

Учредитель ООО «Биоактуаль»

Главный редактор

д.б.н., профессор О.С. Корнеева

Редакционный совет

д.б.н., профессор Ф.К. Алимова

д.т.н., профессор В.В. Бирюков

д.т.н., профессор Л.А. Иванова

д.б.н., профессор Л.П. Лазурина

д.б.н., профессор Е.Г. Новосёлова

д.х.н., профессор Т.В. Овчинникова

д.т.н., профессор А.Н. Остриков

д.б.н., профессор В.Н. Попов

д.т.н., Член-Корр. РАСХН Л.В. Римарева

Ответственный редактор

к.т.н. А.А. Дерканосова

Журнал зарегистрирован Федеральной службой по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций:

Свидетельство о регистрации ПИ № ФС77-62393 от 14 июля 2015 г.

Журнал «Актуальная биотехнология» выходит 4 раза в год

Подписной индекс издания в агентстве «Роспечать» 58012

По каталогу «Издания органов научно-технической информации» физические и юридические лица могут оформить подписку во всех отделениях почтовой связи Российской Федерации и странах СНГ и Балтии.

Адрес редакции и издательства

394026, г. Воронеж, пр-т Труда, д. 48, корп. 4, оф. 11

E-mail: actbio@mail.ru

Сдано в набор 10.09.2019. Подписано в печать 18.09.2019.

Дата выхода в свет: 21.09.2019

Формат 60×84 1/8

Усл. печ. л. 4,6. Тираж 1500 экз. Заказ 47

Цена – свободная.

УДК 635.21; 631.589; 581.133.8; 632.938

БИОТЕХНОЛОГИЯ РАЗМНОЖЕНИЯ И АДАПТАЦИИ ВИНОГРАДА В LED-ФИТОКУЛЬТУРЕ

¹ Е.Н. Олешук,² Т.В. Никонович,¹ Е.Г. Попов

¹ Институт экспериментальной ботаники НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

² Белорусская государственная сельскохозяйственная академия, Горки, Республика Беларусь

При культивировании растений в искусственных моделируемых условиях, в результате проведения биотехнологических работ нередко возникают трудности в процессе адаптации растений-регенерантов, полученных в культуре *in vitro*, в принципиально иные для них условия выращивания *ex vitro*. При воздействии неблагоприятных абиотических факторов у саженцев отмечается нарушение гомеостаза, стресс, вследствие чего значительно замедляются процессы роста и развития. Как и большинство растений, виноград испытывает высокую потребность в достаточном уровне освещенности и определенном спектральном составе света, особенно в самом начале развития в ювенильный период, а также во время адаптации микроклональных растений к условиям *ex vitro* [1, 2].

Вопросы влияния спектрального состава света на процессы роста и развития саженцев винограда в искусственных условиях в настоящее время детально не исследованы. При проведении биотехнологических манипуляций, которые предусматривают выращивание растений, применяются различные источники света, наиболее перспективными из которых в настоящее время являются светодиоды (*LED*), обладающие высокой энергоэффективностью и позволяющие конструировать светильники с оптимизированным для конкретной культуры спектральным составом излучения [3, 4]. Основными преимуществами светодиодных светильников являются долговечность, экономичность, возможность получения излучения исключительно в фитоактивной части спектра (ФАР), низкая потребляемая мощность, незначительное тепловыделение, что позволяет устанавливать светодиоды вплотную к растениям без риска их повредить. В современных энергоэффективных фитолампах используются узкополосные светодиоды, позволяющие конструировать светильники со спектральным составом излучения максимально приближенным к спектру солнечного света. Из всего спектра ФАР для растений наиболее активными и значимыми считаются красный и синий свет. При узкополосном излучении светодиодов позитивное влияние эффективно только при комплексном и взаимодополняющем воздействии света красных и синих светодиодов. Освещение с явным преобладанием синего или красного спектра света в отдельности воспринимается растительным организмом как стрессовый фактор и вызывает накопление активных форм кислорода (АФК), что приводит к активации системы антиоксидантной защиты [3–5]. Эффективность фотосинтеза в листьях растений в значительной мере определяется интенсивностью, продолжительностью и качественным составом освещения. Как известно, растения поглощают только часть спектрального диапазона света с длиной волны примерно 400–730 нм. Наибольшее стимулирующее влияние на развитие растений имеет синий свет в диапазоне около 450–470 нм и красный в диапазоне активности 660–680 нм. Синий свет стимулирует выработку хлорофилла и рост листьев, способствует устойчивости растений к неблагоприятным абиотическим факторам и защите от патогенов [3, 5]. Активность фотосинтеза

и образование пластических веществ зависит в первую очередь от красного света, однако для оптимизации роста и развития растений при их адаптации необходимо также наличие спектра синего света, который отвечает за стрессоустойчивость. У растений, выращиваемых под монохромным светом, может возникать окислительный стресс, который сопровождается накоплением АФК и усилением процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) [6]. В случае совместного применения красных и синих светодиодов при удачном их сочетании, адаптация протекает более интенсивно и оказывается более эффективной. Подбор интенсивности различных спектров и соотношение диодов проводится эмпирическим путем.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В опытах использовались перспективные для Республики Беларусь интродуцируемые сорта винограда различной генетической природы и происхождения *Бианка*, *Маршал Фош*, *Маркетт*. Саженцы винограда получены путем микрклонального размножения *in vitro*, с последующей адаптацией растений-регенерантов *ex vitro* на ионообменном субстрате «Триона» в условиях биотехнологического комплекса.

В исследовании применялись промышленные светодиодные (LED) фитолампы «Светодар» мощностью 68 Вт, потоком фотонов (в диапазоне 380–800 нм) 143 мкмоль/с. Общий световой поток 8500 лм, соотношение спектров красный / синий (*r/b*) в зависимости от модели в пределах от 1,30 до 9,86 (рис. 1). В качестве контрольного варианта применялись лампы ДНаТ-400.

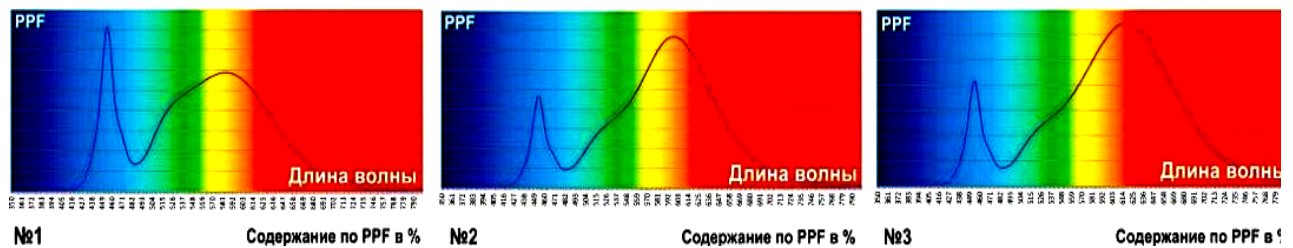


Рис. 1 – Спектральные характеристики использованных в работе LED-источников

Оценка развития и состояния растений проводилась биометрическими и биохимическими методами (нативный электрофорез, спектрофотометрия). Определение активности изоферментов пероксидазы осуществлялось с помощью нативного гель-электрофореза. Полученные электрофореграммы обрабатывали с помощью компьютерной программы *Total/Lab*. Условия культивирования растений-регенерантов в биотехнологическом комплексе: 16-часовой фотопериод, температура в пределах + 23 – 25° С.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Исследовано влияние качества, интенсивности света и продолжительности фотопериода в условиях биотехнологического комплекса. Изучалась стрессоустойчивость растений-регенерантов (саженцев) различных сортов винограда при их адаптации и выращивании под LED-источниками с разным соотношением красного (*r*) и синего (*b*) светового диапазона с помощью биохимических методов (по активности изоферментов пероксидазы). Выявлено, что адаптивные процессы в клетке модулируются изменениями в спектре синтезирующихся белков и значительном варьировании содержания АФК и *Red/Ox*-ферментов (пероксидазы, супероксиддисмутаза (СОД) и др.). Как известно, в естественных условиях адаптация и развитие саженцев происходят в пределах, обусловленных генотипом конкретного сорта. Необходимо отметить, что успешное развитие северного виноградарства связано с внедрением в практику устойчивых к болезням и стрессу высокоадаптивных сортов раннего срока созревания, потенциально пригодных для выращивания в зоне рискованного земледелия [1, 5]. Однако в моделируемых искусственных условиях растения предъявляют особые требования к среде произрастания, и в частности, к условиям искусственного освещения. При микрклональном размножении винограда *in vitro* процессы онтогенеза и формирования растений в значительной мере обусловлены генетическими особенностями культивируемых сортов и условиями их выращивания, в частности, спектральными параметрами освещенности.

На рисунке 2 представлены растения-регенеранты винограда, полученные при различном спектральном составе *LED*-фитоламп. Выявлены существенные различия в формировании побегов, фотосинтетического аппарата и морфометрическом развитии растений винограда одного и того же сорта в условиях *in vitro* в зависимости от варианта освещения. А также установлены сортовые особенности регенерации растений в контролируемых условиях.



Рисунок 2 – Растения-регенеранты винограда *in vitro* (слева – сорт *Маркетт*, справа – сравнение развития сортов *Маркетт* и *Маршал Фуш*)

Кроме изучения особенностей морфогенеза, проводились также исследования функционального состояния ферментов *RedOx* – системы винограда при адаптации саженцев *ex vitro*. Выявлено что, адаптация и последующее развитие саженцев винограда имеет определенную сортоспецифичность и лучше проходит при тех вариантах освещения, где в используемых *LED*-источниках доминирование красного спектра по отношению к синему является незначительным, то есть в моделях фитоламп с меньшим соотношением *r/b* (красный / синий), в частности, при значениях *r/b* 1,30; 3,06; 4,22. При адаптации под данными фитолампами саженцы винограда визуально чувствовали себя наиболее комфортно. Это подтверждается и результатами биохимических исследований (по активности изоферментов пероксидазы) (рис. 3).

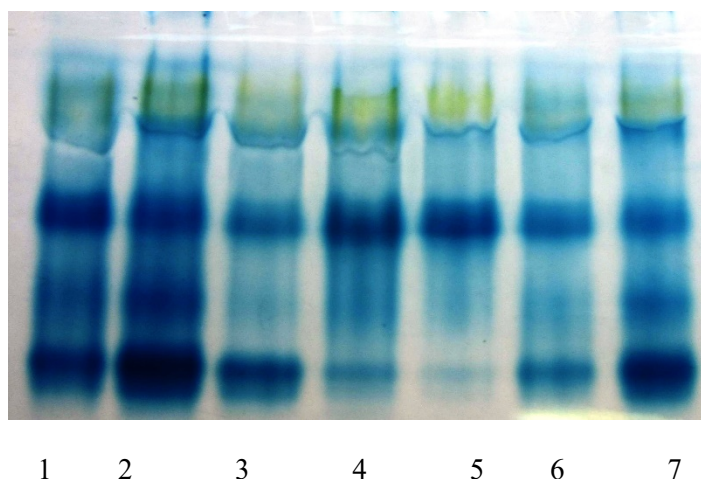


Рисунок 3 – Активность пероксидазы у растений сорта *Маркетт* при разных вариантах освещения

Как представлено на рисунке 3, индукция изоферментов пероксидазы в листьях винограда в зависимости от интенсивности и спектрального состава *LED*-освещения различна. Согласно полученным данным спектрофотометрии установлено, что при адаптации саженцев различных сортов *ex vitro* высокая активность пероксидазы отмечалась у стрессоустойчивого сорта *Маркетт*, в меньшей степени выражена у сорта *Бianca* (в варианте с соотношением красного и синего спектра *r/b* 4,22).

Это свидетельствует о том, что в отличие от, например, сорта Бианка, сорт Маркетт североамериканской селекции является биологически пластичным, он выделяется также быстрым возобновлением роста и развития после завершения процессов адаптации в условиях биотехнологического комплекса.

На основе проведенных исследований и оценки особенностей процессов адаптации и развития саженцев винограда, различных по генетической природе и происхождению сортов к стрессообразующим световым факторам, можно сделать следующие выводы:

1) активность изоферментов пероксидазы в листьях растений различается и в значительной степени обусловлена сортоспецифичностью винограда;

2) механизм антиоксидантной защиты у саженцев винограда *in vitro* и *ex vitro* в моделируемых условиях наиболее полно реализуется при оптимальном количестве синего и красного света в суммарном спектре общего потока фотонов ФАР с длиной волн 400÷800 нм, при определенном преобладании красного света. Оптимальное соотношение спектра красный / синий (*r/b*), при котором растения чувствуют себя наиболее комфортно, должно находиться в пределах 1,30÷4,22;

3) согласно биохимическим критериям оценки стрессоустойчивости растений, спектральный состав света LED-источников на основе узкополосных светодиодов не является стрессообразующим и лимитирующим фактором при культивации винограда в условиях искусственного освещения при оптимизированном соотношении красного и синего спектра (*r/b*) в пределах от 1,30 до 4,22;

4) исследованные нами модели светодиодных фитоламп показали потенциальную пригодность для адаптации растений-регенерантов винограда *ex vitro*. Моделируемый по красному и синему диапазону спектральный состав LED-осветителей может быть востребован с целью депонирования микрорастений винограда *in vitro* для увеличения сроков их хранения;

5) по комплексу генетических, биометрических и биохимических критериев оценки следует выделить стрессоустойчивые и биологически пластичные сорта винограда Маркетт и Маршал Фош, как наиболее перспективные для культивирования в природно-климатических условиях Беларуси, поскольку обладают повышенной адаптационной способностью.

Работа выполнена по гранту № Б17–155 БРФФИ от 18.04.2017 «Оценка морфогенеза и функционального состояния ферментов RedOx-системы винограда в культуре in vitro и ex vitro при различном светодиодном освещении».

ЛИТЕРАТУРА

1. Янчевская, Т.Г. Опыт решения проблем интродукции и технологии промышленного выращивания винограда в условиях Беларуси / Т.Г. Янчевская, Е.Н. Олешук, Е.Г. Попов, А.Н. Гриц, Т.Б. Макарова. – Минск: Право и экономика, 2012. – 16 с.

2. Янчевская, Т.Г. Оптимизация минерального питания растений. / Минск: Беларуская навука, 2014. – 458 с.

3. Олешук, Е.Н. Физиолого-биохимическая оценка стрессоустойчивости винограда к абиотическим факторам / Е.Н. Олешук, Т.Г. Янчевская, А.Н. Гриц // Вестн. Белорус. Сельскохоз. Акад. – 2017. – № 1. – С. 52–57.

4. Янчевская, Т.Г. Биохимическая оценка развития саженцев винограда *ex vitro* под влиянием LED-источников различного спектрального состава / Т.Г. Янчевская, А.Н. Гриц, Е.Н. Олешук, Т.В. Никонович // Виноградарство и виноделие. – 2018. – № 3. – С. 61–63.

5. Олешук, Е.Н. Экспресс-оценка стрессоустойчивости интродуцируемых сортов винограда (*Vitis*) по активности окислительно-восстановительных ферментов/ Е.Н. Олешук, А.Н. Гриц, Т.Г. Янчевская // Вестн. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биол. наук. – 2016. – № 4. – С. 33–41.

6. Шакирова, Ф.М. Неспецифическая устойчивость растений к стрессовым факторам и её регуляция / Ф.М. Шакирова. – Уфа: Гилем, 2001. – С. 35–39.