

АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ 24-ЭПИБРАССИНОЛИДА НА ИЗМЕНЧИВОСТЬ БИОПРОДУКЦИОННЫХ ПАРАМЕТРОВ У РЕГЕНЕРАНТОВ СОРТА BLUECROP ГОЛУБИКИ ВЫСОКОРОСЛОЙ *VACCINIUM CORYMBOSUM* L. *IN VITRO*

*Г.И. Войтович, 9 класс
Гимназия № 5 г. Минска*

*А.Д. Скакун, М.В. Страдомский, Е.В. Щербач, Ю.В. Елизарова, 3 курс
Научный руководитель – А.А. Волотович, к.б.н., доцент
Полесский государственный университет*

Брассиностероиды (стероидные гормоны растений, БС) являются перспективной группой природных регуляторов роста растений [1]. По химической природе – это производные оксистероидов с лактонной группой в кольце В.

БС стимулируют различные физиологические процессы в растительных клетках, включающие изменение мембранного потенциала, фотосинтетической и ферментативной активности, баланса фитогормонов. В действии БС на рост и развитие растений отмечены также эффекты синергизма с другими фитогормонами, в частности, с ауксинами. Регуляция роста и дифференцировки растительных клеток, опосредованная БС, приводит к усилению реакции геотропизма, удлинению стебля, ускорению развития листа и роста пыльцевой трубки, дифференциации ксилемы, повышению жизнеспособности пыльцы, задержке старения листьев и повышению устойчивости растений к стрессам [2].

В настоящее время данные по применению БС при микроразмножении сортовой голубики высокорослой в условиях *in vitro* крайне ограничены. Успешная, пионерская работа в данном направлении осуществлена на базе научно-исследовательской лаборатории клеточных технологий в растениеводстве биотехнологического факультета учреждения образования “Полесский государственный университет” [3].

В частности, для выяснения влияния 24-эпибрассинолида (ЭБ) на эффективность регенерации *in vitro* голубики высокорослой (*Vaccinium corymbosum* L.) сорта Brigitta blue проанализировали изменчивость семи биопродукционных параметров у регенерантов при культивировании на различающихся по гормональному составу питательных средах. Установлены эффекты аддитивности ЭБ, цитокинина (2iP) и ауксина (ИУК) по параметрам: коэффициент размножения, масса регенерантов и содержание антоциановых пигментов. Наиболее высокие коэффициенты размножения отмечены у регенерантов на средах с 0.25 мг/л ЭБ, 7.25 мг/л 2iP, 1.00 мг/л ИУК и 0.05 мг/л ЭБ, 2.00 мг/л 2iP, 0.50 мг/л ИУК. Для размножения регенерантов сортовой голубики высокой *in vitro* в промышленных масштабах предлагается использовать сочетания низких концентраций 2iP и ЭБ [3].

В настоящей работе, которая приведена ниже, впервые представлены результаты анализа биопродукционных параметров у стерильных, размножаемых *in vitro* регенерантов голубики высокорослой сорта Bluecrop на различающихся по гормональному составу питательных средах, в частности, по присутствию разных концентраций 24-эпибрассинолида.

Исследования проводили на базе биотехнологической лаборатории НИЛ клеточных технологий в растениеводстве УО «Полесский государственный университет» в марте–июне 2014 года.

В качестве объекта исследований использовали размножаемые *in vitro* регенеранты (экспланты) сорта Bluecrop голубики высокорослой *V. corymbosum* L. Общее количество анализируемых регенерантов для каждого варианта опыта и контроля составило не менее 120 шт. (четыре стеклянных емкости, по 30 регенерантов в каждой). Регенеранты получали в результате культивирования эксплантов (состоящих из двух ме-тамеров) 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 Андерсона [4], содержащей 24-эпибрассинолид, в соответствии с приведенными ниже вариантами опыта: контроль – без фитогормонов; 0,01 мг/л 24-эпибрассинолида (ЭБ); 0,1 мг/л ЭБ; 0,3 мг/л ЭБ; 0,5 мг/л ЭБ; 0,7 мг/л ЭБ; 0,9 мг/л ЭБ; 1,0 мг/л ЭБ; 3,0 мг/л ЭБ; 5,0 мг/л ЭБ; 10,0 мг/л ЭБ.

Учет анализируемых признаков – количество побегов, количество эксплантов, высота регенеранта, сырой вес регенеранта, процент регенерации – проводили через 8 недель культивирования на стеллажах световой установки культурального помещения биотехнологической лаборатории при температуре +25°C, фото-периоде 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 [5], с использованием программы статистического анализа данных STATISTICA 6.0 [6].

Результаты исследований приведены в таблице.

По количеству побегов наиболее высокие показатели, достоверно при $P < 0,01$ превышающие показатели в контроле в 1,6 и 2,0 раза, соответственно, наблюдались в вариантах опыта с 0,1 мг/л и 3,0 мг/л ЭБ (таблица). Следует также отметить тенденцию увеличения показателей признака с ростом концентрации ЭБ в пределах 0,01–0,10 мг/л. При дальнейшем увеличении концентрации ЭБ в пределах 0,1–1,0 мг/л, показатели признака уменьшались до контрольных значений. При дальнейшем повышении концентрации ЭБ в преде-

лах 1–3 мг/л, наблюдался достоверный рост показателей признака, а при увеличении концентрации в пределах 3–10 мг/л, показатели количества побегов уменьшались до нуля (таблица).

По количеству эксплантов наблюдалась похожая закономерность изменчивости признака с ростом концентрации ЭБ. Максимальные значения признака, достоверно при $P<0,05$ и $P<0,01$ превышающие показатели в контроле в 1,3–1,7 раза, наблюдались при концентрации ЭБ 0,1–0,7 мг/л, при дальнейшем увеличении концентрации ЭБ в пределах 0,9–10,0 мг/л наблюдалось снижение показателей признака до нуля (таблица).

Таблица – Изменчивость количественных признаков у регенерантов сорта Bluecrop голубики высокорослой *Vaccinium corymbosum* L. в присутствии 24-эпибрасинолида

Вариант опыта	КП, шт.	КЭ, шт.	ВР, мм	МР, мг	ПР, %
контроль	1,0±0,0	2,2±0,2	20,3±1,7	10,9±0,7	38,7±11,1
ЭБ _{0,01}	1,2±0,2	2,3±0,3	23,9±2,5	69,5±11,4**	26,7±0,1
ЭБ _{0,1}	1,6±0,3**	3,7±0,4**	26,1±4,1*	28,1±13,7*	42,2±4,9
ЭБ _{0,3}	1,4±0,2	3,7±0,3**	30,7±0,3**	10,8±0,7	75,5±4,0**
ЭБ _{0,5}	1,2±0,2	2,9±0,2*	25,6±0,7*	12,7±0,4	51,1±3,0*
ЭБ _{0,7}	1,1±0,1	3,1±0,2*	30,4±2,5**	35,0±11,8**	57,8±4,9**
ЭБ _{0,9}	1,3±0,3	2,7±0,4	27,8±0,4**	20,8±3,4	60,0±3,9**
ЭБ _{1,0}	1,1±0,1	2,6±0,3	29,8±1,1**	18,8±2,1	44,4±6,8
ЭБ _{3,0}	2,0±0,1**	2,4±0,5	19,2±2,2	6,4±0,8	12,2±2,2**
ЭБ _{5,0}	1,0±0,1	1,1±0,2**	17,3±1,1	19,7±10,2	2,8±2,8**
ЭБ _{10,0}	0	0	0	0	0
НСП _{0,05}	0,5	0,7	5,2	13,5	12,3
НСП _{0,01}	0,6	1,0	6,8	17,8	16,2

Примечания. ЭБ – 24-эпибрасинолид; ЭБ_{0,01-10,0} – концентрации 24-эпибрасинолида в диапазоне 0,01 – 10,00 мг/л. Признаки: КП – количество побегов, шт.; КЭ – количество эксплантов, шт.; ВР – высота регенеранта, мм; МР – масса регенеранта, мг; ПР – процент регенерации, как отношение количества регенерантов с побегами к общему количеству регенерантов, выраженное в процентах %

* - достоверно отличается от контрольного значения при $P<0,05$; ** - при $P<0,01$

Наиболее высокие показатели высоты регенерантов, достоверно при $P<0,05$ и $P<0,01$ превышающие показатели в контроле в 1,3–1,5 раза, наблюдались при концентрации ЭБ 0,1–1,0 мг/л (таблица). Достоверное при $P<0,05$ и $P<0,01$ увеличение в 6,4; 2,5 и 3,2 раз массы регенерантов по сравнению с контролем наблюдалось в вариантах опыта с 0,01 мг/л, 0,1 мг/л и 0,7 мг/л ЭБ, соответственно (таблица). Наиболее высокие показатели процента регенерации, как отношение количества регенерантов с побегами к общему количеству регенерантов, выраженное в процентах, наблюдались при концентрациях ЭБ в пределах 0,3–0,9 мг/л, при этом достоверно при $P<0,05$ и $P<0,01$ превышая в 1,3–2,0 раза показатели признака в контроле (таблица). Во всех случаях (таблица) с ростом концентрации ЭБ до 10 мг/л происходило полное угнетение роста и развития регенерантов.

Список использованных источников

1. Hayat S., Ahmad A. Brassinosteroids: A Class of Plant Hormone. – Berlin: Springer-Verlag, 2010. – 462 p.
2. Khripach, V.A. Brassinosteroids. A new class of plant hormones / Khripach V.A., Zhabinskii V.N., Groot A.E. – San Diego: Academic Press, 1999. – 450 p.
3. Kudryashova, O.A. Effects of 24-epibrassinolide on in vitro micropropagation of highbush blueberry / O.A. Kudryashova, A.A. Volotovych, T.I. Vasilevskaya, N.P. Varavina, Zh.A. Rupasova, V.A. Khripach // Russian Journal of Plant Physiology. – 2012. – Vol. 59, № 4. – P.586–593.
4. Trigiano R.N., Gray D.J. Plant Tissue Culture Concepts and Laboratory Exercises. Boca Raton: CRC, 2000. – 454 p.
5. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. М., 1985. – 351 с.
6. Боровиков В.П. STATISTICA: Искусство анализа данных на компьютере. СПб., 2001. – 650 с.