

**УСИЛЕНИЕ РЕГЕНЕРАЦИОННОЙ АКТИВНОСТИ ЭКСПЛАНТОВ ГОЛУБИКИ
ВЫСОКОЙ *VACCINIUM CORYMBOSUM* L. IN VITRO
В ПРИСУТСТВИИ 24-ЭПИБРАССИНОЛИДА**

*Е.П. Глеб, Е.С. Гук, 3 курс, И.О. Беда, 2 курс
Научный руководитель – О.А. Кудряшова
Научный консультант – А.А. Волотович, к.б.н.
Полесский государственный университет*

Голубика высокая (*Vaccinium corymbosum* L.) – перспективный, экономически значимый вид для промышленного культивирования в условиях нашей страны, особенно в южной агроклиматической зоне Беларуси [1]. Клональное микроразмножение видов рода *Vaccinium* является экономически выгодным [2, 3], и рассматривается как один из основных промежуточных этапов комплексной, современной технологии ускоренного производства качественного посадочного материала в промышленных объемах [4].

Клональное микроразмножение растений *in vitro* возможно только после получения стерильных, активно регенерирующих эксплантов. Для повышения генетической стабильности размножаемых *in vitro* регенерантов, активируют аксиллярные меристемы растений [2].

После изолирования и стерилизации первичные экспланты размещают на стерильной, питательной, агаризованной среде, содержащей разные фитогормоны (как правило, цитокинины и ауксины) в оптимальном соотношении для инициации побегообразования *in vitro*. В случае голубики высокой на данном этапе используют среду на макро- и микро- солевой основе WPM [5] с добавлением 15 мг/л 6-(γ , γ -диметил-аллил-амино)-пурина и 4 мг/л индолилуксусной кислоты [2, 3].

Брассиностероиды (стероидные гормоны растений) являются перспективной и наименее изученной группой природных регуляторов роста растений. По химической природе – это производные оксистероидов с лактонной группой в кольце В [6].

Для брассиностероидов отмечены эффекты ускорения роста растений, при этом по механизму действия брассиностероиды отличаются от других фитогормонов. В действии брассиностероидов на рост и развитие растений отмечены эффекты синергизма с другими фитогормонами (в частности, с ауксинами) [6].

Брассиностероиды усиливают реакцию геотропизма, способствуют дифференциации ксилемы, повышают жизнеспособность пыльцы, задерживают старение листьев, регулируют угол наклона листьев, повышают устойчивость растений к стрессу [6].

Опираясь на внутренние разработки УО «Полесский государственный университет» (2009-2010гг.), использование брассиностероидов на этапах микроразмножения *in vitro* и адаптации *in vivo* рассматривается как один из ключевых компонентов инновационной технологии ускоренного

производства качественного посадочного материала растений семейства *Ericaceae* в промышленных объемах [4].

В нашей статье приведены результаты исследований регенерационной активности эксплантов голубики высокой *V. corymbosum* L. на модифицированной по составу агаризованной, питательной среде на макро- и микро- солевой основе WPM, дополненной 24-эпибрасинолидом.

Исследования проводили на базе биотехнологической лаборатории НИЛ клеточных технологий в растениеводстве УО «Полесский государственный университет» с сентября по декабрь 2010 года. В качестве объекта исследований использовали районированные и включенные в Государственный реестр сортов и древесно-кустарниковых пород Республики Беларусь раннеспелый сорт Нортланд и средне-позднеспелые сорта Патриот и Блюкроп голубики высокой *V. corymbosum* L.

Сорта Патриот и Блюкроп вводили в культуру *in vitro* дважды – 23 сентября и 14 октября 2010 года, что позволило рассчитать стандартную ошибку среднего арифметического значения. Сорт Нортланд вводили в культуру *in vitro* однократно 14 октября 2010 года.

В качестве первичных эксплантов для стерилизации и введения в культуру *in vitro* использовали неодревесневшие, верхушечные фрагменты стебля длиной 15 мм с 1–2 почками. Общее количество эксплантов составило 750 штук.

В качестве стерилизующего агента по модифицированной методике введения растений *V. corymbosum* L. в культуру *in vitro* [2] использовали 7,5% раствор гипохлорита натрия, при продолжительности экспозиции эксплантов 25 минут. После стерилизации и отмывки экспланты высаживали в пробирки диаметром 22 мм на питательные агаризованные среды на макро- и микро- солевой основе WPM, различающиеся по содержанию 24 –эпибрасинолида (0,00 мг/л – контроль; 0,25 мг/л; 0,50 мг/л; 0,75 мг/л).

Учет общего количества стерильных эксплантов, и стерильных регенерирующих эксплантов проводили через 8 недель культивирования на стеллажах световой установки культурального помещения биотехнологической лаборатории при температуре 25°C, фотопериоде день/ночь – 16ч/8ч, освещенности 6000 лк, относительной влажности воздуха 70%.

Общий математический анализ данных проводили по стандартным методам вариационной статистики, с использованием программы статистического анализа данных STATISTICA 6.0.

Результаты исследований представлены в таблице. В соответствии с полученными данными, присутствие в составе модифицированной, агаризованной, питательной среды 24-эпибрасинолида в концентрации 0,50 мг/л позволяет увеличить количество активно регенерирующих стерильных эксплантов исследуемых сортов на 3,8-65,0%, в зависимости от генотипа (сорта). В экспериментах с эксплантами сорта Блюкроп установлено повышение количества активно регенерирующих стерильных эксплантов с увеличением концентрации 24-эпибрасинолида в составе агаризованной питательной среды (таблица). При этом присутствие 24-эпибрасинолида в концентрациях 0,25, 0,50 и 0,75 мг/л увеличивало выход активно регенерирующих стерильных эксплантов сорта Блюкроп на 0,6 %, 4,8% и 18,8%, соответственно.

Таблица – Выход стерильных эксплантов голубики высокой *in vitro* через 8 недель после стерилизации и высадки на питательные среды

Сорт	Вариант опыта	Общее количество ПЭ, шт	Количество стерильных ПЭ, %	Количество активно регенерирующих стерильных ПЭ, %
Патриот	1 (контроль)	161	58,0±16,0	13,5±4,5
	2 (0,50 мг/л 24-ЭБ)	132	74,7±18,2	25,8±0,1
Нортланд	1 (контроль)	48	68,0	17,0
	2 (0,50 мг/л 24-ЭБ)	28	100,0	82,0
Блюкроп (от 23.09.10)	1 (контроль)	88	37,7	22,4
	2 (0,50 мг/л 24-ЭБ)	91	64,8	26,2
Блюкроп (от 14.10.10)	1 (контроль)	57	33,4	15,7
	2 (0,25 мг/л 24-ЭБ)	43	25,0	16,3
	3 (0,50 мг/л 24-ЭБ)	44	25,6	20,5
	4 (0,75 мг/л 24-ЭБ)	58	46,6	34,5

Примечание – Данные для сорта Патриот представлены как среднее арифметическое ± стандартная ошибка. ПЭ – первичные экспланты. ЭБ – 24-эпибрасинолид.

Таким образом, установлена закономерность проявления эффектов 24-эпибрассинолида в составе агаризованной питательной среды для инициации побегообразования у эксплантов сортовой голубики высокой *in vitro*. Выявленные эффекты имеют прикладное значение, поскольку за счет увеличения выхода жизнеспособных, активно регенерирующих, стерильных эксплантов существенно снижается расход дорогостоящих компонентов питательной агаризованной среды и, как следствие, снижается себестоимость размножаемого *in vitro* посадочного материала сортовой голубики высокой. Кроме того, сокращаются сроки введения (теоретически, любого) сорта голубики высокой в культуру *in vitro*.

Список использованных источников

1. Рупасова Ж.А. Голубика высокорослая: оценка адаптационного потенциала при интродукции в условиях Беларуси / Ж.А. Рупасова [и др.]. – Мн., 2007. – 442 с.
2. Сидорович Е.А. Клональное микроразмножение новых плодово-ягодных растений / Е.А. Сидорович, Е.Н. Кутас. – Мн., 1996. – 246 с.
3. Решетников В.Н. Некоторые аспекты микрклонального размножения голубики высокой и брусники обыкновенной / В.Н. Решетников [и др.] // Плодоводство. – 2007. – Т. 19. – С. 209–216.
4. Волотович А.А. Разработка и внедрение инновационной технологии ускоренного производства посадочного материала растений семейств *Vacciniaceae* и *Ericaceae* на базе УО «Полесский государственный университет» / А.А. Волотович, О.А. Кудряшова, И.Э. Бученков, В.Г. Лягуский, Ю.Н. Деркач // Материалы IV межд. Науч.-практ. Конференции «Устойчивое развитие экономики: состояние, проблемы, перспективы», Пинск, 20-22 мая 2010 г. – Пинск, 2010. – Ч. II. – С. 163–165.
5. 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.
6. Khripach V.A. Brassinosteroids. A new class of plant hormones / V.A. Khripach, V.N. Zhabinskii, A.E. Groot. – San Diego: Academic Press, 1999.