наблюдалось образование корней у побегов, т. е. изначальное присутствие цитокинина, кроме ауксина, не являлось препятствием для ризогенеза. Другими авторами [11] для голубики высокой сорта Brigitta blue был отмечен самый высокий процент укоренения на среде $1/2$ WPM, содержащей НУК либо ИУК в концентрациях $5 \cdot 10^{-6}$ – $5 \cdot 10^{-7}$ мг/л. Сравнительная оценка двух типов ауксинов показала зависимость от их концентрации. Например, $1 \cdot 10^{-6}$ мг/л ИУК давала лучшую регенерацию, чем НУК в той же концентрации, и, напротив, $5 \cdot 10^{-7}$ мг/л НУК была более эффективной, чем $1 \cdot 10^{-6}$ мг/л ИУК. Низкие концентрации ауксинов ($2 \cdot 10^{-7}$ – $5 \cdot 10^{-7}$ мг/л) были достаточны для начала ризогенеза и формировали хорошую корневую систему.

Некоторыми авторами отмечено удовлетворительное укоренение голубики высокой *in vitro* на среде AN с добавлением 0,8 мг/л ИМК и 0,8 мг/л активированного угля [12]. Укоренение *in vitro* может быть индуцировано также на среде для пролиферации побегов, содержащей 1–2 мкМ

зеатина [13], или даже без регуляторов роста [4]. В исследованиях по укоренению низкорослой голубики (*Vaccinium angustifolium* L.) было показано, что в результате переноса побегов со среды для побегообразования на среду для укоренения наблюдается варьирование реакции от старения регенерантов до образования у них здоровой корневой системы. При этом установлена зависимость процента укоренения от соотношения и содержания 2iP и ИУК в предшествующей среде. Тем не менее самый высокий процент укоренения не превышал 67 % [14]. Некоторыми авторами выявлено, что самой оптимальной концентрацией для корнеобразования *in vitro* является 10 мкМ ИМК [15]. При укоренении южного сорта голубики высокой сорта Озаркблю и сорта брусники Красный жемчуг установлено, что ИМК лучше, чем НУК [16]. Для тестируемых сортов голубики высокой (Беркли, Блюкроп и Голдтраубе) укоренение *in vitro* индуцировалось при использовании модифицированной среды AN, содержащей 0,8 мг/л ИМК и 4 г/л активированного угля. Способность к укоренению сильно варьировала от сорта. Самый высокий процент укоренения был получен у Голдтраубе (82,8 %), самый низкий (10 %) – у сорта Беркли [17].

Цель работы – сравнительный анализ изменчивости количественных признаков у регенерантов двух сортов голубики высокой *in vitro* на питательных, агаризованных средах для укоренения, с органическими соединениями, на макро-, микросолевой основе 1/2 WPM, различающихся по составу ауксинов.

Объекты и методы исследования. Исследования проводили на базе биотехнологической лаборатории НИЛ клеточных технологий в растениеводстве УО «Полесский государственный университет» в сентябре–декабре 2011 г.

В качестве объекта исследования использовали размножаемые *in vitro* регенеранты (экспланты) сортов Northland и Patriot голубики высокой *V. corymbosum* L. Общее количество анализируемых регенерантов каждого сорта для каждого варианта опыта составило не менее 150 шт. (пять стеклянных емкостей, по 30 регенерантов в каждой).

Регенеранты получали в результате культивирования эксплантов (состоящих из трех метамеров) в колбах конических (объемом по 100 мл) с 25 мл стерильной агаризованной питательной среды на микро-, макро- солевой основе с органическими соединениями (кроме фитогормонов) по 1/2 WPM [8, 18], содержащей фитогормоны, в соответствии с приведенными ниже вариантами опыта:

1. Контроль – без фитогормонов;
2. 0,2 мг/л ИУК, совместно с 0,2 мг/л ИМК;
3. 0,5 мг/л ИУК, совместно с 0,5 мг/л ИМК;
4. 1,0 мг/л ИУК, совместно с 1,0 мг/л ИМК
5. 0,2 мг/л ИМК;
6. 0,5 мг/л ИМК;
7. 1,0 мг/л ИМК;
8. 0,2 мг/л ИУК;
9. 0,5 мг/л ИУК;
10. 1,0 мг/л ИУК.

Учет анализируемых показателей – высота регенерантов, длина третьего междоузлия, количество побегов, количество листьев, длина корней, сырой вес регенеранта, укореняемость регенерантов и жизнеспособность эксплантов – проводили через 8 недель культивирования на стеллажах световой установки культурального помещения биотехнологической лаборатории при температуре +25 °С, фотопериоде день/ночь – 16 ч/8 ч, освещенности 4000 лк (2 люминесцентные лампы OSRAM L36W/76 Natura), относительной влажности воздуха 70 %.

Общий математический анализ данных проводили по стандартным методам вариационной статистики [19] с использованием программы статистического анализа данных STATISTICA 6.0 [20]. Двухфакторный дисперсионный анализ данных и расчет доли влияния факторов на изменчивость исследуемых признаков проводили в программе статистического анализа AB-Stat 1.0, разработанной в Институте генетики и цитологии НАН Беларуси [21].

Результаты и их обсуждение. В табл. 1 приведены результаты изменчивости анализируемых количественных показателей у регенерантов сорта Northland *in vitro*. Выделены значения, достоверно (при $P < 0,05$ и $P < 0,01$) отличающиеся от анализируемых показателей в контроле. Общий анализ изменчивости показателей указывает на то, что, за исключением укореняемости регенерантов, количества побегов и жизнеспособности эксплантов, по всем остальным анализируемым показателям, как правило, наблюдалось достоверное превышение значений по отдельным вариантам опыта над контрольными значениями.

Анализ высоты регенерантов сорта Northland указывает на то, что в большей степени изменчивость показателя проявляется в присутствии ИУК (варианты 3, 4, 8–10). При этом следует отметить четкую закономерность достоверного увеличения в 1,4–1,7 раза высоты регенерантов с ростом концентрации ИУК в составе питательной среды (варианты 8–10). В случае с ИМК достоверное превышение в 1,3 раза по сравнению с контролем наблюдалось только при концентрации 0,5 мг/л (вариант 6). При увеличении концентрации ИМК до 1,0 мг/л показатели признака снижаются (варианты 4 и 7), что дает основание сделать заключение о противоположности действия ауксинов в одних и тех же концентрациях (табл. 1).

Анализ длины третьего междоузлия у регенерантов устанавливает сходную зависимость величины показателя от концентрации ауксина, причем закономерность сохраняется: с увеличением концентрации ауксинов значения показателя по сравнению с контролем достоверно увеличиваются в 1,2–1,4 раза в случае с ИУК (варианты 8–10) и уменьшаются в случае с ИМК (варианты 5–7). При сочетании ауксинов в равных концентрациях в составе питательной среды наблюдается тенденция увеличения значений показателя (табл. 1).

По количеству побегов у регенерантов сорта Northland отмечены достоверные (при $P < 0,05$) отличия от контроля только в присутствии 0,2 мг/л ИУК. При этом можно отметить тенденцию снижения значений показателя с ростом концентрации ИУК в составе среды (варианты 3–4 и 8–10, табл. 1).

По количеству листьев достоверное превышение в 1,1–1,3 раза над контролем наблюдалось, как правило, в присутствии ИУК (варианты 3–4 и 8–10, табл. 1). С увеличением концентрации ИМК от 0,2–0,5 мг/л значения показателя растут, при дальнейшем увеличении концентрации ИМК от 0,5–1,0 мг/л падают ниже значений в контроле (варианты 5–7). Та же тенденция сохраняется при сочетании ауксинов в равных концентрациях (варианты 2–4, табл. 1).

В присутствии ауксинов (за исключением вариантов 7 и 9) у сорта Northland наблюдается достоверное увеличение в 1,2–1,6 раза значений сырого веса регенерантов по сравнению с контролем (табл. 1). По аналогии с количеством листьев имеет место тенденция роста показателей сырого веса регенеранта с увеличением концентрации ИМК от 0,2–0,5 мг/л и падения значений (ниже значений в контроле) при дальнейшем увеличении концентраций ИМК от 0,5–1,0 мг/л (варианты 5–7, табл. 1).

Анализ укореняемости регенерантов сорта Northland указывает на существенное по отношению к контролю снижение в 1,2–1,6 раза показателей признака в присутствии ИМК (варианты 5–7) в обратно пропорциональной зависимости от увеличения концентрации ИМК от 0,2–1,0 мг/л в составе питательной среды (табл. 1). Следует отметить некоторое превышение над контролем показателей признака в присутствии двух ауксинов, взятых в равной концентрации 0,5 мг/л. Если сопоставлять данные по укореняемости регенерантов с данными по жизнеспособности эксплантов (проводить сравнительный анализ по произведению соответствующих значений указанных показателей), то следует отметить, что совместное применение ИУК и ИМК в равной концентрации (по 0,5 мг/л каждого из ауксинов) приводит к увеличению количества жизнеспособных, укорененных регенерантов (91,1 %) по сравнению с контролем (89,6 %).

Анализ длины корней у регенерантов сорта Northland указывает на то, что в присутствии ауксинов значения показателя по вариантам опыта увеличиваются в 1,6–1,9 раза (в подавляющем большинстве случаев достоверно) по сравнению со значениями показателя в контроле (табл. 1). Следует отметить прямо пропорциональный рост значений показателя с увеличением концентрации ИУК от 0,2–1,0 мг/л в составе питательной среды, а также эффект аддитивности ауксинов, взятых в концентрациях по 0,2 мг/л (табл. 1).

Т а б л и ц а 1. Изменчивость количественных показателей у регенерантов сорта *Northland* голубики высокой *Vaccinium corymbosum*

Вариант опыта	ВР, см	ДЗМ, см	КП, шт.	КЛ, шт.	СВР, г	УР, %	ДК, см	ЖЭ, %
WRM (контроль)	1,69±0,01	0,42±0,01	1,01±0,01	4,37±0,05	0,0205±0,0002	92,93±0,09	0,81±0,02	96,43±1,94
WRM + ИУК _{0,2} + ИМК _{0,2}	1,74±0,07	0,45±0,02	1,06±0,03	4,27±0,19	0,0331±0,0032**	84,23±6,27	1,57±0,12**	86,67±3,33
WRM + ИУК _{0,5} + ИМК _{0,5}	2,28±0,22**	0,47±0,05	1,06±0,04	5,26±0,19**	0,0294±0,0022**	96,40±1,99	1,10±0,04	94,47±3,99
WRM + ИУК _{1,0} + ИМК _{1,0}	2,19±0,37**	0,48±0,01	1,03±0,03	4,91±0,72*	0,0310±0,0009**	90,07±1,37	1,42±0,06**	90,00±1,91
WRM + ИМК _{0,2}	1,97±0,15	0,52±0,04**	1,01±0,01	4,60±0,27	0,0248±0,0022*	78,83±2,91*	1,45±0,25**	83,37±3,33*
WRM + ИМК _{0,5}	2,22±0,04**	0,51±0,01*	1,06±0,01	4,80±0,14	0,0279±0,0017**	56,20±3,35**	1,41±0,19**	91,10±2,20
WRM + ИМК _{1,0}	1,56±0,04	0,41±0,02	1,03±0,02	4,03±0,23	0,0187±0,0015	56,10±8,59**	1,42±0,13**	82,23±7,79**
WRM + ИУК _{0,2}	2,38±0,12**	0,51±0,02*	1,10±0,06*	5,17±0,18**	0,0292±0,0006**	90,30±5,78	1,26±0,04**	57,77±12,38**
WRM + ИУК _{0,5}	2,39±0,14**	0,53±0,04**	1,05±0,04	4,97±0,29*	0,0226±0,0006	92,40±3,90	1,28±0,09**	88,90±1,10
WRM + ИУК _{1,0}	2,82±0,14**	0,59±0,03**	1,04±0,02	5,44±0,08**	0,0247±0,0008*	92,03±2,77	1,48±0,18**	87,77±5,53
НСР _{0,05}	0,34	0,07	0,08	0,49	0,0038	12,21	0,33	10,45
НСР _{0,01}	0,45	0,09	0,10	0,65	0,0050	16,12	0,43	13,80

П р и м е ч а н и е. Данные представлены как среднее арифметическое ± стандартная ошибка средней. Показатели: ВР – высота регенеранта, ДЗМ – длина третьего междоузлия, КП – количество побегов, КЛ – количество листьев, СВР – сырой вес регенеранта, УР – процент укорененных регенерантов (укореняемость регенерантов), ДК – длина корней, ЖЭ – жизнеспособность эксплантов. Варианты опыта (индекс обозначает концентрацию в мг/л): WPM – микро-, макросолевая основа питательной среды для древесных растений; ИМК – индолмасляная кислота, ИУК – 3-индолуксусная кислота. НСР_{0,05} – наименьшая существенная разница при $P < 0,05$; НСР_{0,01} – наименьшая существенная разница при $P < 0,01$. Жирным шрифтом выделены значения, достоверно отличающиеся от значений в контроле. То же для табл. 2, 3.

* Достоверно отличается от контроля при $P < 0,05$.

** Достоверно отличается от контроля при $P < 0,01$.

В табл. 2 приведены результаты изменчивости анализируемых количественных показателей у регенерантов сорта Patriot *in vitro*. Достоверное (при $P < 0,05$) по сравнению с контролем превышение в 1,2 раза регенерантов по высоте наблюдалось в присутствии 0,5 мг/л ИУК (вариант 9), а также при сочетании ауксинов в концентрации 0,2 мг/л (вариант 2). Следует также отметить тенденцию уменьшения значений показателя с увеличением концентрации ИМК (варианты 5–7, табл. 2).

Анализ изменчивости длины третьего междоузлия установил достоверное снижение в 1,2 раза по сравнению с контролем величины показателя в вариантах с ауксинами в равных концентрациях 0,5 и 1,0 мг/л (табл. 2). В отличие от сорта Northland у регенерантов сорта Patriot отсутствовала изменчивость по данному показателю на средах с разным содержанием ИМК.

В присутствии ауксинов у регенерантов сорта Patriot по сравнению с контролем достоверно (при $P < 0,01$) снижалось количество побегов в 1,1–1,3 раза во всех вариантах опыта (табл. 2). Аналогичным образом анализ изменчивости количества листьев у регенерантов сорта Patriot указывает на тенденцию снижения значений показателя с увеличением концентрации ауксинов как в вариантах с их отдельным применением, так и при их сочетании. При этом все установленные достоверные отличия по отношению к контролю связаны со снижением значений данного показателя в 1,1–1,2 раза (табл. 2).

Изменчивость сырого веса регенерантов сорта Patriot также протекала в направлении уменьшения значений показателя в присутствии ауксинов. При этом значения достоверно снижались в 1,2–1,4 раза по сравнению с контролем (табл. 2).

В отличие от сорта Northland у сорта Patriot наблюдается совершенно иная картина по укореняемости регенерантов как на контрольной среде без ауксинов, так и на средах с ауксинами. Таким образом, на среде без ауксинов у сорта Northland укореняется в 1,6 раза больше регенерантов, чем у сорта Patriot (табл. 1, 2). Поскольку укореняемость регенерантов у сорта Northland близка к полной, а у сорта Patriot составляет немногим более половины, изменчивость данного признака в большей степени проявляется у сорта Patriot. Во всех случаях, за исключением вариантов 6 и 7 (с ИМК в концентрациях 0,5 мг/л и 1,0 мг/л соответственно), наблюдалось увеличение (в большинстве случаев достоверное) укореняемости регенерантов в 1,3–1,6 раза по сравнению с контролем. При этом имеет место как обратная пропорциональная зависимость величины признака от концентрации ауксинов, так и очевидная аддитивность действия ауксинов при их сочетании в составе питательной среды (табл. 2).

Анализ изменчивости жизнеспособности эксплантов показывает, что в присутствии ауксинов в составе питательной среды значения показателя, за единственным исключением (вариант 7 с 1,0 мг/л ИМК), возрастают по сравнению с контролем (табл. 2). Установлена прямо пропорциональная зависимость величины показателя от концентрации ИУК при его отдельном применении (варианты 8–10, табл. 2), а также обратная пропорциональная зависимость величины показателя от сочетания ауксинов в растущих концентрациях (варианты 2–4, табл. 2). С увеличением концентрации ИМК от 0,2–0,5 мг/л значение показателя растет, а при дальнейшем повышении концентрации ИМК от 0,5–1,0 мг/л значения показателя существенно снижаются, достоверно отличаясь от контроля в 1,8 раза (варианты 5–7, табл. 2).

С помощью анализа изменчивости длины корней у регенерантов сорта Patriot определена тенденция роста значений показателя с увеличением концентрации ИУК, а также обратная пропорциональная зависимость значений показателя от концентрации ИМК (табл. 2). При этом в присутствии 0,5 и 1,0 мг/л ИМК в составе среды значения длины корней были достоверно ниже таковых в контроле в 1,6 и в 1,8 раза соответственно.

Сравнительный анализ данных, приведенных в табл. 1 и 2, указывает на существование четких генотипических различий между исследуемыми сортами голубики высокой по вариантам опыта. Двухфакторный дисперсионный анализ установил высокодостоверное (при $P < 0,01$) влияние генотипа на изменчивость четырех из восьми исследуемых показателей, с долей влияния 11–35 % (табл. 3). При этом определена наиболее высокая доля влияния генотипа на изменчивость жизнеспособности эксплантов (19,9 %) и количества листьев (34,9 %).

Т а б л и ц а 2. Изменчивость количественных показателей у регенерантов сорта Patriot голубики высокой *Vaccinium corymbosum*

Вариант опыта	ВР, см		ДЗМ, см	КП, шт.		КЛ, шт.	СВР, г		УР, %		ДК, см	ЖЭ, %
	СК	ДВ, %		СК	ДВ, %		СК	ДВ, %	СК	ДВ, %		
WRM (контроль)	0,153	2,28 ± 0,02	0,55 ± 0,01	1,26 ± 0,01	5,84 ± 0,09	0,0306 ± 0,0007	57,60 ± 6,07	1,56 ± 0,44	64,20 ± 0,90			
WRM + ИУК _{0,2} + ИМК _{0,2}	0,153	2,63 ± 0,25*	0,50 ± 0,02	1,11 ± 0,03**	6,06 ± 0,19	0,0313 ± 0,0011	94,40 ± 3,49**	1,60 ± 0,05	73,33 ± 5,07			
WRM + ИУК _{0,5} + ИМК _{0,5}	0,153	2,06 ± 0,06	0,45 ± 0,01**	1,06 ± 0,04**	6,03 ± 0,25	0,0226 ± 0,0010**	62,27 ± 7,89	1,58 ± 0,15	71,10 ± 9,10			
WRM + ИУК _{1,0} + ИМК _{1,0}	0,153	2,01 ± 0,09	0,47 ± 0,02*	1,06 ± 0,03**	5,34 ± 0,17*	0,0276 ± 0,0027	82,20 ± 5,51**	1,58 ± 0,11	67,77 ± 2,23			
WRM + ИМК _{0,2}	0,153	2,46 ± 0,13	0,54 ± 0,03	1,03 ± 0,03**	5,82 ± 0,23	0,0254 ± 0,0013**	76,73 ± 8,43**	1,43 ± 0,13	68,90 ± 9,49			
WRM + ИМК _{0,5}	0,153	2,13 ± 0,10	0,54 ± 0,01	1,06 ± 0,01**	5,47 ± 0,06	0,0255 ± 0,0004**	13,87 ± 1,89**	0,97 ± 0,05**	74,47 ± 9,09			
WRM + ИМК _{1,0}	0,153	2,02 ± 0,20	0,54 ± 0,02	1,00 ± 0,00**	5,09 ± 0,22**	0,0240 ± 0,0015**	34,57 ± 11,00**	0,86 ± 0,13**	36,67 ± 11,46**			
WRM + ИУК _{0,2}	0,153	2,26 ± 0,11	0,58 ± 0,02	1,07 ± 0,02**	5,35 ± 0,16*	0,0259 ± 0,0024*	76,30 ± 7,33**	1,36 ± 0,03	74,43 ± 5,57			
WRM + ИУК _{0,5}	0,153	2,63 ± 0,25*	0,61 ± 0,03	1,01 ± 0,01**	5,86 ± 0,40	0,0242 ± 0,0013**	79,00 ± 1,05**	1,41 ± 0,12	80,00 ± 5,09**			
WRM + ИУК _{1,0}	0,153	2,11 ± 0,21	0,53 ± 0,01	1,02 ± 0,02**	4,98 ± 0,27**	0,0263 ± 0,0018*	60,30 ± 2,42	1,85 ± 0,18	95,57 ± 2,94**			
НСР _{0,05}		0,34	0,07	0,08	0,49	0,0038	12,21	0,33	10,45			
НСР _{0,01}		0,45	0,09	0,10	0,65	0,0050	16,12	0,43	13,80			

Т а б л и ц а 3. Двухфакторный дисперсионный анализ изменчивости количественных показателей у регенерантов сортовой голубики высокой *in vitro*

ИВ	df	ВР		ДЗМ		КП		КЛ		СВР		УР		ДК		ЖЭ	
		СК	ДВ, %	СК	ДВ, %	СК	ДВ, %	СК	ДВ, %								
Общее	59	0,153	100,0	0,004	100,0	0,005	100,0	0,467	100,0	0,001	100,0	527,764	100,0	0,128	100,0	296,164	100,0
Фактор А	1	0,272	3,2	0,027**	11,3	0,007	2,6	9,624**	34,9	0,000	0,1	5544,970**	17,8	0,149	2,0	3477,771**	19,9
Фактор В	9	0,273**	27,2	0,010**	38,6	0,008**	26,8	0,450*	14,7	0,001**	43,7	1993,356**	57,6	0,185	22,0	515,217**	26,5
А × В	9	0,346**	34,5	0,006**	21,9	0,011**	35,8	0,634**	20,7	0,001**	28,6	420,816**	12,2	0,233*	27,8	486,446**	25,1
Повторности	2	0,111	2,5	0,001	1,1	0,002	1,5	0,262	2,0	0,000	0,9	104,532	0,7	0,032	0,8	55,753	0,6
Случайные отклонения	38	0,078	32,6	0,002	27,1	0,002	33,3	0,201	27,7	0,000	26,7	96,224	11,7	0,094	47,4	128,143	27,9

П р и м е ч а н и е. ИВ – источник варьирования; df – число степеней свободы; СК – средний квадрат; ДВ – доля влияния фактора; фактор А – сорта голубики высокой (Northland и Patriot); фактор В – фитогормональный состав среды на микро-, макроэлементной основе WPM.

Для фактора фитогормональный состав среды (по ауксинам) установлено достоверное (в подавляющем большинстве случаев при $P < 0,01$) влияние на изменчивость всех (за исключением длины корней) исследуемых показателей с долей влияния 15–58 % (табл. 3). При этом определена наиболее высокая доля влияния фактора на изменчивость укореняемости регенерантов (57,6%).

Совокупность исследуемых факторов оказывает достоверное (в подавляющем большинстве случаев при $P < 0,01$) влияние на изменчивость всех исследуемых показателей с долей влияния 12–36 % (табл. 3). При этом установлена наиболее высокая доля влияния совокупности генотипа и фитогормонального состава среды на изменчивость высоты регенерантов (34,5 %) и количества побегов (35,8 %).

Заключение. Установлено закономерное противоположное действие ауксинов на изменчивость исследуемых показателей у регенерантов обоих сортов при увеличении концентрации каждого из ауксинов, применяемых по отдельности. При этом с увеличением концентрации ИУК в пределах 0,2–1,0 мг/л наблюдался рост показателей высоты растений (Northland), длины третьего междоузлия (Northland), сырого веса регенерантов (Patriot), длины корней (Northland и Patriot), жизнеспособности эксплантов (Patriot). Напротив, при увеличении концентрации ИМК в пределах 0,2–1,0 мг/л наблюдалось уменьшение показателей высоты растений (Northland и Patriot), длины третьего междоузлия (Northland), количества листьев (Patriot), сырого веса регенерантов (Northland и Patriot), укореняемости регенерантов (Northland и Patriot), длины корней (Northland и Patriot) и жизнеспособности эксплантов (Northland и Patriot).

При сочетании ауксинов в равных концентрациях в составе питательной среды с увеличением концентраций ауксинов в пределах 0,2–1,0 мг/л у сорта Northland чаще наблюдался рост значений исследуемых показателей, а у сорта Patriot – уменьшение значений исследуемых показателей. Анализ изменчивости длины корней у регенерантов сорта Northland и укореняемости регенерантов у сорта Patriot установил эффекты аддитивности ауксинов, взятых в концентрациях по 0,2 мг/л. При этом высокодостоверное (при $P < 0,01$) превышение над контрольными значениями составило 1,94 и 1,63 раза соответственно.

Определено высокодостоверное (при $P < 0,01$) влияние генотипа на изменчивость длины третьего междоузлия, количества листьев у регенеранта, укореняемости регенерантов и жизнеспособности эксплантов с долей влияния фактора 11–35 %. При этом наблюдалась наиболее высокая доля влияния генотипа на изменчивость жизнеспособности эксплантов (19,9 %) и количества листьев у регенерантов (34,9 %).

Установлено достоверное (в подавляющем большинстве случаев при $P < 0,01$) влияние фитогормонального (по ауксинам) состава среды на изменчивость всех (за исключением длины корней) исследуемых показателей с долей влияния фактора 15–58 %. При этом установлена наиболее высокая доля влияния фактора на изменчивость укореняемости регенерантов (57,6 %).

Наиболее высокий выход укорененных, жизнеспособных регенерантов наблюдался на питательных средах, содержащих одновременно оба ауксина ИМК и ИУК в концентрациях по 0,2 мг/л для сорта Patriot и по 0,5 мг/л для сорта Northland.

Литература

1. Рупасова Ж. А., Яковлев А. П., Решетников В. Н. Фиторекультивация выбывших из промышленной эксплуатации торфяных месторождений севера Беларуси на основе возделывания ягодных растений семейства Ericaceae. Мн., 2011.
2. Курлович Т. В. Клюква, голубика, брусника. М., 2007.
3. Litwinczuk W., Wadas M. // *Scientia Horticulturae*. 2008. Vol.119. P. 41–48.
4. Tetsumura T., Matsumoto Y., Sato M. et al. // *Scientia Horticulturae*. 2008. Vol.119. P. 72–74.
5. Gonzales M. V., Lopez M., Valdes A. E., Ordas R. J. // *Annals of Applied Biology*. 2000. Vol.137. P. 73–78.
6. Morrison S., Smagula J. M., Litten W. // *HortScience*. 2000. Vol.35. P. 738–741.
7. Debnath S. // *In Vitro Cellular and Developmental Biology Plant*. 2009. Vol.45. P. 122–128.
8. Судорович Е. А., Кутас Е. Н. Клональное микроразмножение новых плодово-ягодных растений. Мн., 1996.
9. Fuentealba R. Blueberry cuttings propagation (*Vaccinium corymbosum*) cultivars Elliot and Bluejay. Thesis or Dissertation. Santiago, 1994.
10. Ross S., Castillo A. // *Agrociencia Uruguay*. 2009. Vol.13, N 2. P. 1–8.

11. Georgieva M., Kondakova V. // Proc. of Intern. Sci. Conf. 2008. P. 134–140.
12. Ostrolucka M. G., Gajdosova A., Ondruskova E., Libiakova G. // Latvia Agronomijas Vestis. 2009. N 12. P. 75–80.
13. Debnath S. C. // Canadian Journal of Plant Science. 2011. Vol. 91, N 1. P. 147–157.
14. Frett J. J., Smagula J. M. // Can. J. Plant Sci. 1983. Vol.63. P. 467–472.
15. Zhao Guang-jie, Wang Zhan-bin, Wang D. // Plant Tissue Culture and Biotechnology. 2008. Vol. 18, N 2. P. 187–195.
16. Meiners J., Schwab M., Szankowski J. // Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 2007. Vol.89, N 2–3. P. 169–176.
17. Ruzic D., Vujovic T., Libiakova G. et al. // Journal of Berry Publisher. 2012. Vol.2, N 2. P. 97–103.
18. Trigiano R. N., Gray D. J. Plant tissue culture concepts and laboratory exercises. US/MA, CRC Press LLC. 1999–2000.
19. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта. М., 1985.
20. Боровиков В. П. STATISTICA: Искусство анализа данных на компьютере. СПб., 2001.
21. Анощенко Б. Ю. // Генетика. 1994. Т. 30. С. 8–9.

O. A. KUDRYASHOVA, A. A. VOLOTOVICH, T. V. GERASIMOVICH, T. A. ARKHIPENKO, M. P. VODCHIC, E. V. SAKHVON

THE EFFECTS OF EXOGENIC AUXINS ON THE CHANGE OF QUANTITATIVE TRAITS AT REGENERANTS OF VACCINIUM CORYMBOSUM IN VITRO

Summary

Results of the comparative analysis of variability of 8 quantitative traits at regenerants of Northland and Patriot cultivars of highbush blueberry *in vitro* on nutrient, agarized mediums for rooting, with organic compounds, on macro- and micro- salt basis of ½ WPM differing on composition of auxins in 9 variants of experience are given in the present article. The analysis of variability of ‘root length’ at regenerants of Northland and ‘percent of rooted regenerants’ of Patriot established the effects of additivity of IBA and IAA taken in concentration of 0.2 mg per liter. The highest exit of the implanted, viable regenerants was observed on the nutrient mediums containing at the same time both of auxins – IBA and IAA – in concentration of 0.2 mg/l for Patriot cultivar, and of 0.5 mg/l for Northland. The opposite effects of the auxins, applied separately at increase of their concentration, on variability of 5 studied traits at regenerants of both investigated cultivars are established.