

Учреждение образования  
«Брестский государственный университет имени А.С. Пушкина»

# ПРОБЛЕМЫ ОЦЕНКИ, МОНИТОРИНГА И СОХРАНЕНИЯ БИОРАЗНООБРАЗИЯ

Сборник материалов  
региональной научно-практической экологической конференции

Брест, 3 декабря 2015 года

Брест  
БрГУ имени А.С. Пушкина  
2016

УДК 574.1(476)  
ББК 28.088(4Бей)я431  
П 78

*Рекомендовано редакционно-издательским советом Учреждения образования  
«Брестский государственный университет имени А.С. Пушкина»*

*Рецензенты:*

декан факультета инженерных систем и экологии  
УО «Брестский государственный технический университет»,  
доктор географических наук, профессор **А.А. Волчек**  
доцент кафедры географии и природопользования  
УО «Брестский государственный университет имени А.С. Пушкина»,  
кандидат географических наук, доцент **О.И. Грядунова**

*Редколлегия:*

старший преподаватель **Ю.В. Бондарь**  
кандидат биологических наук, доцент **Н.В. Шкуратова**  
преподаватель **М.В. Левковская**  
кандидат биологических наук, доцент **Н.М. Матусевич**  
кандидат биологических наук, доцент **С.М. Ленивко**

П 78      **Проблемы оценки, мониторинга и сохранения биоразнообразия :**  
сб. материалов регион. науч.-практ. экол. конф., Брест, 3 дек. 2015 г. /  
Брест. гос. ун-т им. А. С. Пушкина ; редкол.: Ю. В. Бондарь [и др.] . –  
Брест : БрГУ, 2016. – 300 с.  
ISBN 978-985-555-438-8.

В сборнике представлены материалы, посвященные решению актуальных проблем экологии, мониторинга природных и антропогенных экосистем; рационального природопользования и охраны окружающей среды; биоразнообразия и современного состояния флоры и фауны; биоиндикации и биотестирования; агроэкологии; экологического образования и просвещения.

Издание адресуется научным работникам, магистрантам, аспирантам, преподавателям и студентам высших учебных заведений, специалистам системы образования.

Ответственность за языковое оформление и содержание материалов несут их авторы.

УДК 574.1(476)  
ББК 28.088(4Бей)я431

ISBN 978-985-555-438-8

© УО «Брестский государственный  
университет имени А.С. Пушкина», 2016

УДК 631.21

**И.Д. ЛУКЪЯНЧИК, О.И. ДАЦИК**

Брест, БрГУ имени А.С. Пушкина

### **ОЦЕНКА КРИОПРОТЕКТОРНОЙ АКТИВНОСТИ ЭПИ- И ГОМОБРАССИНОЛИДОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МИКРОГАМЕТОФИТОВ**

*Актуальность.* У большинства растений в жизненном цикле присутствуют две фазы развития, последовательно сменяющих друг друга: спорофит и гаметофит. Мужской гаметофит растений развивается из споры и представляет собой пыльцу, прорастающую в пыльцевую трубку. В пыльце не только экспрессируется значительная часть структурных генов, свойственных спорофиту, но и объединены преимущества микроскопического размера и гаплоидного состояния генотипа. Гаплоиды являются более уязвимыми для действия факторов внешней среды, что позволяет вести отбор на устойчивость к биотическим и абиотическим стрессам. Немаловажным фактом является и то, что гаплоидный генотип гаметофита дает возможность обнаружить редкие рецессивные аллели, выявить балансированность генома [1; 2].

В Брестском государственном университете им. А.С. Пушкина с 2010 г. на кафедре зоологии и генетики предпринята попытка использования пыльцы растений в качестве тест-системы для выявления биологической активности ряда новосинтезированных кремнийорганических соединений (работы совместно с доктором химических наук Н.П. Ерчаком и кафедрой химии БрГУ им. А.С. Пушкина) [3]. Данная тест-система по сравнению с наиболее распространенными методиками определения морфофизиологических показателей развития растений оказалась более точной и эффективной. Разработанная микрогаметофитная тест-система в 2015 г. была использована для исследования протекторных свойств в отношении низких температур еще одной группы соединений, регулирующих рост и развитие растений – брассиностероидов, в частности, эпикастерона [4].

*Цель работы* – оценка криопротекторной активности эпи- и гомобрассинолидов по реакции мужского гаметофита на присутствие в питательной среде растворов данных соединений.

*Методика исследований.* Исследования проводились на базе кафедры зоологии и генетики БрГУ им. А.С. Пушкина.

*Объектами исследования* служили брассиностероиды (гомобрассинолид, эпибрассинолид) (далее ГБ и ЭБ), любезно предоставленные лабораторией химии стероидов ГНУ «Институт биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси».

Тест-объекты исследования – томат обыкновенный (*Solanum lycopersicum*), представленный сортами Бони-М (раннеспелый), Амулет (среднеспелый), и картофель (*Solanum tuberosum*) сорта Дельфин.

Материал: пыльца (в количестве 500 штук на препарат). Опыты закладывались в четырехкратной повторности.

Опытные растворы регуляторов роста имели концентрацию  $10^{-6}$  % и готовились поэтапно: растворением соединения в спирте до концентрации  $10^{-2}$  %, затем разведением дистиллированной водой до концентрации  $10^{-6}$  % и введением в охлажденную питательную среду в концентрации заданной величины (контрольный раствор – дистиллированная вода).

Этапы микрогаметофитного анализа: сбор пыльцы, посев на среду, фиксация и окрашивание, анализ под микроскопом. Условия прорастания пыльцы –  $t = +10 \pm 0,2$  °C (хладотермостат). Критерии оценки криопротекторной активности – функциональные свойства пыльцы: жизнеспособность и длина пыльцевой трубки (в условных единицах – диаметрах пыльцевого зерна).

Результаты исследований. Анализ данных, представленных в таблице 1, показал следующее. Введение в питательную среду раствора ЭБ достоверно повысило жизнеспособность пыльцы как томата, так и картофеля. Наиболее чувствительными оказались микрогаметофиты среднеспелого сорта Амулет (проросших зерен оказалось в 6,1 раз больше, чем в контроле). У пыльцы раннеспелого сорта Бони-М жизнеспособность пыльцы при введении в среду ЭБ повышалась в 2,3 раза.

Таблица 1 – Жизнеспособность *in vitro* микрогаметофитов некоторых сортов томата и картофеля при введении в питательную среду эпи- и гомобраassinостероидов ( $10^{-6}$  %) при  $t = +10$  °C

Культура	Жизнеспособность пыльцы $x \pm m$ , %		
	Контроль, дист. вода	Эпибрасинолид, $10^{-6}$ %	Гомобрасинолид, $10^{-6}$ %
Томат Бони-М (раннеспелый)	11,16 $\pm$ 0,22	26,09** $\pm$ 0,44	16,36
Томат Амулет (среднеспелый)	8,82 $\pm$ 2,09	53,85* $\pm$ 2,35	39,34
Картофель Дельфин	13,73 $\pm$ 0,41	55,00* $\pm$ 1,16	24,00

Примечание – \* – достоверно при уровне значимости  $p < 0,01$ ; \*\* – достоверно при уровне значимости  $p < 0,05$ .

ЭБ также обладал криопротекторными свойствами в отношении микрогаметофитов картофеля Дельфин, увеличивая жизнеспособность пыльцы в 4 раза.

Воздействие раствора ГБ было менее эффективно, чем ЭБ, однако отличия от контроля были также достоверны. Наибольшую чувствительность проявили микрогаметофиты сорта Амулет (жизнеспособность была выше в 4,5 раз).

Как видно из таблицы 2, введение в питательную среду раствора ЭБ также достоверно увеличивало следующий показатель – длину пыльцевых трубок – у микрогаметофитов как томата, так и картофеля. Вновь наибольшую чувствительность проявила пыльца сорта Амулет (пыльцевые трубки имели длину

в 5,6 раз больше контроля). Несколько ниже, но в пределах достоверных различий, оказался эффект прорастания на фоне ЭБ у томата сорта Бонни-М и картофеля Дельфин (в 4,1 раза и в 2,3 раза соответственно). Раствор ГБ по криопротекторной эффективности приравнялся к ЭБ по отношению к сортам томата (в 4,3 раза увеличивал длину трубок у сорта Амулет и в 4,8 раза – у сорта Бони-М). Однако у микрогаметофитов картофеля сорта Дельфин в присутствии ГБ наблюдалось недостоверное угнетение длины пыльцевых трубок.

Таблица 2 – Длина пыльцевых трубок *in vitro* микрогаметофитов некоторых сортов томата и картофеля на присутствие в питательной среде эни- и гомобрассиностероидов ( $10^{-6}$  %) при  $t = +10$  °С

Культура	Длина пыльцевой трубки $x \pm m$ , усл.ед.		
	Контроль	Эпибрассинолид, $10^{-6}$ %	Гомобрассинолид, $10^{-6}$ %
Томат Бони-М (ранне-спелый)	1,30 $\pm$ 0,01	5,40** $\pm$ 0,12	6,3
Томат Амулет (среднеспелый)	2,60 $\pm$ 0,73	14,6* $\pm$ 0,10	11,1
Картофель Дельфин	5,41 $\pm$ 0,31	12,5 $\pm$ 0,11	4,5

Примечание – \* – достоверно при уровне значимости  $p < 0,01$ ; \*\* – достоверно при уровне значимости  $p < 0,05$

*Выводы.* Анализ результатов исследования *in vitro* реакции микрогаметофитов различных по срокам созревания сортов томата и картофеля на введение в питательную среду потенциальных регуляторов роста эпибрассиностероида (ЭБ) и гомобрассиностероида (ГБ) в концентрации  $10^{-6}$  % показал следующее.

1. ЭБ и ГБ обладают криопротекторными свойствами в отношении микрогаметофитов томата, увеличивая жизнеспособность пыльцы и длину пыльцевых трубок. При этом эффективность ЭБ была значительно выше. Наибольшую чувствительность к воздействию растворов проявлял среднеспелый сорт Амулет.

2. ЭБ также обладает криопротекторными свойствами в отношении микрогаметофитов картофеля Дельфин, увеличивая жизнеспособность пыльцы (в 4 раза) и длину пыльцевых трубок (в 2,3 раза).

3. ГБ обладает менее широким спектром криопротекторных свойств в отношении микрогаметофитов картофеля, улучшая лишь жизнеспособность пыльцы в 1,8 раз.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Методические рекомендации по гаметной селекции сельскохозяйственных растений (методология, результаты и перспективы) : метод. пособие / Рос. акад. с.-х. наук ; под ред. В. Ф. Пивоварова. – М., 2001. – 391 с.
2. Пугачева, И. Г. Эндогенные и экзогенные факторы роста как стимуляторы жизнеспособности пыльцы томата, подвергшейся действию низкотемпературного стресса / И. Г. Пугачева // Проблемы производства продукции растениеводства и пути их решения : материалы Междунар. науч.-практ. конф. – Горки, 2000. – С. 134–137.

3. Ломакова, О. О. Изучение биологической активности нового кремнийорганического вещества Е-2032 с использованием методов гаметной селекции / О. О. Ломакова, Н. П. Ерчак, И. Д. Лукьянчик // Итоги полевого сезона, 2010 : материалы I регион. науч. зоол. конф., посвящ. Междунар. году биоразнообразия, Брест, 11 дек. 2010 г. / БрГУ им. А. С. Пушкина, Каф. зоологии и генетики, ООО «Ахова птушак Бацькаўшчыны» ; редкол.: А. Н. Тарасюк [и др.]. – Брест : Альтернатива, 2011. – С. 20–23.

4. Лукьянчик, И. Д. Использование методов гаметной селекции для оценки протекторных свойств эпикастастерона в условиях низкотемпературного стресса / И. Д. Лукьянчик, О. И. Дацик // Проблемы сохранения биологического разнообразия и использования биологических ресурсов : материалы III Междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 110-летию со дня рождения акад. Н. В. Смольского, Минск, 7–9 окт. 2015 г. : в 2 ч. / Нац. акад. наук Беларуси [и др.] ; редкол.: В. В. Титок [и др.]. – Минск : Конфидо, 2015. – С. 215–216.