

**ЭФФЕКТЫ ПРОПОЛИСА НА ИЗМЕНЧИВОСТЬ КОЛИЧЕСТВЕННЫХ ПРИЗНАКОВ
У РЕГЕНЕРАНТОВ СОРТОВОЙ ГОЛУБИКИ ВЫСОКОЙ
VACCINIUM CORYMBOSUM L. IN VITRO**

А.М. Цуба, 11 класс

Гимназия № 3 имени В.З. Коржа г. Пинска

Т.А. Архипенко, лаборант

Научный руководитель – О.А. Кудряшова, н.с.

Научный консультант – А.А. Волонович, к.б.н.

Полесский государственный университет

Прополис (пчелиный клей, уза) – тёмное смолистое вещество, обладающее антибактериальными, противовоспалительными и противоопухолевыми свойствами [1], вырабатывается пчелами для замазывания щелей и изоляции улья от посторонних предметов. Источником прополиса являются клейкие вещества, которые пчёлы собирают с весенних почек деревьев и модифицируют своими ферментами. В составе прополиса обнаружено более 280 соединений, из которых идентифицировано только 111. Прополис содержит смолистые кислоты и спирты, фенолы, дубильные вещества, бальзамы (коричный спирт, коричная кислота), воск, эфирные масла, флавоноиды, аминокислоты и витамины, минеральные элементы [1].

В настоящей работе приведены результаты сравнительного анализа регенерационной активности у эксплантов двух сортов голубики высокой *Vaccinium corymbosum* L. *in vitro* на питательных, агаризованных средах с органическими соединениями, на макро-, микро- солевой основе WPM [2], с 5 мг/л 6-(γ,γ -диметилаллиламино)пурина, дополненной прополисом в разных концентрациях.

Исследования проводили на базе биотехнологической лаборатории НИЛ клеточных технологий в растениеводстве УО «Полесский государственный университет» в феврале–марте 2012 года. В качестве объекта исследований использовали коллекционные, размножаемые *in vitro* регенеранты (экспланты) сортов Legacy и Northcountry голубики высокой *V. corymbosum* L.

Общее количество анализируемых регенерантов каждого сорта, для каждого варианта опыта составило не менее 60 шт., из расчета по 30 регенерантов на одну стеклянную емкость, в двукратной повторности. Регенеранты получали в результате культивирования эксплантов (состоящих из двух 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 WPM [2, 3], содержащей 5 мг/л 6-(γ,γ -диметилаллиламино)пурина (2iP) и прополис в концентрациях, соответствующих приведенным ниже вариантам опыта. Прополис, используемый в работе, получен в 2011 году в Солигорском районе.

Схема эксперимента имеет следующий вид:

1. Контроль – основа WPM, дополненная 5 мг/л 2iP (WPM_{5-2iP});
2. WPM_{5-2iP} + 100 мг/л прополиса;
3. WPM_{5-2iP} + 500 мг/л прополиса;
4. $\frac{1}{2}$ WPM + 2,5 мг/л 2iP + 100 мг/л прополиса;
5. $\frac{1}{2}$ WPM + 2,5 мг/л 2iP + 500 мг/л прополиса.

Учет анализируемых признаков – высоты регенерантов, коэффициентов размножения (как количества побегов у регенеранта, развившихся из одного экспланта – КП, и как количества полноценных эксплантов для последующего размножения, получаемых из одного регенеранта – КП₉) – проводили через 3 недели культивирования на стеллажах световой установки культурального помещения биотехнологической лаборатории при температуре +25°C, фотопериоде день/ночь – 16ч/8ч, освещенности 6000 лк (4 люминесцентных лампы OSRAM L36W/76 Natura), относительной влажности воздуха 70%.

Общий математический анализ данных проводили по стандартным методам вариационной статистики [4], с использованием программы статистического анализа данных STATISTICA 6.0 [5]. 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 [6].

Анализ изменчивости количественных признаков приведен в таблице 1.

Таблица 1 – Изменчивость количественных признаков у регенерантов сортов Legacy и Northcountry голубики высокой *Vaccinium corymbosum* L. *in vitro*

Вариант опыта	КП, шт.		ВП, см		ЖЭ, %	
	Legacy	Northcountry	Legacy	Northcountry	Legacy	Northcountry
WPM+2iP _{5,0} (контроль)	1,81±0,18	1,50±0,14	0,39±0,03	0,22±0,04	90,0±2,0	46,7±0,3
WPM+2iP _{5,0} +P ₁₀₀	1,58±0,11	1,58±0,14	0,28±0,02*	0,22±0,02	86,7±0,3	63,3±0,0**
WPM+2iP _{5,0} +P ₅₀₀	1,00±0,00**	1,00±0,00**	0,15±0,05**	0,35±0,05**	6,7±0,3**	6,7±0,3**
½WPM+2iP _{2,5} +P ₁₀₀	1,59±0,12	1,58±0,13	0,37±0,03	0,26±0,02	96,7±0,3**	80,0±2,0**
½WPM+2iP _{2,5} +P ₅₀₀	1,78±0,32	1,00±0,00**	0,24±0,04**	0,21±0,02	30,0±2,0**	33,3±3,3**
HCP _{0,05}	0,33		0,08		3,5	
HCP _{0,01}	0,47		0,12		5,1	

Примечания. Данные представлены как среднее арифметическое ± стандартная ошибка среднего.

Признаки: КП – количество побегов на экспланте; ВП – высота побега; ЖЭ – жизнеспособность эксплантов.

Варианты опыта: WPM – тип агаризованной, питательной среды фиксированного состава по [Trigiano, Gray, 2000]; 2iP_{5,0} – 5,0 мг/л 6-γ,γ-диметилаллиламино-пурина; 2iP_{2,5} – 2,5 мг/л 6-γ,γ-диметилаллиламино-пурина; P₁₀₀ – 100 мг/л прополиса; P₅₀₀ – 500 мг/л прополиса; HCP_{0,05} – наименьшая существенная разница при P<0,05; HCP_{0,01} – наименьшая существенная разница при P<0,01. Полужирным шрифтом выделены значения, достоверно отличающиеся от контрольных: ** – при P<0,01; * – при P<0,05. То же для табл. 2

Наиболее высокая жизнеспособность эксплантов (96,7 %), достоверно (при P<0,01) превышающая контрольное значение (90,0 %), установлена в варианте 4 опыта у сорта Legacy. При этом по количеству и по высоте побегов получены значения, сопоставимые с данными в контроле (таблица 1).

У сорта Northcountry в присутствии 100 мг/л прополиса (варианты 2 и 4) жизнеспособность эксплантов достоверно (при P<0,01) превышала значение в контроле в 1,4 и в 1,7 раза, соответственно. При этом по количеству побегов в вариантах 2 и 4 установлено повышение показателей признака по отношению к контролю, а по высоте побегов получены значения, сопоставимые (практически одинаковые) с контрольными (таблица 1).

В присутствии 500 мг/л прополиса наблюдалось выраженное ингибирование роста, формирование сплошных зон некроза и последующая гибель эксплантов. Наиболее четко это проявлялось в варианте 3 (WPM+2iP_{5,0}+P₅₀₀). На половинной по составу питательной среде WPM в присутствии 500 мг/л прополиса – вариант 5 (½WPM+2iP_{2,5}+P₅₀₀) – внешний вид эксплантов был лучше, а их жизнеспособность выше относительно варианта 3, но, соответственно, хуже и ниже, чем в контроле (таблица 1).

Таблица 2 – Двухфакторный дисперсионный анализ изменчивости количественных признаков у регенерантов *Vaccinium corymbosum* L. *in vitro*

Источник варьирования	df	КП		ВП		ЖЭ	
		СК	ДВ, %	СК	ДВ, %	СК	ДВ, %
Общее	19	0,117	100,000	0,008	100,000	1105,976	100,000
Фактор А	1	0,198	8,879	0,006	3,843	1283,202**	6,107
Фактор В	4	0,293**	52,543	0,006	17,121	4563,657**	86,871
АхВ	4	0,109	19,629	0,020**	52,041	357,257**	6,801
Повторности	1	0,051	2,287	0,016	10,426	2,592	0,012
Случайные отклонения	9	0,041	16,661	0,003	16,569	4,899	0,210

Примечания. СК – средний квадрат; ДВ – доля влияния фактора. ** – значимо при P<0,01

Двухфакторный дисперсионный анализ (таблица 2) установил высоко достоверное (при P<0,01) влияние генотипа (фактор А), вариантов опыта (фактор В) и их совокупности на изменчивость

жизнеспособности эксплантов. При этом доля влияния фактора В составила 87%. Фактор В также оказывал высоко достоверное (при $P < 0,01$) влияние на изменчивость количества побегов у регенерантов, с долей влияния 53%, а совокупность факторов А и В оказывала высоко достоверное (при $P < 0,01$) влияние на изменчивость высоты побегов у регенерантов, с долей влияния 52%.

На основании результатов исследований можно рекомендовать невысокие (до 100 мг/л) концентрации прополиса в составе полноценной, либо половинной питательной среды WPM для повышения жизнеспособности эксплантов (регенерантов) сортовой голубики высокой при размножении их *in vitro*.

Список использованных источников

1. Ценный продукт пчеловодства: прополис. Бх.: Апимондия, 1991.
2. Trigiano, R.N. Plant tissue culture concepts and laboratory exercises / R.N. Trigiano, D.J. Gray. – US/MA, CRC Press LLC., 1999–2000. – 454 p.
3. Сидорович, Е.А. Клональное микроразмножение новых плодово–ягодных растений / Е.А. Сидорович, Е.Н. Кутас. – Минск, 1996. – 246 с.
4. Доспехов, Б.А. Методика полевого опыта / Б.А. Доспехов. – М.: Агропромиздат, 1985. – 350 с.
5. Боровиков, В.П. STATISTICA: Искусство анализа данных на компьютере / В.П. Боровиков. – СПб: Питер, 2001. – 688 с.
6. Анощенко, Б.Ю. Программы анализа и оптимизации селекционного процесса растений / Б.Ю. Анощенко // Генетика. – М.: Наука, 1994. – Т.30. – Приложение. – С. 8–9.