# Особенности модификации ростовых процессов протокормов *Phalaenopsis* в культуре *in vitro* под действием экзогенных брассиностероидов

**Черныш М. А.[А]*, Бахметова А. Ф.[А], Стромская Т. С.[А], Жабинский В. Н.[Б], Хрипач В. А.[Б], Демидчик В. В.[А]**

*[А] Белорусский государственный университет, кафедра клеточной биологии и биоинженерии растений, Минск, Беларусь. *E-mail: chernyshmaryia@gmail.com*

*[Б] Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Минск, Беларусь.*

Контроль роста и развития растений при культивировании *in vitro* главным образом осуществляется содержанием фитогормонов в среде, а также их соотношением. В большинстве случаев для биотехнологических манипуляций *in vitro* используются цитокинины и ауксины [1]. В последнее время появились работы, указывающие на возможность применения в качестве регуляторов роста и других соединений. В частности, высокую эффективность демонстрируют стероидные фитогормоны – брассиностероидов (БС) [2, 3]. Показано, что экзогенная обработка умеренными дозами БС повышает устойчивость растений к стрессовым воздействиям, таким как засуха, засоление, воздействие тяжелых металлов, а также различных патогенов [4, 5], что, вероятно, происходит вследствие их влияния на накопление АФК, свободно-радикальные процессы, воздействия на специфические белки-мишени и факторы транскрипции, контролирующие иммунитет растений и пути биосинтеза стрессовых гормонов. Однако возможность применения данных фитогормонов для управления ростовыми процессами в условиях *in vitro* исследована недостаточно. Так, потенциальное воздействие БС на физиологические процессы у Орхидных – крупнейшего семейства покрытосеменных растений, насчитывающего порядка 30000 видов [6], остаются практически неизученными.

Целью настоящей работы было изучение особенностей воздействия шести основных БС: брассинолида, кастастерона, 24-эпикастастерона, 28-гомокастастерона, 24-эпибрассинолида и 28-гомобрассинолида на рост протокормов *Phalaenopsis* × hybridum Blume в культуре *in vitro*.

Перспективной технологией культивирования орхидей является размножение семенами в стерильных условиях через культуру протокормов – уникальных по анатомии структур орхидных, которые развиваются непосредственно из прорастающих семян [7]. Культура протокормов *Phalaenopsis* × hybridum Blume была получена через посев семян из цельных нераскрывшихся коробочек. Данный метод позволяет использовать более опасные стерилизующие вещества, что значительно облегчает введение семян в культуру [8]. Стерилизация коробочек *Phalaenopsis* осу-

ществлялась посредством трехкратной обработки 70% этанолом с последующим обжигом в пламени спиртовки. После стерилизации семена из коробочек засевались на поверхность питательной среды. Использовалась агаризованная среда Fast [9], дополненная 1,2% сахарозы, 0,8% фруктозы, 0,9% агара, 0,2% дрожжевого экстракта, 0,2% пептона, 0,2% активированного угля, 1% мезоинозита, 1% гумата калия (pH =5,5). Протокормы, полученные из первичной культуры, переносились на среды, содержащие различные БС в диапазоне концентраций $10^{-10}$ – $10^{-6}$ М и ростовые параметры протокормов анализировались через 100 сут.

Введение в среду БС во всем диапазоне протестированных концентраций вызывало значительное усиление ростовых процессов, что выражалось в увеличении длины и приросте биомассы орхидей. Наибольший стимулирующий эффект на длину растений наблюдался при добавлении в среду брассинолида (рис. 1А). При концентрации брассинолида $10^{-7}$ М наблюдалось двукратное увеличение длины растений по сравнению с контрольными образцами.

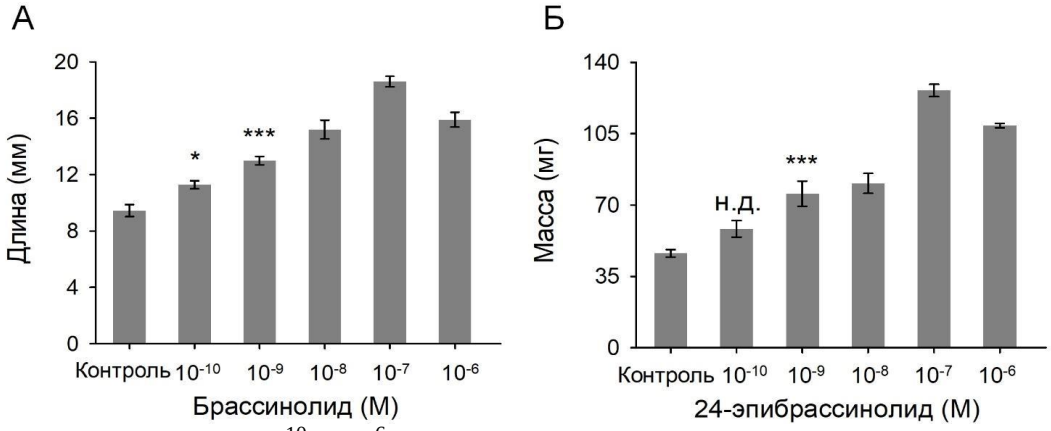


*Рис. 1.* Эффект $10^{-10}$ – $10^{-6}$ М брассиностероидов на ростовые параметры микрорастений *Phalaenopsis* × hybridum Blume: А – длина растений, сформировавшихся из протокормов на 100 сут культивирования на среде с брассинолидом; Б – масса растений на 100 сут выращивания на среде с 24-эпибрассинолидом (X±Sx; n = 10; * – p<0,01; *** – p<0,0001)

Наибольшим стимулирующим воздействием на прирост биомассы обладал 24-эпибрассинолид (рис. 1Б). При концентрации $10^{-7}$ М данного фитогормона в среде масса растения увеличивалась в 2,7 раза по сравнению с контролем. Кастастерон и 24-эпикастастерон также демонстрировали высокую эффективность по отношению к длине растений. Сравнение эффектов БС и ауксинов показало, что стероидные гормоны оказывают схожее либо в некоторых случаях даже более сильное стимулирующее воздействие, чем ауксины. При сочетанном воздействии БС и ауксинов

обнаружено подавление стимулирующего эффекта, наблюдаемого при введении фитогормонов по отдельности.

Таким образом, в настоящей работе было показано, что введение БС (10-10 – 10-6 М) в среду культивирования вызывает стимуляцию ростовых процессов у протокормов Phalaenopsis × hybridum Blume, в связи с чем БС могут быть использованы для оптимизации культивирования декоративных орхидей Phalaenopsis × hybridum Blume в условиях in vitro.

**Библиографические ссылки**

1. Pierik R.L.M. *In vitro* culture of higher plants / Springer Science + Business Media, B.V., 1997. – 348 p.

2. Khripach, V.A. Brassinosteroids: a new class of plant hormones / V.A. Khripach, V.N. Zhabinskii, A.E. de Groot // Academic Press: San Diego, USA, 1999. – P. 456.

3. Brassinosteroids: essential regulators of plant growth and development / D. Steven [et al.] // Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. – 1998. – Vol. 49. – P. 427-451.

4. Brassinosteroids: multidimensional regulators of plant growth, development, and stress responses / T.M. Nolan [et al.] // Plant Cell. – 2020. – Vol. 32. – P. 295-318.

5. Exogenous brassinosteroids promotes root growth, enhances stress tolerance, and increases yield in maize / H. Zhang [et al.] // Plant Signal. Behav. – 2022. – Vol. 17. – 2095139.

6. Черевченко, Т.М. Биотехнология тропических и субтропических растений *in vitro* / Т.М. Черевченко, А.Н. Лаврентьева, Р.В. Иванников; под ред. Ж.В. Загоруйко. – Киев: Наук. Думка, 2008. – 560 с.

7. Yeung, E.C. A perspective on orchid seed and protocorm development / E.C. Yeung // Bot. Stud. – 2017. – Vol. 58. – P. 33.

8. Clonal propagation of orchids / D. Jones [et al.] // Methods Mol. Biol. – 1990. – Vol. 6. – P. 181-191.

9. Fast, G. Orcideen kultur / G. Fast. – Stuttgart: Ulmer, 1980. – 460 p.

## Белки теплового шока как ранние маркеры окислительного стресса у растений

**Юрина Н. П.[A]*, Олескина Ю. П.[A], Муртазина Н. Д.[A]**

*[A] Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии», Институт биохимии им. А.Н. Баха Российской академии наук, Москва, Россия.*
**E-mail: nyurina@inbi.ras.ru*

Воздействие глобальных изменений климата на растения имеет серьезные последствия для биоразнообразия экосистем и продовольственной безопасности. Адаптация растений к стрессам окружающей среды представляет собой сложный процесс, включающий как физиологические, так и биохимические и молекулярные механизмы. В условиях биотического и абиотического стресса в клетках растений образуются активные формы