

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. Никоневич,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 микроклонального 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 геле-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 микроклональном 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 Фош*)

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).

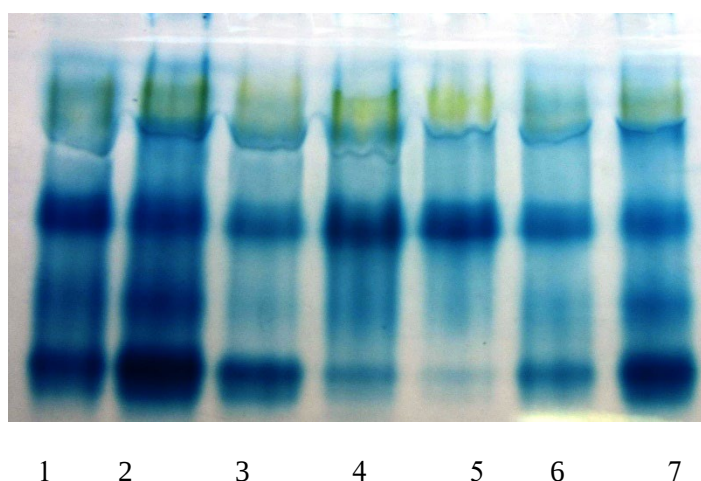


Рисунок 3 – Активность пероксидазы у растений сорта *Маркетт* при разных вариантах освещения

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.