

**НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
ГОСУДАРСТВЕННОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
"ИНСТИТУТ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ БОТАНИКИ
ИМ. В.Ф. КУПРЕВИЧА НАЦИОНАЛЬНОЙ
АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ"**

На правах рукописи
УДК 57.085:634.73:547-314

КУДРЯШОВА
Оксана Александровна

**ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ДЕЙСТВИЯ
БРАССИНОСТЕРОИДОВ НА ПРОЦЕССЫ МИКРОКЛОНАЛЬНОГО
РАЗМНОЖЕНИЯ ГОЛУБИКИ ВЫСОКОРОСЛОЙ VACCINIUM
CORYMBOSUM L.**

Автореферат диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук
по специальности 03.01.05. – физиология и биохимия растений

Минск, 2015

Работа выполнена в Учреждении образования «Полесский государственный университет» и Государственном научном учреждении «Центральный ботанический сад Национальной академии наук Беларуси»

Научный руководитель: **Решетников Владимир Николаевич**
доктор биологических наук, профессор,
академик НАН Беларуси, заведующий отделом
биохимии и биотехнологии растений ГНУ
«Центральный ботанический сад НАН Беларуси»

Официальные оппоненты: **Ламан Николай Афанасьевич**
доктор биологических наук, профессор,
академик НАН Беларуси, заведующий лабораторией
роста и развития растений ГНУ «Институт экспериментальной ботаники имени В.Ф. Купревича
Национальной академии наук Беларуси»

Колбанова Елена Вячеславовна
кандидат биологических наук, заведующий лабораторией диагностики РУП «Институт плодородства»

Оппонирующая организация: Белорусский государственный университет

Защита состоится «12» сентября 2015 г. в 14⁰⁰ часов на заседании совета по защите диссертаций Д 01.38.01 при ГНУ «Институт экспериментальной ботаники им. В.Ф. Купревича НАН Беларуси» по адресу: 220072 г. Минск, ул. Академическая, 27. Тел./факс (+375 17) 284-18-53, e-mail: nan.botany@vandex.by

С диссертацией можно ознакомиться в Центральной научной библиотеке им. Я. Коласа НАН Беларуси

Автореферат разослан «20» сентября 2015 г.

Ученый секретарь
совета по защите диссертаций,
кандидат биологических наук



Сосновская Т.Ф.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Связь работы с научными программами (проектами), темами. Диссертационная работа соответствует заданию, сформулированному в подпункте 7.3 пункта 7 протокола поручений Президента Республики Беларусь А.Г. Лукашенко № 34 от 20 октября 2008 года, графику реализации научно-исследовательских тем по Программе “Биотехнология” (утверждена Постановлением Правления Национального Банка Республики Беларусь № 12 от 26.05.2008г. на 2008-2013гг.), выполнена в соответствии с Программой развития учреждения образования «Полесский государственный университет» на 2009-2015гг. (протокол № 4 заседания Совета университета от 23 декабря 2008 года, утверждена Постановлением Совета Директоров Национального Банка Республики Беларусь № 307 от 21.09.2009г.), и в рамках плановых научно-исследовательских тем учреждения образования «Полесский государственный университет» “Биотехнологические и агротехнические приемы возделывания сельскохозяйственных, лекарственных, декоративных и древесно-кустарниковых культур в условиях Белорусского Полесья” (решение Совета университета от 26.06.2008, протокол № 11; № ГР 20083411 от 19.12.2008) и “Биологическое разнообразие природной среды Белорусского Полесья и развитие биотехнологий” (решение Совета университета от 26.06.2008, протокол № 11). Результаты научных исследований по диссертационной работе вносят вклад в реализацию Государственной программы социально-экономического развития и комплексного использования природных ресурсов Припятского Полесья на 2010-2015гг., утвержденной Указом Президента Республики Беларусь № 161 от 29.03.2010г., и Государственной комплексной программы развития картофелеводства, овощеводства и плодоводства в 2011–2015гг., утвержденной Постановлением Совета Министров Республики Беларусь № 1926 от 31.12.2010г. Диссертация соответствует приоритетным направлениям научно-технической деятельности на 2011–2015 гг. (раздел 1, п. 32 Указа Президента Республики Беларусь от 22 июня 2010 г. № 378).

Цель и задачи исследования. Основная цель работы: обосновать способы повышения регенерационной активности растений голубики высокорослой в культуре *in vitro* и устойчивость микроклонов на этапе адаптации растений к условиям роста *ex vitro*, для разработки инновационного технологического регламента производства посадочного материала сортовой голубики высокорослой в промышленных объемах.

Для достижения поставленной цели были определены следующие задачи:

1. изучить эффекты применения 24-эпибрасинолида при асептическом введении, индукции побегообразования у регенерантов и их микроразмножения в культуре *in vitro*;

2. изучить эффекты применения фитогормональных стероидов (24-эпибрассинолида, эпикастастерона и их эфиров с 3-индолилуксусной кислотой) при укоренении регенерантов в условиях *in vitro*;
3. изучить эффекты применения 24-эпибрассинолида и 28-гомобрассинолида при адаптации укорененных регенерантов к условиям *ex vitro*;
4. осуществить сравнительный анализ экспериментальных данных для разработки технологического регламента производства посадочного материала голубики высокорослой в промышленных объемах, с использованием клеточных технологий.

Объектами исследований являлись:

- 28 сортов голубики высокорослой *Vaccinium corymbosum* L. (Патриот, Блюкроп, Блюджей, Конкорд, Торо, Река, Денис блю, Спартан, Эрлиблю, Бриггитта блю, Блюголд, Легаси, Джерси, Элизабет, Дюк, Нельсон, Пуру, Цукертраубе, Блюрей, Бонус, Ковилл, Герберт, Веймут, Кэролин блю, Харди блю, Шантеклер, Нуи, Блюэтта);
- 3 сорта от гибридизации *Vaccinium angustifolium* L. x *Vaccinium corymbosum* L. (Нортланд, Нортблю, Норткантри).

Предметом исследований являются модифицированные добавлением стероидных гормонов питательные среды, для оценки эффективности которых использовали следующие биопродукционные параметры (показатели) у растений *in vitro* и *ex vitro* – количество активно регенерирующих стерильных первичных эксплантов, высота регенерантов, длина третьего междоузлия, количество побегов у регенеранта, количество листьев у регенеранта, длина корней, сырой вес (масса) регенеранта, укореняемость регенерантов, жизнеспособность эксплантов и микрочеренков, коэффициенты размножения, содержание фотосинтетических пигментов (хлорофиллов а и b) и каротиноидов, содержание собственно антоцианов и лейкоантоцианов, сумма антоциановых пигментов, площадь листовой пластинки.

Научная новизна. Разработан новый способ введения и стабилизации сортовой голубики высокорослой *in vitro* с выходом стерильных, активно регенерирующих эксплантов более 50%. Впервые приведены результаты анализа изменчивости 18 биопродукционных параметров у 28 сортов *Vaccinium corymbosum* L. (*in vitro* и *ex vitro*) и 3 гибридов *Vaccinium angustifolium* L. x *Vaccinium corymbosum* L. (*in vitro*) при использовании фитогормональных стероидов. Впервые установлены эффекты аддитивности при сочетании 24-эпибрассинолида, изопентениладенина и 3-индолилуксусной кислоты, что позволяет существенно увеличивать содержание антоциановых пигментов в регенерантах голубики высокорослой и снижать расход дорогостоящих цитокининов в составе питательной среды *in vitro*. Впервые экспериментально обоснован новый параметр – коэффициент эффективности укоренения *in vitro* – для более точной оценки и сравнительного анализа эффектов

разных концентраций фитогормонов на жизнеспособность и укореняемость регенерантов.

Новизна результатов исследований подтверждается решением Национального центра интеллектуальной собственности Республики Беларусь о выдаче в 2014 году четырех патентов на изобретения по заявкам: №А20110076 от 20.01.2011 г., №А20110929 от 04.07.2011 г., №А20110930 от 04.07.2011 г., №А20111446 от 31.10.2011 г.

Положения, выносимые на защиту:

1. Модификация способа введения и стабилизации сортовой голубики высокорослой *in vitro* с выходом стерильных, активно регенерирующих эксплантов более 50%, заключающаяся в введении в состав питательной агаризованной среды Андерсона 0,50–0,75 мг/л 24-эпибрассинолида в сочетании с 1,00 мг/л зеатина, что повышает количество стерильных, активно регенерирующих эксплантов.
2. Эффекты аддитивности при сочетании 24-эпибрассинолида, изопентениладенина и 3-индолилуксусной кислоты, **впервые** установленные при анализе изменчивости количественных и качественных параметров у регенерантов *Vaccinium corymbosum* L. *in vitro*, позволяют при введении в состав питательной агаризованной среды 0,05–0,15 мг/л 24-эпибрассинолида, при том же эффекте, минимизировать в 2,0–2,5 раза расход 3-индолилуксусной кислоты и дорогостоящего изопентениладенина при микроразмножении *in vitro*.
3. Изменчивость количественных и качественных параметров у регенерантов сортовой голубики высокорослой при укоренении *in vitro* в присутствии фитогормональных стероидов и их эфиров с ауксинами, свидетельствует о целесообразности использования низких концентраций 0,1–0,5 мг/л индолилмасляной кислоты, как самостоятельно, так и в комбинации с индолилуксусной кислотой в такой же концентрации, для существенного повышения **нового** параметра – коэффициента эффективности укоренения, что позволяет уменьшить расход ауксинов на этапе укоренения *in vitro*.
4. Параметр “коэффициент эффективности укоренения”, введенный **впервые** как произведение жизнеспособности и укореняемости регенерантов, для более полной, точной оценки и сравнительного анализа эффектов различных комбинаций фитогормонов в разных концентрациях.

Личный вклад соискателя ученой степени. Разработка схем и постановка экспериментов, сбор и интерпретация основных результатов исследований (включая статистическую обработку экспериментальных данных), представленных в диссертационной работе, выполнены и получены лично автором на базе научно-исследовательской лаборатории клеточных технологий в растениеводстве Полесского государственного университета за период 2009–2013гг. Автор выражает благодарность кандидату биологических наук, доценту А.А. Волотовичу за консультационную поддержку, коллегам Т.В. Герасимович, В.А. Трейлиб, М.П. Вод-

чиц, Е.П. Глеб, Е.С. Гук, заведующему лабораторией химии стероидов ИБОХ НАН Беларуси доктору химических наук, профессору, академику НАН Беларуси В.А. Хрипачу, а также научному руководителю доктору биологических наук, профессору, академику НАН Беларуси В.Н. Решетникову за всестороннюю помощь при подготовке диссертации.

Апробация диссертации и информация об использовании ее результатов. Результаты работы представлены на IV международной научно-практической конференции “Устойчивое развитие экономики: состояние, проблемы, перспективы” (Пинск, 2010); на международной научно-практической конференции, посвященной 90-летию кафедры плодоовощеводства и 170-летию Белорусской государственной сельскохозяйственной академии (Горки, 2010); на V и VI международных молодежных научно-практических конференциях “Научный потенциал молодежи – будущему Беларуси” (Пинск, 2011 и 2012 годы, соответственно); на II международной молодежной научно-практической конференции “Научные стремления – 2011” (Минск, 2011); на VII Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы экологии» (Гродно, 2011); на международной научно-практической конференции “Global Nahrungsmittelsicherung – Schwarzerderegionen in der Verantwortung” (Бернбург, Германия, 2012); на международном научно-практическом семинаре “Промышленное голубиководство и технологии переработки ягодной продукции сортовой голубики высокорослой: опыт зарубежных компаний и перспективы бизнеса в Республике Беларусь” (Пинск, 2012); на международной научно-практической конференции “Клеточная биология и биотехнология растений” (Минск, 2013); на международном мероприятии “Ярмарка инновационных идей – 2013” (Минск, 2013). Заключен первый лицензионный договор с Государственным учреждением “Республиканский лесной селекционно-семеноводческий центр” (Лицензиатом) на предоставление учреждением образования “Полесский государственный университет” (Лицензиаром) права использования раскрытой информации о технологии “know-how”, которая является коммерческой тайной, в порядке, предусмотренном лицензионным договором, с обязательствами Лицензиата уплатить Лицензиару обусловленное лицензионным договором вознаграждение.

Опубликование результатов диссертации. Соискатель является автором и соавтором 53 научных публикаций. Основные результаты исследований по теме диссертации изложены в 27 научных публикациях, в том числе 16 статей в научных журналах и сборниках (при этом, 12 научных статей соответствуют пункту 18 Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий в Республике Беларусь), 1 технические условия, 6 материалов и 4 тезисов докладов международных научных конференций.. Общее количество страниц опубликованных материалов составляет 138. Общее количество печатных листов в статьях, опубликованных в изданиях Перечня ВАК, составляет 3,7.

В Национальном центре интеллектуальной собственности Республики Беларусь зарегистрированы четыре заявки о выдаче патентов на изобретения (№ А20110076 от 20.01.2011 г., № А20110929 от 04.07.2011 г., № А20110930 от 04.07.2011 г., № А20111446 от 31.10.2011 г.), по результатам патентной экспертизы, по всем заявкам в 2014 году принято решение о выдаче патентов на изобретения.

Разработаны и зарегистрированы в БелГИСС технические условия ТУ ВУ 290473286.002-2011. Имеются 3 акта внедрения в учебный процесс и 2 акта внедрения в производство.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 175 страницах машинописного текста и состоит из введения, общей характеристики работы, пяти глав, заключения, библиографического списка, представленного списком использованных источников, который включает 298 наименований (в том числе 189 иностранных), списком публикаций соискателя, который включает 27 наименований и приложений А–Ж. Экспериментальный материал представлен на 6 рисунках и в 34 таблицах.

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

Материал и методы исследования

Объектами исследований являлись 28 сортов голубики высокорослой *Vaccinium corymbosum* L., 3 сорта от гибридизации *Vaccinium angustifolium* L. x *Vaccinium corymbosum* L. Предметом исследований являлись модификации питательных сред, для оценки эффективности которых использовали 18 биопродукционных параметров (показателей) у растений (регенерантов) при выращивании *in vitro* и *ex vitro*. Способы асептического введения, индукции побегообразования и стабилизации, а также микроразмножения сортовой голубики высокорослой *in vitro* разрабатывались на питательных агаризованных средах WPM и Андерсона(AN) (Lambardi et al., 2013; Trigiano, Gray, 2000), различающихся по фитогормональному составу (использовали 4 фитогормона: изопентениладенин (ИПА), зеатин, эпибрассинолид (ЭБ), индолилуксусную кислоту(ИУК)). Для укоренения регенерантов сортовой голубики высокорослой *in vitro* в качестве основы использовали питательную агаризованную среду ½ WPM, дополненную фитогормонами (индолилмасляная кислота (ИМК) и ИУК, ЭБ, эпикастастерон(ЭК), эфиры 24-эпибрассинолида и эпикастастерона с индолилуксусной кислотой(ЭБ-ИУК и ЭК-ИУК)) в разных соотношениях и концентрациях. В диссертационной работе приведены результаты исследований, полученные по схемам 13 самостоятельных экспериментов, в том числе: асептическое введение и стабилизация *in vitro* – 2, микроразмножение *in vitro* – 4, укоренение *in vitro* – 6, адаптация *ex vitro* – 1.

Эксперименты проводились в 3–4 кратной повторности для каждого варианта опыта. Общее количество регенерантов голубики в каждом варианте опыта *in vitro* было не менее 120, в вариантах опыта *ex vitro* – не менее 100 растений для каждого варианта. Учет анализируемых показателей *in vitro* и *ex vitro* по всем схемам исследований проводили через 8 недель культивирования на стеллажах световой установки культурального помещения биотехнологической лаборатории при относительной влажности воздуха 70%, температуре $25 \pm 1^\circ\text{C}$, фотопериоде день/ночь – 16ч/8ч, при освещенности либо 6000 лк (при использовании *in vitro* и *ex vitro* люминесцентных ламп OSRAM L36W/76 Natura), либо 4000 лк (при использовании *in vitro* оригинальной установки освещения на основе светодиодов). Содержание хлорофиллов а, b и каротиноидов в мг на г сырого веса определяли спектрофотометрически (Гавриленко, 2003) на Cary-50. Содержание собственно антоцианов (Шнайндман, Афанасьева, 1965), лейкоантоцианов и суммы антоциановых пигментов (Swain, Hillis, 1959) определяли в мг% спектрофотометрическим методом.

Общий математический анализ данных проводили по стандартным методам вариационной статистики (Доспехов, 1985), с использованием программы статистического анализа данных STATISTICA 6.0 (Боровиков, 2001). Дисперсионный анализ данных и расчет доли влияния факторов на изменчивость исследуемых показателей проводили в программе статистического анализа АВ-Stat 1.1, разработанной в Институте генетики и цитологии НАН Беларуси (Аношенко, 1994).

Асептическое введение и индукция побегообразования у регенерантов сортовой голубики высокорослой в культуре *in vitro*

Первые эксперименты по асептическому введению сортовой голубики высокорослой *in vitro* проводили на питательной среде WPM с 15 мг/л ИПА и 4 мг/л ИУК. Было установлено существенное достоверное увеличение в 1,2–4,8 раза (в зависимости от сорта) количества стерильных, активно регенерирующих эксплантов (далее, САРЭ) в присутствии 0,5 мг/л ЭБ, по отношению к контролю (рисунок 1).

На эксплантах сорта Блюкроп было показано достоверное, с ростом концентрации ЭБ от 0,25 мг/л до 0,75 мг/л, прямо пропорциональное увеличение в 1,1–2,2 раза количества САРЭ, по отношению к контролю (рисунок 1). Сравнительный анализ эффективности питательных сред WPM с 15 мг/л ИПА, 4 мг/л ИУК и AN с 1 мг/л зеатина для асептического введения сортовой голубики высокорослой *in vitro* в присутствии 0,75 мг/л ЭБ, выявил увеличение в 1,8 раза количества САРЭ на среде AN с 1 мг/л зеатина (рисунок 1).

Остальные 23 сорта *Vaccinium corymbosum* L. и 2 сорта от гибридизации *Vaccinium angustifolium* L. x *Vaccinium corymbosum* L. вводились и стабилизировались в культуре *in vitro* только на среде AN с 1 мг/л зеатина и 0,75 мг/л ЭБ. Количество стерильных, активно регенерирующих эксплантов во всех случаях дости-

гало значений более 50%. Все без исключения новые побеги, взятые для пассажа у регенерантов, сохраняли высокую регенерационную активность.

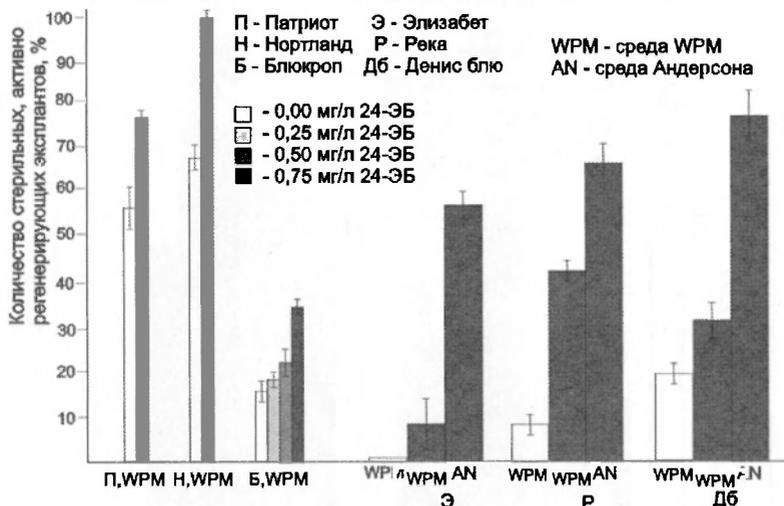


Рисунок 1 – Асептическое введение сортовой голубики высокорослой в культуру *in vitro* при использовании 24-эпибрасинолида (24-ЭБ) в разных концентрациях

Микроразмножение сортовой голубики высокорослой в культуре *in vitro*

Приведены результаты анализа изменчивости 11 основных биопродукционных параметров у регенерантов *in vitro* на питательных агаризованных средах WPM и AN, при использовании ЭБ. Показано существенное, достоверное увеличение значений коэффициента размножения (по микрочеренкам) KP_M в 2,4–4,6 раза в присутствии 0,05–0,75 мг/л ЭБ, по сравнению с безгормональным контролем в эксперименте I (рисунок 2, А). Наиболее высокие значения KP_M в экспериментах I и II наблюдались при сочетании 0,25 мг/л ЭБ, 7,25 мг/л ИПА и 1,00 мг/л ИУК ($KP_M=9,2$); 0,05 мг/л ЭБ, 2,00 мг/л ИПА и 0,50 мг/л ИУК ($KP_M=9,8$); 0,05 мг/л ЭБ, 2,00 мг/л ИПА и 1,00 мг/л ИУК ($KP_M=8,2$). Установлена возможность снижения расхода цитокинина ИПА в 2–3 раза при сочетании с низкими (0,05–0,15 мг/л) концентрациями ЭБ (рисунок 2, Б).

Установлена *in vitro* аддитивность ЭБ, ИПА и ИУК по показателям коэффициент размножения KP_M (рисунок 2), масса регенерантов (рисунок 3, А) и содержание антоциановых пигментов (рисунок 3, Б). Наиболее сильно эффект аддитивности был выражен в присутствии 0,15 мг/л ЭБ и 2,0 мг/л ИПА, а также 0,25 мг/л ЭБ и 7,5 мг/л ИПА.

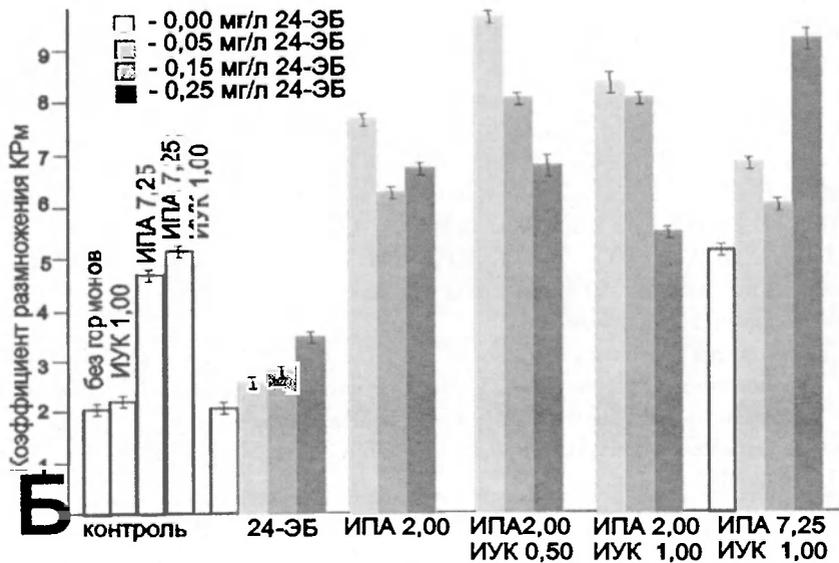
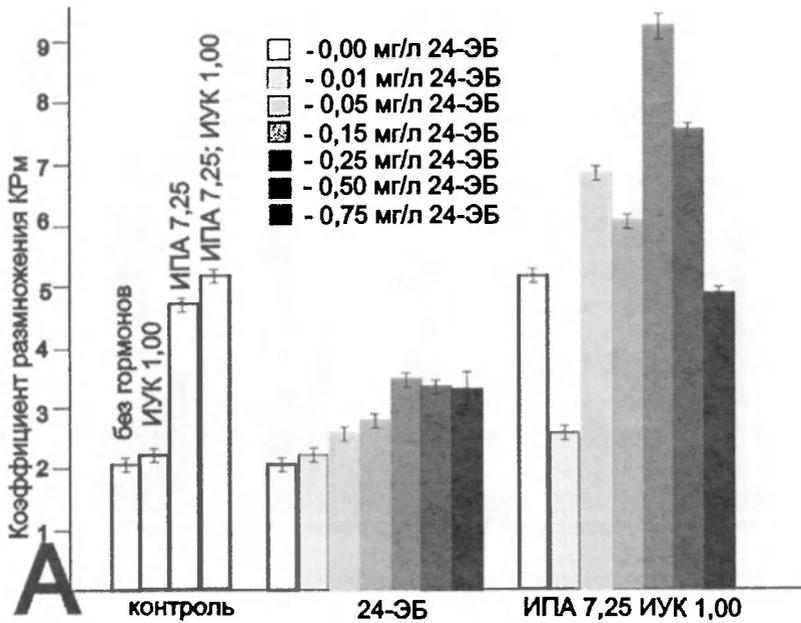


Рисунок 2 – Изменчивость коэффициента размножения КР_и у регенерантов сорта *Vredita blue in vivo* в присутствии 24-ЭБ на среде WPM в экспериментах I (А) и II (Б)

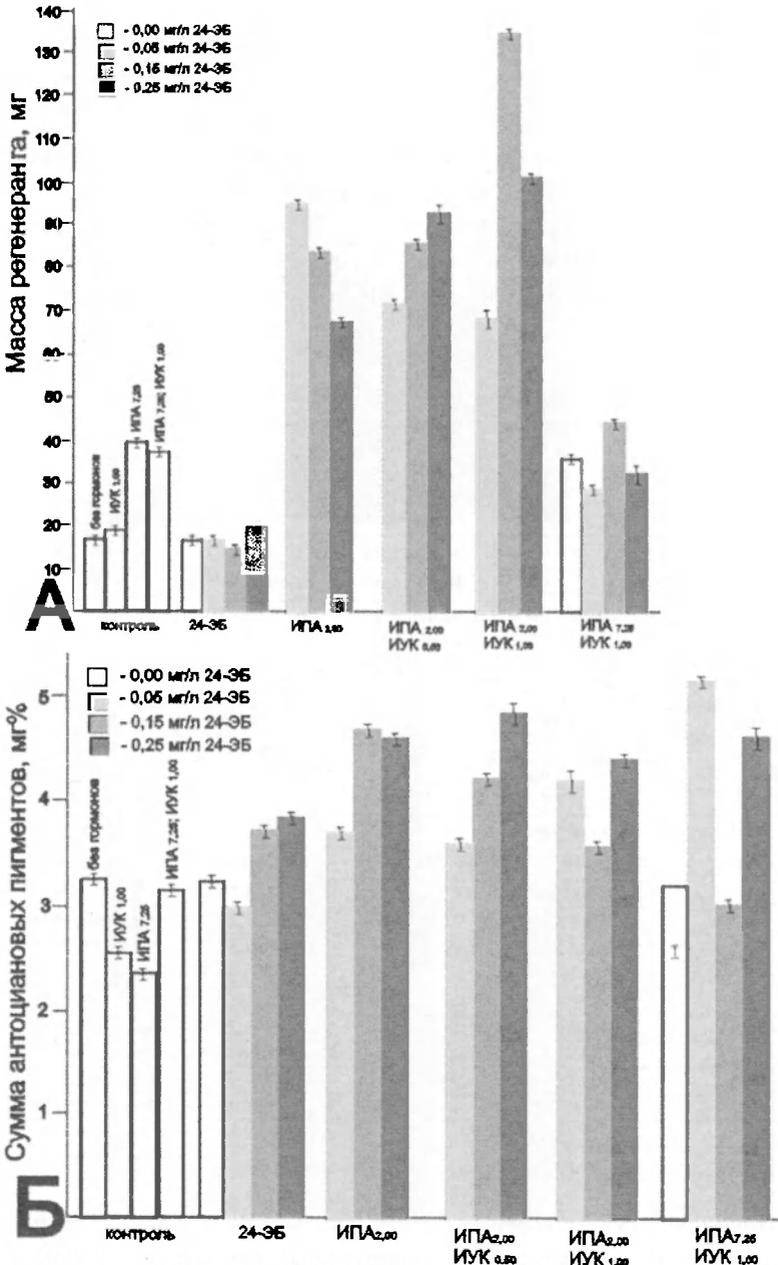


Рисунок 3 - Изменчивость показателей массы регенерантов (А) и содержания антоциановых пигментов (Б) у сорта Brigitta blue *in vitro* в присутствии 24-эпибрассинолида на среде WPM

Укоренение регенерантов сортовой голубики высокорослой *in vitro* и их адаптация к условиям *ex vitro*

Приведены результаты анализа изменчивости 9 основных биопродукционных параметров у регенерантов сортовой голубики высокорослой *in vitro* на питательной агаризованной среде $\frac{1}{2}$ WPM, разного гормонального состава, в том числе, при использовании ЭБ, ЭК и их эфиров с ИУК (таблица 1, рисунок 4). Приведены результаты анализа изменчивости 4 биопродукционных параметров у растений сортовой голубики высокорослой *ex vitro* в присутствии ЭБ и 28-гомобрассинолида (ГБ).

Таблица 1 – Изменчивость укореняемости и жизнеспособности регенерантов голубики высокорослой на средах разного гормонального состава

Вариант опыта	сорт Northland		сорт Patriot	
	УР, %	ЖР, %	УР, %	ЖР, %
WPM (контроль)	92,93±0,09	96,43±1,94	57,60±6,07	64,20±0,90
WPM + ИУК _{0,2} + ИМК _{0,2}	84,23±6,27	86,67±3,33	94,40±3,49**	73,33±5,07
WPM + ИУК _{0,5} + ИМК _{0,5}	96,40±1,99	94,47±3,99	62,27±7,89	71,10±9,10
WPM + ИУК _{1,0} + ИМК _{1,0}	90,07±1,37	90,00±1,91	82,20±5,51**	67,77±2,23
WPM + ИМК _{0,2}	78,83±2,91*	83,37±3,33*	76,73±8,43**	68,90±9,49
WPM + ИМК _{0,5}	56,20±3,35**	91,10±2,20	13,87±1,89**	74,47±9,09
WPM + ИМК _{1,0}	56,10±8,59**	82,23±7,79**	34,57±11,00**	36,67±11,46**
WPM + ИУК _{0,2}	90,30±5,78	57,77±12,38**	76,30±7,33**	74,43±5,57
WPM + ИУК _{0,5}	92,40±3,90	88,90±1,10	79,00±1,05**	80,00±5,09**
WPM + ИУК _{1,0}	92,03±2,77	87,77±5,53	60,30±2,42	95,57±2,94**
WPM + ЭК _{0,2} + ИУК _{0,2}	66,73±8,74**	97,73±1,13	46,93±4,40	84,43±5,57**
WPM + ЭК _{0,5} + ИУК _{0,5}	38,73±10,28**	79,77±3,24**	15,83±1,2**	70,00±1,91
WPM + ЭК _{1,0} + ИУК _{1,0}	42,73±11,64**	82,23±3,99**	35,73±3,22**	72,20±4,85
WPM + ЭБ _{0,2} + ИУК _{0,2}	29,93±8,22**	97,77±2,23	27,70±7,11**	94,43±2,94**
WPM + ЭБ _{0,5} + ИУК _{0,5}	16,30±4,73**	88,90±4,02	10,87±3,32**	90,00±1,91**
WPM + ЭБ _{1,0} + ИУК _{1,0}	29,30±7,78**	91,10±1,10	15,03±0,90**	81,10±4,85**
WPM + ЭБ-ИУК _{0,5}	84,37±3,12	92,20±1,10	58,80±4,45	94,43±1,13**
WPM + ЭБ-ИУК _{1,0}	34,63±8,95**	92,23±2,94	10,77±3,30**	81,10±2,20**
WPM + ЭК-ИУК _{0,2}	83,43±3,19	92,87±5,48	43,80±4,78*	67,77±9,68
WPM + ЭК-ИУК _{0,5}	76,70±1,74**	85,53±2,23*	32,67±9,93**	80,03±6,67**
WPM + ЭК-ИУК _{1,0}	68,87±0,24**	73,33±6,96**	24,93±5,45**	80,00±1,91**
НСР _{0,05}	12,21	10,45	12,21	10,45
НСР _{0,01}	16,12	13,80	16,12	13,80

Примечание. Показатели: УР – укореняемость и ЖР – жизнеспособность регенерантов, НСР_{0,05} и НСР_{0,01} – наименьшая существенная разница при P<0,05 и P<0,01 соответственно. Полужирным шрифтом выделены значения, достоверно отличающиеся от контрольных: * - при P<0,05 и ** - при P<0,01.

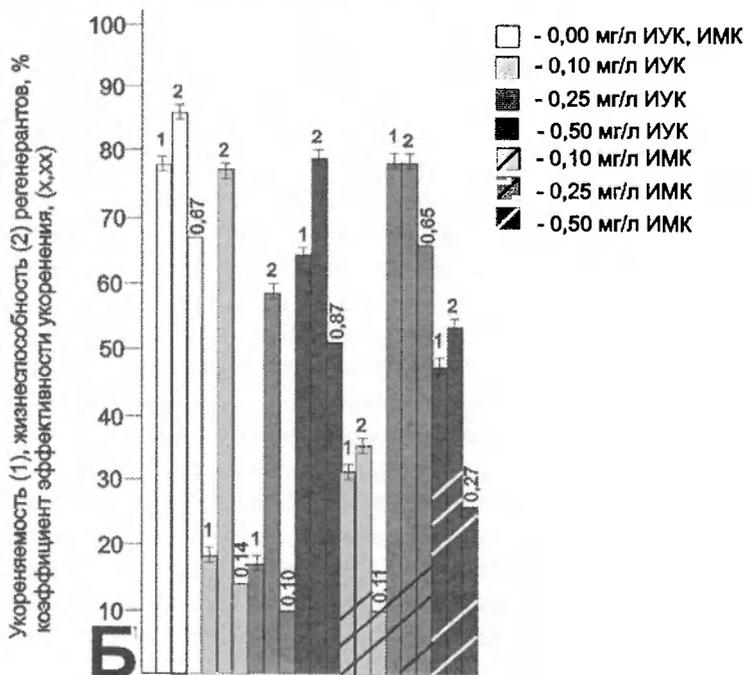
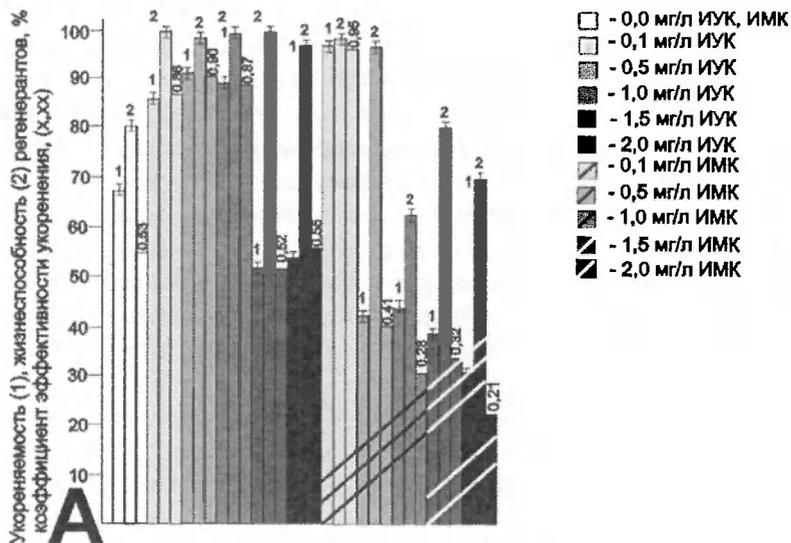


Рисунок 4 – Изменчивость укореняемости, жизнеспособности и коэффициента эффективности укоренения регенерантов у сортов Reka (А) и Bluecrop (Б) *in vitro* на средах разного гормонального состава

Для более точной оценки и сравнительного анализа эффектов разных концентраций ауксинов на получение жизнеспособных, укорененных регенерантов, нами **впервые** был введен дополнительный параметр – коэффициент эффективности укоренения регенерантов, определяемый как произведение показателей жизнеспособности и укореняемости регенерантов по каждому варианту опыта в отдельности. При этом брались беспроцентные значения каждого из показателей, как ЖРХУК/10000.

Установлены оптимальные гормональные составы агаризованной питательной среды $\frac{1}{2}$ WPM для укоренения регенерантов сортовой голубики высокорослой *in vitro* (таблица 1, рисунок 4).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основные научные результаты диссертации

1. Установлено, что культивирование первичных эксплантов сортовой голубики высокорослой на модифицированной среде Андерсона, содержащей 1,00 мг/л зеатина, 0,75 мг/л ЭБ, после предварительной стерилизации первичных эксплантов, позволяет получить, в среднем, 65,1% стерильных, активно регенерирующих микрочеренков, что в 1,8 раз выше соответствующего показателя на модифицированной среде WPM [4-A]. Для эффективного введения и стабилизации сортовой голубики высокорослой *in vitro* рекомендуется использовать высокие концентрации 0,50–0,75 мг/л ЭБ, в сочетании с модифицированной средой Андерсона указанного выше состава [1-A–4-A, 13-A, 14-A, 17-A–20-A, 22-A, 25-A, 27-A].
2. Анализ изменчивости семи количественных показателей у регенерантов сортовой голубики высокорослой, при культивировании на различающихся по гормональному составу питательных средах *in vitro* позволил выявить эффекты аддитивности ЭБ, ИПА и ИУК по параметрам: коэффициент размножения, масса регенерантов и содержание антоциановых пигментов [5-A, 8-A, 15-A, 16-A, 24-A]. Наиболее сильно эффект аддитивности был выражен в присутствии 0,15 мг/л ЭБ и 2,0 мг/л ИПА, при соотношении цитокинин:ауксин = 2:0, 2:1, 4:1. При повышении концентрации ИПА до 7,25 мг/л, эффект аддитивности проявляется в сочетании с более высокими концентрациями (0,25 мг/л) ЭБ [5-A, 8-A, 15-A].
3. Показано, что наиболее высокие коэффициенты размножения наблюдаются у регенерантов на средах, сочетающих 0,25 мг/л ЭБ, 7,25 мг/л ИПА и 1,00 мг/л ИУК, а также 0,05 мг/л ЭБ, 2,00 мг/л ИПА и 0,50 мг/л ИУК; что позволяет рекомендовать для размножения регенерантов сортовой голубики высокорослой *in vitro* в промышленных объемах использовать сочетания низких concentra-

- ций ИПА (2,0–2,5 мг/л) и ЭБ (0,05–0,15 мг/л) с целью минимизации затрат путем экономии дорогостоящего ИПА [5-А, 8-А, 15-А, 24-А].
4. Установлены концентрации и сочетание фитогормонов (на основе среды WPM) при микроразмножении сортовой голубики высокорослой *in vitro*, приводящие к достоверному увеличению значений следующих анализируемых показателей: в присутствии 0,01–0,75 мг/л ЭБ, в сочетании с 2,00–7,25 мг/л ИПА и 0,5–1,0 мг/л ИУК установлено достоверное (в подавляющем большинстве случаев, при $P < 0,01$), увеличение содержания в регенерантах собственно антоцианов в 1,72–3,01 раз, лейкоантоцианов – в 1,43–1,50 раз, суммы антоциановых пигментов – в 1,48–1,59 раз; и коэффициентов размножения в 2,4–6,0 раз [5-А, 8-А, 15-А]; в присутствии 0,15–0,75 мг/л ЭБ достоверное (при $P < 0,01$), прямо пропорциональное увеличение содержания в регенерантах лейкоантоцианов в 1,2–1,3 раза, суммы антоциановых пигментов – в 1,1–1,2 раза [5-А, 8-А, 15-А]; в присутствии 0,05–0,75 мг/л ЭБ достоверное (при $P < 0,01$), прямо пропорциональное увеличение высоты регенерантов в 1,3–1,5 раза [5-А, 8-А, 15-А]; в присутствии 0,05–0,25 мг/л ЭБ, в сочетании с 2,00 мг/л ИПА и 0,5–1,0 мг/л ИУК достоверное (при $P < 0,01$), увеличение сырого веса регенеранта в 4,3–8,4 раза [5-А, 8-А, 15-А].
 5. При укоренении (на основе $\frac{1}{2}$ WPM) сортовой голубики высокорослой *in vitro*, на безгормональной среде установлено достоверное (в подавляющем большинстве случаев при $P < 0,01$) повышение укореняемости регенерантов в 1,2–7,5 раза и длины корней – в 1,8–5,6 раза, по сравнению с питательными средами, содержащими 0,2–1,0 мг/л фитогормональных стероидов: эпикастастерона (ЭК), 24-эпибрасинолида (ЭБ) и их эфиров с 3-индолилуксусной кислотой [11-А, 12-А]. Несмотря на генотипическое проявление специфичности по отношению к жизнеспособности микрочеренков, выражающееся, например, у сорта 'Patriot' в достоверном при $P < 0,01$ увеличении показателей в 1,2–1,5 раза в присутствии исследуемых фитогормональных стероидов в указанных концентрациях, суммарный эффект (как произведение абсолютных показателей укореняемости и жизнеспособности регенерантов) был отрицательным, как по отношению к безгормональному контролю, так и по отношению к вариантам, содержащим только ауксины (ИУК, ИМК) в концентрациях 0,2–1,0 мг/л [11-А, 12-А].
 6. Выявлен оптимальный, гормональный состав агаризованной питательной среды для укоренения регенерантов сортовой голубики высокорослой *in vitro*, на основе применения низких концентраций ауксинов, в пределах: 0,1–0,5 мг/л ИМК, 0,1–1,0 мг/л ИУК для существенного и достоверного (в подавляющем большинстве случаев при $P < 0,01$) увеличения укореняемости регенерантов в 1,2–1,3 раза; жизнеспособности регенерантов – в 1,3–1,4 раза; и коэффициента эффективности укоренения регенерантов – в 1,6–1,8 раза [6-А, 7-А, 9-А, 10-А, 26-А].

Рекомендации по практическому использованию результатов

1. Разработан и предлагается для использования организациями-производителями посадочного материала модифицированный, эффективный способ введения сортовой голубики высокорослой *in vitro* с выходом стерильных, активно регенерирующих эксплантов более 50%, основанный на использовании в составе модифицированной питательной агаризованной среды Андерсона высоких 0,50–0,75 мг/л концентраций ЭБ, в сочетании с 1,00 мг/л зеатина [4-А].
2. Создана коллекция стабилизированных *in vitro* 28 сортов *Vaccinium corymbosum* L. и 3-х сортов от гибридизации *Vaccinium angustifolium* L. x *Vaccinium corymbosum* L., что является основой использования для микроразмножения под заказ посадочного материала сортовой голубики в промышленных объемах [17-А, 18-А, 22-А, 25-А], при мощности биотехнологической лаборатории НИЛ клеточных технологий в растениеводстве ПолесГУ: 1 миллион единиц прошедшего первичную адаптацию посадочного материала сортовой голубики высокорослой в год.
3. **Впервые** установленные эффекты аддитивности совместного действия ЭБ, ИПА и ИУК на изменчивость количественных и качественных параметров у регенерантов *Vaccinium corymbosum* L. *in vitro* позволяют организациям-производителям посадочного материала в присутствии низких 0,05–0,15 мг/л концентраций ЭБ минимизировать в 2,0–2,5 раза расход ИУК и дорогостоящего ИПА при микроразмножении *in vitro* [5-А, 8-А, 15-А, 24-А].
4. Для существенного повышения укореняемости и жизнеспособности регенерантов сортовой голубики высокорослой *in vitro*, а также **впервые** введенного нами нового параметра – коэффициента эффективности укоренения, рекомендуем организациям-производителям посадочного материала использование низких концентраций 0,1–0,5 мг/л ИМК в составе питательных сред, как самостоятельно, так и в комбинации с ИУК в такой же концентрации [6-А, 7-А, 10-А, 16-А, 26-А].
5. В Национальном центре интеллектуальной собственности Республики Беларусь зарегистрированы четыре заявки о выдаче патентов на изобретения (№ А20110076 от 20.01.2011 г. “Метод повышения выхода активно регенерирующих стерильных эксплантов сортовой голубики высокой *Vaccinium corymbosum* L. на этапе введения в культуру *in vitro* при использовании 24-эпибрассинолида”; № А20110929 от 04.07.2011 г. “Способ размножения регенерантов сортовой голубики высокой *Vaccinium corymbosum* L. *in vitro* на агаризованной, питательной среде с пониженным содержанием 6-(γ,γ-диметилаллил-амино)-пурина, при использовании 24-эпибрассинолида”; № А20110930 от 04.07.2011 г. “Способ повышения содержания антоциановых пигментов в регенерантах сортовой голубики высокой *Vaccinium corymbosum* L. *in vitro* при

использовании 24-эпибрасинолида”; № А20111446 от 31.10.2011 г. “Метод введения и стабилизации сортовой голубики высокой *Vaccinium corymbosum* L. в культуре *in vitro*”). В настоящее время по всем заявкам принято решение о выдаче патентов на изобретения и выданы 3 патента на изобретения. Рекомендуем организациям-производителям использовать запатентованную информацию при работе с голубикой и другими ягодными культурами.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ СОИСКАТЕЛЯ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ

Статьи в рецензируемых журналах Перечня ВАК

- 1-А. Кудряшова, О.А. Влияние гомобрасинолида на рост и развитие каллусной культуры *Nicotiana tabacum* L. / О.А. Кудряшова, А.А. Волотович, А.В. Зубарев // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2004. – №1. – С. 25–28.
- 2-А. Кудряшова, О.А. Регуляция каллусогенеза *Nicotiana tabacum* L. соединениями стероидной природы / О.А. Кудряшова, А.А. Волотович, А.В. Зубарев, В.Н. Решетников // Растительные ресурсы. – 2003. – Вып. 2. – С. 103–113.
- 3-А. Кудряшова, О.А. Ускорение роста и развития регенерантов *Vaccinium corymbosum* L. *in vitro* с использованием установки освещения на основе светодиодов / О.А. Кудряшова, А.А. Волотович, Т.В. Герасимович, А.А. Кудряшов, В.Л. Корнейчик // Весці НАН Беларусі. Сер. біял. навук. – 2011. – № 2. – С. 114–117.
- 4-А. Кудряшова, О.А. Метод стабільнага введення сортовай голубікі высокай *Vaccinium corymbosum* L. в культуру *in vitro* / О.А. Кудряшова, А.А. Волотович // Весці НАН Беларусі. Сер. біял. навук. – 2012. – № 2. – С. 40–43.
- 5-А. Kudryashova, O.A. Effects of 24-epibrassinolide on *in vitro* micropropagation of highbush blueberry / O.A. Kudryashova, A.A. Volotovitch, T.I. Vasilevskaya, N.P. Varavina, Zh.A. Rupasova, V.A. Khripach // Russian Journal of Plant Physiology. – 2012. – Vol. 59, № 4. – P.586–593.
- 6-А. Менделева, В.А. Анализ изменчивости количественных признаков сорта ‘Река’ голубики высокой *Vaccinium corymbosum* L. при укоренении *in vitro* / В.А. Менделева, Д.А. Вордوماцкая, О.А. Кудряшова, А.А. Волотович // Веснік Палескага дзяржаўнага ўніверсітэта. Серыя прыродазнаўчых навук. – 2013. – № 1. – С.18–23.
- 7-А. Вордوماцкая, Д.А. Анализ изменчивости количественных признаков сорта ‘Блюкроп’ голубики высокорослой *Vaccinium corymbosum* L. *in vitro* / Д.А. Вордوماцкая, В.А. Менделева, О.А. Кудряшова, А.А. Волотович // Веснік Палескага дзяржаўнага ўніверсітэта. Серыя прыродазнаўчых навук. – 2013. – № 1. – С.24–30.
- 8-А. Кудряшова, О.А. Эффекты 24-эпибрасинолида при микроразмножении *in vitro* голубики высокой / О.А. Кудряшова, А.А. Волотович, В.А. Хрипач,

- Т.И. Василевская, Н.П. Варавина, Ж.А. Рупасова // Физиология растений. – 2012. – Т. 59, № 4. – С. 632–640.
- 9-А. Кудряшова, О.А. Сортоспецифичность изменчивости биопродукционных параметров у регенерантов *Vaccinium corymbosum* L. *in vitro* на средах разного гормонального состава / О.А. Кудряшова, А.А. Волотович, Е.В. Сахвон, О.А. Ермак // Вестник БГУ. Сер. 2. – 2013. – № 2. – С. 24–29.
- 10-А. Кудряшова, О.А. Анализ изменчивости количественных признаков у регенерантов *Vaccinium corymbosum* L. *in vitro* в присутствии ауксинов / О.А. Кудряшова, А.А. Волотович, Т.В. Герасимович, Т.А. Архипенко, М.П. Водчиц, Е.В. Сахвон // Весці НАН Беларусі. Сер. біял. навук. – 2013. – № 3. – С. 28–35.
- 11-А. Кудряшова, О.А. Изменчивость количественных признаков у регенерантов *Vaccinium corymbosum in vitro* под влиянием регуляторов индолилмасляной кислоты и фитостероидов / Кудряшова О.А., Волотович А.А., Гук Е.С., Минин П.С., Литвиновская Р.П., Хрипач В.А. // Весці НАН Беларусі. Сер. біял. навук. – 2014. – № 3. – С. 23–30.
- 12-А. Кудряшова, О.А. Изменчивость морфологических признаков у регенерантов *Vaccinium corymbosum in vitro* при воздействии фитостероидов / Кудряшова О.А., Волотович А.А., Глеб Е.П., Сахвон Е.В., Минин П.С., Литвиновская Р.П., Хрипач В.А. // Весці НАН Беларусі. Сер. біял. навук. – 2014. – № 2. – С. 36–44.

Статьи в нецензурируемых журналах и сборниках научных трудов

- 13-А. Кудряшова, О.А. Сравнительный анализ изменчивости высоты и коэффициента размножения регенерантов *Vaccinium corymbosum* L. *in vitro* при разных условиях освещения / О.А. Кудряшова, Т.В. Герасимович, А.А. Волотович, Т.А. Сеньковец // Веснік Палескага дзяржаўнага ўніверсітэта. Серыя прыродазнаучых навук. – 2010. – № 2. – С. 27–32.
- 14-А. Глеб, Е.П. Эффекты 24-эпибрассинолида на этапе введения сортовой голубики высокой *Vaccinium corymbosum* L. в культуру *in vitro* / Е.П. Глеб, Е.С. Гук, О.А. Кудряшова, А.А. Волотович // Вестник Полесского государственного университета. Серия природоведческих наук. – 2012., № 2. – С. 10–13.
- 15-А. Кудряшова, О.А. Анализ изменчивости биопродукционных параметров у регенерантов *Vaccinium corymbosum* L. *in vitro* в присутствии 24-эпибрассинолида / О.А. Кудряшова, А.А. Волотович // Сборник научных статей УО «Полесский государственный университет». – Пинск, 2012. – С. 90–95.
- 16-А. Кудряшова, О.А. Изменчивость количественных признаков у регенерантов *Vaccinium corymbosum* L. *in vitro* на средах разного гормонального состава / О.А. Кудряшова, Л.С. Цвирко, А.А. Волотович // Веснік Палескага

дзяржаўнага ўніверсітэта. Серыя прыродазнаучых навук. – 2011., № 2. – С. 13–17.

Материалы научных конференций

- 17-А. 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.
- 18-А. Глеб, Е.П. Усиление регенерационной активности голубики высокой *Vaccinium corymbosum* L. *in vitro* в присутствии 24-эпибрасинолида / Е.П. Глеб, Е.С. Гук, И.О. Беда, **О.А. Кудряшова**, А.А. Волотович // Материалы V международной молодежной науч.-практ. конференции «Научный потенциал молодежи – будущему Беларуси». – Пинск, 2011. – Ч. III. – С. 227–229.
- 19-А. Водчиц, М.П. Ускорение регенерации голубики высокой *Vaccinium corymbosum* L. *in vitro* с использованием опытного образца нового светодиодного светильника / М.П. Водчиц, И.О. Беда, М.А. Власовец, **О.А. Кудряшова**, А.А. Волотович // Материалы V международной молодежной науч.-практ. конференции «Научный потенциал молодежи – будущему Беларуси». – Пинск, 2011. – Ч. III. – С. 225–227.
- 20-А. Махнюк, Е.Н., Анализ изменчивости биопродукционных параметров у некоторых интродуцированных сортов *Vaccinium corymbosum* L. на отдельных этапах клонального микроразмножения *in vitro* / Е.Н. Махнюк, **О.А. Кудряшова**, А.А. Волотович, В.С. Слышенко // Материалы VII Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы экологии», Гродно, 26-28 октября 2011 г. – 2011. – С. 40–42.
- 21-А. Беда, И.О. Эффекты брасиностероидов на этапе адаптации *Vaccinium corymbosum* L. *ex vitro* / И.О. Беда, М.А. Власовец, **О.А. Кудряшова**, А.А. Волотович // Материалы VI международной молодежной науч.-практ. конференции «Научный потенциал молодежи – будущему Беларуси». – Пинск, 2012. – С. 92–94.
- 22-А. Глеб, Е.П. Сравнительный анализ эффективности методов введения и стабилизации *Vaccinium corymbosum* L. *in vitro* / Е.П. Глеб, Е.С. Гук, **О.А. Кудряшова**, А.А. Волотович // Материалы VI международной молодежной науч.-практ. конференции «Научный потенциал молодежи – будущему Беларуси». – Пинск, 2012. – С. 95–97.

Тезисы докладов научных конференций и краткие сообщения

- 23-А. Волотович, А.А. Влияние 24-эпибрассинолида на продуктивность подсолнечника *Helianthus annuus* L. / А.А. Волотович, **О.А. Кудряшова**, Н.Б. Хрипач // Химия, структура и функция биомолекул: сб. тезисов II межд. конф. – Минск, 2006. – С. 18.
- 24-А. **Kudryashova, O.A.** 24-Epibrassinolide Enhances Micropropagation of Highbush Blueberry / **O.A. Kudryashova**, A.A. Volotovich // Agricell Report. – 2012. – Vol. 59, № 3. – P. 21.
- 25-А. **Кудряшова, О.А.** Результаты учебно-научно-производственной деятельности НИЛ клеточных технологий в растениеводстве УО “Полесский государственный университет” за период 2009-2012гг. как модель развития биотехнологии на базе высшего учебного заведения / **О.А. Кудряшова**, А.А. Волотович // Сборник тезисов Международной научно-практической конференции “Клеточная биология и биотехнология растений”, 13-15 февраля 2013 г. – С. 244.
- 26-А. Менделева, В.А. Анализ изменчивости количественных признаков у регенерантов сорта ‘Река’ голубики высокой *Vaccinium corymbosum* L. in vitro / В.А. Менделева, Д.А. Вордомацкая, **О.А. Кудряшова**, Е.В. Сахвон, Т.В. Герасимович, А.А. Волотович // Сборник тезисов Международной научно-практической конференции “Клеточная биология и биотехнология растений”, 13-15 февраля 2013 г. – С. 215.

Технические условия

- 27-А. ТУ ВУ 290473286.002-2011. Микросаженцы сортовой голубики высокой. Технические условия / А.А. Волотович, **О.А. Кудряшова** // ТУ ВУ 290473286.002-2011. Технические условия. 8 с.

РЭЗЮМЭ

Кудрашова Аксана Аляксандраўна

Фізіелага-біяхімічныя асаблівасці дзеяння брасінастэроідаў на працэсы мікракланальнага размнажэння галубікі высакарослай *Vaccinium corymbosum* L.

Ключавыя словы: 24-эпібрасіналід, эпікастэрон, 28-гомабрасіналід, фітагарманальныя стэроіды, гатунковая галубіка высакарослая, *Vaccinium corymbosum* L., *Vaccinium angustifolium* L. x *Vaccinium corymbosum* L., асептычныя ўводзіны ў культуру *in vitro*, мікраразмнажэнне і ўкараненне *in vitro*, біяпрадукцыйныя параметры.

Мэта працы. Дысертацыйная праца прысвечана абгрунтаванню спосабаў павышэння рэгенерцыйнай актыўнасці раслін галубікі высакарослай ў культуры *in vitro* і ўстойлівасці мікраклонаў на этапе адаптацыі раслін да ўмоў *ex vitro* для распрацоўкі інавацыйнага тэхналагічнага рэгламенту вытворчасці пасадкавага матэрыяла гатунковай галубікі высакарослай у прамысловых аб'ёмах.

Метады даследавання. Мікраразмнажэнне *in vitro*, спектрафотаметрычны аналіз. Агульны матэматычны аналіз дадзеных праводзіўся па стандартных метадах варыяцыйнай статыстыкі, з выкарыстаннем праграм AB-Stat і STATISTICA 6.0

Атрыманя вынікі і іх навізна. Распрацаваны новы спосаб увядзення і стабілізацыі гатунковай галубікі высакарослай *in vitro* з выхадам стэрыльных, актыўна рэгенеруючых эксплантаў больш за 50%, заснаваны на выкарыстанні ў складзе мадыфікаванага сілкуючага агарызаванага асяродку Андарсана высокіх 0,50-0,75 мг/л канцэнтрацый 24-эпібрасіналіду, у спалучэнні з 1,00 мг/л зеатыну. Прыведзены вынікі аналізу зменлівасці 18 біяпрадукцыйных параметраў у 28 сортах *Vaccinium corymbosum* L. (*in vitro* і *ex vitro*), 3 гібрыдах *Vaccinium angustifolium* L. x *Vaccinium corymbosum* L. (*in vitro* і *ex vitro*) пры выкарыстанні фітагарманальных стэроідаў. Упершыню вызначаны эфекты адытыўнасці пры спалучэнні 24-эпібрасіналіда, ізапентыладэніна і 3-індалілвоцатнай кіслаты, што дазваляе істотна зніжаць выдатак шматкаштучных цытакінінаў у складзе сілкуючага асяродку *in vitro*. Уведзены і эксперыментальна абгрунтаваны новы параметр – каэфіцыент эфектыўнасці ўкаранення *in vitro*.

Ступень выкарыстання. У Нацыянальным цэнтры інтэлектуальнай уласнасці Рэспублікі Беларусь зарэгістраваны чатыры заяўкі на выдачу патэнтаў на вынаходніцтва, па ўсіх заяўках прынята рашэнне аб выдачы патэнтаў. Распрацаваны тэхналагічны рэгламент вытворчасці пасадкавага матэрыяла гатунковай галубікі высакарослай, заключана ліцэнзійная дамова на падаванне ДУ “РЛССІР” права выкарыстання расчыненай інфармацыі пра тэхналогію “know-how”, што з’яўляецца камерцыйнай таямніцай. Маюцца 3 акты ўкаранення ў навучальны працэс і 2 акты ўкаранення ў вытворчасць. Распрацаваны і зарэгістраваны ў БелДІСС тэхнічныя умовы ТУ ВУ 290473286.002-2011.

Вобласць ужывання – біятэхналогія, фізіялогія і біяхімія раслін, фармацэўтычная вытворчасць, сельская гаспадарка.

РЕЗЮМЕ

Кудряшова Оксана Александровна
Физиолого-биохимические особенности действия брассиностероидов
на процессы микроклонального размножения голубики высокорослой
***Vaccinium corymbosum* L.**

Ключевые слова: 24-эпибрассинолид, эпикастастерон, 28-гомобрассинолид, фитогормональные стероиды, сортовая голубика высокорослая, *Vaccinium corymbosum* L., *Vaccinium angustifolium* L. x *Vaccinium corymbosum* L., асептическое введение в культуру *in vitro*, микроразмножение и укоренение *in vitro*, биопродукционные параметры.

Цель работы. Диссертационная работа посвящена обоснованию способов повышения регенерационной активности растений голубики высокорослой в культуре *in vitro* и устойчивости микроклонов на этапе адаптации растений к условиям *ex vitro* для разработки инновационного технологического регламента производства посадочного материала сортовой голубики высокорослой в промышленных объемах.

Методы исследования. Микроразмножение *in vitro*, спектрофотометрический анализ. Общий математический анализ данных проводили по стандартным методам вариационной статистики, с использованием программ AB-Stat 1.1 и STATISTICA 6.0

Полученные результаты и их новизна. Разработан новый способ введения и стабилизации сортовой голубики высокорослой *in vitro* с выходом стерильных, активно регенерирующих эксплантов более 50%, основанный на использовании в составе модифицированной питательной агаризованной среды Андерсона высоких 0,50–0,75 мг/л концентраций 24-эпибрассинолида, в сочетании с 1,00 мг/л зеатина. Приведены результаты анализа изменчивости 18 биопродукционных параметров у 28 сортов *Vaccinium corymbosum* L. (*in vitro* и *ex vitro*), 3 гибридов *Vaccinium angustifolium* L. x *Vaccinium corymbosum* L. (*in vitro* и *ex vitro*) при использовании фитогормональных стероидов. Впервые установлены эффекты аддитивности при сочетании 24-эпибрассинолида, изопентениладенина и 3-индолилуксусной кислоты, что позволяет существенно снижать расход дорогостоящих цитокининов в составе питательной среды *in vitro*. Введен и экспериментально обоснован новый параметр – коэффициент эффективности укоренения *in vitro*.

Степень использования. В Национальном центре интеллектуальной собственности Республики Беларусь зарегистрированы четыре заявки о выдаче патентов на изобретения, по всем заявкам принято решение о выдаче патентов. Разработан технологический регламент производства посадочного материала сортовой голубики высокорослой, заключен лицензионный договор на предоставление ГУ “РЛССЦ” права использования раскрытой информации о технологии “know-how”, которая является коммерческой тайной. Имеются 3 акта внедрения в учебный процесс и 2 акта внедрения в производство. Разработаны и зарегистрированы в БелГИСС технические условия ТУ ВУ 290473286.002-2011.

Область применения – биотехнология, физиология и биохимия растений, фармацевтическое производство, сельское хозяйство.

SUMMARY

Kudryashova Aksana Alyaksandrauna

Physiological and biochemical features of brassinosteroids action on processes of microclonal propagation of high-bush blueberry *Vaccinium corymbosum* L.

Key words: 24-epibrassinolid, epikastasteron, 28-homobrassinolid, phytohormonal steroids, high-bush blueberry, *Vaccinium corymbosum* L., *Vaccinium angustifolium* L. x *Vaccinium corymbosum* L., aseptic introduction *in vitro* culture, micropropagation and *in vitro* rooting, bioproductional parameters.

Aim of work. Dissertation work is devoted to definition of ways of increase of regeneration activity of high-bush blueberry plants *in vitro* culture, and also at a stage of adaptation of plants to *ex vitro* conditions, for development of innovative technological schedules of production of a high-bush blueberry landing material in industrial volumes.

Research methods. Clonal micropropagation *in vitro*, spectrophotometric analysis. Mathematical analysis of data were realized by the methods (and formulas) of classic genetics with the use of AB-Stat 1.1 and STATISTICA 6.0 programs.

Obtained results and their novelty. The new way of introduction and stabilization of high-bush blueberry *in vitro* with an exit of sterile, actively regenerating explants more than 50%, based on usage of 0.50–0.75 mg per liter 24-epibrassinolid as a part of the modified nutrient agarized of Anderson medium, in combination with 1.00 mg per liter of zeatin is developed. Results of the analysis of variability of 18 bioproductional parameters at 28 cultivars of *Vaccinium corymbosum* L. (*in vitro* and *ex vitro*), 3 hybrids of *Vaccinium angustifolium* L. x *Vaccinium corymbosum* L. (*in vitro* and *ex vitro*) when using phytohormonal steroids are given. Effects of additivity are for the first time established at a combination 24-epibrassinolid, IPA and 3-IAA that allows to cut significantly an expense of cytokinins as a part of *in vitro* nutrient medium. New parameter – effectiveness ratio of rooting of *in vitro* – is entered and experimentally founded.

Degree of application. In the National Center of Intellectual Property of Republic of Belarus four demands about issue of patents for inventions are registered, according to all of them demands the decision on issue of patents is now made. The technological schedules of production of a high-bush blueberry landing material in industrial volumes are developed. The license contract for granting of the right of usage of opened information on the know-how technology which is a trade secret is signed with State Breeding Center of Republic Of Belarus. There are 3 acts of introduction in educational process and 2 acts of introduction in production. Specifications BY 290473286.002-2011 are developed and registered.

Area of application – biotechnology, physiology and biochemistry of plants, pharmaceutical production, agriculture.

