

УДК 57.084.1:634.73:547-314

**СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЭФФЕКТОВ ФИТОГОРМОНАЛЬНЫХ СТЕРОИДОВ  
НА ИЗМЕНЧИВОСТЬ БИОПРОДУКЦИОННЫХ ПАРАМЕТРОВ  
СОРТОВОЙ ГОЛУБИКИ ВЫСОКОРОСЛОЙ *EX VITRO* ПРИ РАЗНЫХ  
УСЛОВИЯХ ОСВЕЩЕНИЯ**

*Е.Н. Кондратюк, М.С. Брезовская, 5 курс*

*Научный руководитель – О.А. Кудряшова, научный сотрудник*

*Научный консультант – А.А. Волотович, к.б.н., доцент*

*Полесский государственный университет*

Брассиностероиды (БС) - природные регуляторы роста растений, которые по химической природе являются производными окистероидов с лактонной группой в кольце В [1]. Внутриклеточный путь передачи сигнала и регуляция экспрессии генов начинается со связывания молекул БС с мембранным рецептором растительных клеток, представляющим собой BRI1-BAK1-киназный комплекс [2, 3]. Активированный рецептор запускает каскад реакций фосфорилирования, в ре-

зультате которого происходит ингибирование активности BIN2-киназы, с одной стороны, и накопление активных, находящихся в дефосфорилированном состоянии, факторов транскрипции BES1 и BZR1, с другой [4]. В ядре растительных клеток факторы транскрипции распознают нуклеотидные последовательности промоторной области генов-мишеней и после связывания с ними запускают экспрессию этих генов [2–5].

Брассиностероиды используются в растениеводстве для повышения устойчивости растений к действию стрессовых факторов [5]. В наших исследованиях изучались эффекты 24-эпи-, и 28-гомобрассинолида на изменчивость трех количественных параметров 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-эпи- и 28-гомобрассинолида в течение 24 часов. Для эксперимента отбирали внешне однотипные укорененные регенеранты. Исследуемые концентрации 24-эпи- и 28-гомобрассинолида: 0,25; 0,75 мг/л. 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 100 шт. Объем контейнера: 1,5 л. Объем раствора брассиностероидов (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. За регенерантами *ex vitro* осуществляли ежедневный уход – трехкратное в день полив/опрыскивание и двукратное в день проветривание на протяжении не более 1 часа.

Учет анализируемых признаков – высоты регенерантов, количества листьев и жизнеспособности регенерантов проводили до обработки растворами брассиностероидов путем поверхностного распыления (с интервалом 1 раз в неделю), через каждые 7–28 дней на протяжении 63 дней (9 недель) культивирования на стеллажах световой установки адаптационного помещения биотехнологической лаборатории при температуре +25°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). 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.

Схема эксперимента:

13. Контроль 1: обработка водой, освещение OSRAM L36W/76 Natura
14. Контроль 2: обработка водой, освещение светодиодной лампой Икар
15. Обработка раствором 24-эпибрассинолида (ЭБ) из расчета 0,25 мкг на 1 растение, освещение OSRAM L36W/76 Natura
16. Обработка раствором ЭБ из расчета 0,75 мкг на 1 растение, освещение OSRAM L36W/76 Natura
17. Обработка раствором ЭБ из расчета 0,25 мкг на 1 растение, освещение Икар
18. Обработка раствором ЭБ из расчета 0,75 мкг на 1 растение, освещение Икар
19. Обработка раствором 28-гомобрассинолида (ЭБ) из расчета 0,25 мкг на 1 растение, освещение OSRAM L36W/76 Natura
20. Обработка раствором ГБ из расчета 0,75 мкг на 1 растение, освещение OSRAM L36W/76 Natura
21. Обработка раствором ГБ из расчета 0,25 мкг на 1 растение, освещение Икар
22. Обработка раствором ГБ из расчета 0,75 мкг на 1 растение, освещение Икар

Общий математический анализ данных проводили по стандартным методам вариационной статистики [6], с использованием программы статистического анализа данных STATISTICA 6.0 [7]. 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 [8].

Результаты пятифакторного дисперсионного анализа установили высоко достоверное при  $P<0,01$  влияние всех пяти исследуемых факторов – типа освещения, генотипа, продолжительности

культивирования, типа brassinостероида и концентрации brassinостероидов на изменчивость высоты растений *ex vitro* с долей влияния факторов 1,5%, 0,2%, 72,0%, 2,0% и 7,4%, соответственно. Кроме того, сочетания факторов тип освещения x генотип, тип освещения x продолжительность культивирования, генотип x концентрация brassinостероидов, продолжительность культивирования x концентрация brassinостероидов, тип brassinостероида x концентрация brassinостероидов, генотип x тип brassinостероида x концентрация brassinостероидов, тип освещения x генотип x тип brassinостероида x концентрация brassinостероидов также оказывали достоверное (в большинстве случаев при  $P < 0,01$ ) влияние на изменчивость высоты растений с долями влияния 0,2–3,7%.

Удалось также установить достоверное (в большинстве случаев при  $P < 0,01$ ) влияние генотипа, продолжительности культивирования, концентрации brassinостероидов, а также сочетаний факторов тип освещения x продолжительность культивирования, генотип x продолжительность культивирования, концентрация brassinостероидов x продолжительность культивирования и генотип x концентрация brassinостероидов x продолжительность культивирования, на изменчивость жизнеспособности растений, с долями влияния 1,2–6,8 %.

Установлено также достоверное (в подавляющем большинстве случаев при  $P < 0,01$ ) влияние типа освещения, генотипа, продолжительности культивирования, концентрации brassinостероидов, а также сочетаний факторов тип освещения x продолжительность культивирования, генотип x продолжительность культивирования, тип освещения x концентрация brassinостероидов, тип освещения x генотип x концентрация brassinостероидов, тип освещения x продолжительность культивирования x концентрация brassinостероидов, генотип x тип brassinостероида x концентрация brassinостероидов на изменчивость количества листьев у растений, с долями влияния 0,9–36,6 %.

Авторы выражают благодарность заведующему лабораторией химии стероидов ИБОХ НАН Беларуси, член-корреспонденту НАН Беларуси, д.х.н., профессору В.А. Хрипачу за любезно предоставленные brassinостероиды – 24-эпибрассинолид и 28-гомоэпибрассинолид.

#### **Список используемых источников**

1. Hayat S. Brassinosteroids: A Class of Plant Hormone / S. Hayat, A. Ahmad. – Berlin: Springer-Verlag, 2010. – 462 p.
2. Hothorn M. Structural Basis of Steroid Hormone Perception by the Receptor Kinase BRI1 / Hothorn M., Belkhadir Y., Dreux M., Dabi T., Noel J.P., Wilson I.A., Chory J. // Nature. – 2011. – Vol. 474. – P. 467–471.
3. She J. Structural Insight into Brassinosteroid Perception by BRI1 / She J., Han Zh., Kim T., Wang J., Cheng W., Chang J., Shi Sh., Wang J., Yang M., Wang Zh., Chai J. // Nature. – 2011. – Vol. 474. – P. 472–476.
4. Hardtke Ch.S. Phytohormone Collaboration: Zooming in on Auxin-Brassinosteroid Interactions / Hardtke Ch.S., Dorcey E., Osmont K.S., Sibout R. // Trends Cell Biol. – 2007. – Vol. 17. – P. 485–492.
5. 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.
6. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта / Б.А. Доспехов. – М., 1985. – 351 с.
7. Боровиков В.П. STATISTICA: Искусство анализа данных на компьютере / В.П. Боровиков. – СПб., 2001. – 650 с.
8. Анощенко Б.Ю. Программы анализа и оптимизации селекционного процесса растений / Б.Ю. Анощенко // Генетика. – М.: Наука, 1994. – Т.30. – Приложение. – С. 8–9.