

**ЭФФЕКТЫ 24-ЭПИБРАССИНОЛИДА НА ИЗМЕНЧИВОСТЬ СОДЕРЖАНИЯ
ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИХ ПИГМЕНТОВ У СОРТОВОЙ ГОЛУБИКИ
ВЫСОКОРОСЛОЙ *EX VITRO* ПРИ РАЗНЫХ УСЛОВИЯХ ОСВЕЩЕНИЯ**

*И.О. Беда, М.А. Трейлиб, 5 курс; М.А. Мозгалева, 2 курс;
М.П. Водчиц, преподаватель-стажер, Т.М. Глытова, методист
Научный руководитель – О.А. Кудряшова, научный сотрудник
Научный консультант – А.А. Волотович, к.б.н., доцент
Полесский государственный университет*

Голубика высокорослая (*Vaccinium corymbosum* L.) – перспективный вид для промышленного культивирования в условиях Республики Беларусь, особенно в южной агроклиматической зоне страны [1].

Браassinостероиды (БС) – природные регуляторы роста растений, которые по химической природе являются производными оксистероидов с лактонной группой в кольце В [2]. БС используются в растениеводстве для повышения устойчивости растений к действию стрессовых факторов [2].

Светодиод (light emitting diode, или LED) – полупроводниковый прибор, преобразующий электрический ток непосредственно в световое излучение практически без потерь, в относительно узкой полосе спектра, ширина которой составляет 20-30 нм, и позволяет использовать светодиоды для формирования светильников со специальным составом спектра, активирующего физиологические и биопродукционные процессы у растений [3].

В наших исследованиях изучались эффекты разных концентраций 24-эпибрассинолида на изменчивость содержания хлорофиллов а и b, а также каротиноидов у сортовой голубики высокорослой в условиях *ex vitro* при освещении люминесцентными и оригинальными светодиодными лампами.

Исследования проводили на базе биотехнологической лаборатории НИЛ клеточных технологий в растениеводстве УО «Полесский государственный университет» в октябре–декабре 2013 года. В качестве объекта исследований использовали укорененные *in vitro* регенеранты сортов Харди-блю и Пуру голубики высокорослой *Vaccinium corymbosum* L., которые отмывали от остатков агаризованной, питательной среды и выдерживали в растворах 24-эпибрассинолида в течение 24 часов.

Для эксперимента отбирали внешне однотипные, укорененные *in vitro* регенеранты. Исследуемые концентрации 24-эпибрассинолида: 0,25; 0,75 мг/л (из расчета 0,25 мгк д.в., либо 0,75 мгк д.в. на 1 растение, с интервалом 7 дней). В качестве контроля при экспозиции использовали воду, предварительно очищенную от ионов хлора и железа. Количество укорененных регенерантов в каждом варианте опыта и в контроле составляло по 100 шт. Объем контейнера: 1,5 л. Объем раствора браassinостероидов (и контроля – воды) для экспозиции: 1,0 л. Затем укорененные регенеранты высаживали в торфяной субстрат, представляющий собой смесь верхового нераскисленного торфа и песка в соотношении 1:1, в контейнеры ($V=1,5$ л) из расчета 0,5 л торфяного грунта на контейнер, по 50 растений на каждый контейнер, в двукратной повторности. За регенерантами *ex vitro* осуществляли ежедневный уход – трехкратное в день полив/опрыскивание и двукратное в день проветривание на протяжении не более 1 часа. С интервалом 1 раз в неделю осуществляли обработку растений растворами 24-эпибрассинолида путем поверхностного распыления.

Содержание фотосинтетических пигментов хлорофилла а, b и каротиноидов в мг на г сырого веса определяли при помощи спектрофотометра Cary 50 (Varian, США) по стандартным методу выделения с использованием ацетона и расчетным формулам [4], в двукратной повторности. Учет анализируемых признаков – содержание хлорофиллов а, b и каротиноидов – у регенерантов проводили через 28 дней культивирования на стеллажах световой установки адаптационного помещения биотехнологической лаборатории при температуре $+24\pm 1^\circ\text{C}$, фотопериоде день/ночь – 16ч/8ч, относительной влажности воздуха 85%, освещенности 4000 лк: либо при помощи двух люминесцентных ламп OSRAM L36W/76 Natura, либо при помощи светодиодного светильника типа Икар производства Филиал «Завод Камертон» ОАО «Интеграл» (г. Пинск), при научном сопровождении сотрудников НИЛ КТР ПолесГУ в 2012 году. Светодиоды установлены на плате в определенном порядке и количественном соотношении 2:1:6, соответственно синему (450÷490 нм), зеленому (500÷520 нм) и красному (620÷660 нм) спектрам свечения.

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

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 [7].

Результаты исследований приведены в таблице.

Таблица – Изменчивость содержания фотосинтетических пигментов у регенерантов сортовой голубики высокорослой *ex vitro*

Тип освещения	Концентрация ЭБ, мг/л	Харди-блю			Пуру		
		Хл а, мг/г с/в	Хл b, мг/г с/в	КРН, мг/г с/в	Хл а, мг/г с/в	Хл b, мг/г с/в	КРН, мг/г с/в
ЛЮМ	0,00	0,70±0,01	0,30±0,00	0,19±0,01	1,06±0,01	0,91±0,00	0,08±0,01
	0,25	0,67±0,00**	0,31±0,00**	0,16±0,00**	1,13±0,01**	0,68±0,00**	0,19±0,01**
	0,75	0,99±0,00**	0,49±0,00**	0,21±0,00**	1,12±0,00**	0,61±0,00**	0,21±0,00**
СВД	0,00	2,94±0,01	3,04±0,01	0,04±0,01	1,94±0,01	0,85±0,01	0,55±0,01
	0,25	1,66±0,00**	0,89±0,00**	0,30±0,00**	2,09±0,00**	0,99±0,00**	0,49±0,00**
	0,75	1,33±0,00**	0,81±0,01**	0,19±0,01**	1,66±0,00**	0,74±0,00**	0,42±0,00**
НСР ₀₅		0,001	0,001	0,030	0,001	0,001	0,030
НСР ₀₁		0,002	0,003	0,050	0,002	0,003	0,050

Примечание – Данные представлены как среднее арифметическое ± стандартная ошибка средней; ** – значимо при $P<0,01$; полужирным шрифтом выделены значения, достоверно отличающиеся от значений в контроле; ЛЮМ – лампа люминесцентная OSRAM L 36W/76 Natura; СВД – лампа светодиодная; ЭБ – 24-эпибрасинолид; Хл а – хлорофилл а; Хл b – хлорофилл b; КРН – каротиноиды; НСР – наименьшая существенная разница

Анализ изменчивости содержания фотосинтетических пигментов установил существенные, высоко достоверные при $P<0,01$ различия между всеми вариантами опыта у обоих исследуемых сортов (таблица). При этом следует отметить тот факт, что под светодиодами в отсутствие 24-эпибрасинолида (ЭБ), по сравнению с аналогичными показателями под люминесцентными лампами (ЛЛ), наблюдалось существенное (максимально установленное) повышение содержания хлорофилла а в 1,8–4,2 раза, хлорофилла b (у сорта Харди-блю) в 10 раз, каротиноидов (у сорта Пуру) в 6,9 раза. Содержание хлорофилла b у сорта Пуру под светодиодами несколько уменьшалось (не более чем в 1,1 раза), а содержание каротиноидов у сорта Харди-блю под светодиодами уменьшалось в 4,8 раза (таблица).

Анализ изменчивости содержания хлорофилла а установил тенденцию увеличения в 1,1–1,4 раза, в зависимости от генотипа, с ростом концентрации ЭБ под ЛЛ. Под светодиодными лампами наблюдалась обратная закономерность уменьшения в 1,2–2,2 раза показателей содержания хлорофилла а с ростом концентрации ЭБ от 0,25–0,75 мг/л, хотя по сравнению с соответствующими показателями под ЛЛ содержание хлорофилла а оставалось, в зависимости от генотипа, в 1,5–2,5 раза выше (таблица).

По содержанию хлорофилла b у сорта Харди-блю с ростом концентрации ЭБ под ЛЛ наблюдалась тенденция увеличения показателей признака в 1,1–1,6 раза, а под светодиодами – уменьшения в 3,4–3,8 раза (таблица). У сорта Пуру под ЛЛ аналогичные показатели с ростом концентрации ЭБ уменьшались в 1,3–1,5 раза, а под светодиодами с ростом концентрации ЭБ до 0,25 мг/л возрастали в 1,2 раза, и при дальнейшем увеличении концентрации ЭБ до 0,75 мг/л – уменьшались в 1,1 раза по отношению к соответствующим показателям в контроле под светодиодами, хотя по отношению к показателям под ЛЛ, в присутствии ЭБ, содержание хлорофилла b оставалось в 1,1–2,9 раза выше.

Анализ изменчивости содержания каротиноидов под ЛЛ установил с ростом концентрации ЭБ тенденцию увеличения показателей признака в 1,1–2,6 раза, а под светодиодами у сорта Пуру, напротив, тенденцию уменьшения в 1,1–1,3 раза (таблица). У сорта Харди-блю под светодиодами с ростом концентрации ЭБ до 0,25 мг/л вначале наблюдалось существенное увеличение в 7,5 раза, а при дальнейшем повышении концентрации ЭБ до 0,75 мг/л показатели признака уменьшались, но по прежнему достоверно превышали контрольные показатели в 4,8 раза (таблица).

Авторы выражают благодарность заведующему лабораторией химии стероидов ИБОХ НАН Беларуси, член-корреспонденту НАН Беларуси, д.х.н., профессору В.А. Хрипачу за любезно предоставленный 24-эпибрасинолид.

Список использованных источников

1. Рупасова Ж.А. Голубика высокорослая: оценка адаптационного потенциала при интродукции в условиях Беларуси / Ж.А. Рупасова. – Мн.: Белорус. наука, 2007. – 442 с.
2. Khripach V.A. Brassinosteroids. A new class of plant hormones / V.A. Khripach, V.N. Zhabinskii, A.E. Groot – San Diego: Academic Press, 1999. – 450 p.
3. Юнович А.Э. Современное состояние и тенденции развития светодиодов и светодиодного освещения / А.Э. Юнович // Светотехника. – 2007. - № 6. – с.13–17.
4. Гавриленко В.Ф. Большой практикум по фотосинтезу / В.Ф. Гавриленко, Т.В. Жигалова. – М.: Академа, 2003. – 256 с.
5. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта / Б.А. Доспехов. – М., 1985. – 351 с.
6. Боровиков В.П. STATISTICA: Искусство анализа данных на компьютере / В.П. Боровиков. – СПб., 2001. – 650 с.
7. Аношенко Б.Ю. Программы анализа и оптимизации селекционного процесса растений / Б.Ю. Аношенко // Генетика. – М.: Наука, 1994. – Т.30. – Приложение. – С. 8–9.