

### КАРОТКІЯ ПАВЕДАМЛЕННІ

УДК 57.085:634.73

О. А. КУДРЯШОВА<sup>1</sup>, А. А. ВОЛОТОВИЧ<sup>1</sup>, Т. В. ГЕРАСИМОВИЧ<sup>1</sup>,  
А. А. КУДРЯШОВ<sup>2</sup>, В. Л. КОРНЕЙЧИК<sup>2</sup>

#### УСКОРЕНИЕ РОСТА И РАЗВИТИЯ РЕГЕНЕРАНТОВ *VACCINIUM CORYMBOSUM* IN VITRO С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ УСТАНОВКИ ОСВЕЩЕНИЯ НА ОСНОВЕ СВЕТОДИОДОВ

<sup>1</sup>Полесский государственный университет, Пинск, e-mail: volant777@tut.by,  
<sup>2</sup>ООО «Ellis Amalgamated LLC», Минск

(Поступила в редакцию 24.03.2010)

**Введение.** Светодиод (по-английски, light emitting diode, или LED) – это полупроводниковый прибор с электронно-дырочным *p–n*-переходом или контактом «металл – полупроводник», преобразующий электрический ток непосредственно в световое излучение [1]. Главное преимущество светодиода в отличие от лампы накаливания или люминесцентной лампы заключается в том, что электрический ток преобразуется в световое излучение практически без потерь, при этом светодиод практически не нагревается, что определяет длительный срок его службы. Светодиод излучает в узкой части спектра, излучение идет полностью в переднюю сферу, механически прочен, исключительно надежен. В отличие от ламп накаливания и всех других типов ламп светодиоды излучают свет в относительно узкой полосе спектра, ширина которой составляет 20–30 нм, что делает их особенно удобными для формирования светильников со специальным спектром излучения. Срок службы светодиода может достигать 100 тыс. ч, что почти в 100 раз больше, чем у лампочки накаливания, и в 5–10 раз больше, чем у люминесцентной лампы. Падение яркости свечения светодиодов, например, через 50 000 ч, как правило, не превышает 25 %. Светодиод является низковольтным электроприбором, это качество определяет безопасность работы со светодиодами в целом. Сверхминиатюрность и встроенное светораспределение (оптические линзы) дополняют положительные качества светодиода [1–4].

За период февраль – ноябрь 2009 гг. при научном сопровождении сотрудников сектора микрклонального размножения растений УО «Полесский государственный университет» (Пинск, Республика Беларусь) и содействию компании ООО «Ellis Amalgamated LLC» (Минск, Республика Беларусь) был сконструирован опытный образец установки освещения на основе светодиодов. Опытный образец созданной установки испытывался на предмет стимуляции роста и развития растений семейства *Ericaceae* в биотехнологической лаборатории сектора микрклонального размножения растений УО «Полесский государственный университет» с ноября 2009 г. по февраль 2010 г. В настоящей статье приведены результаты испытаний созданного опытного образца светодиодной лампы и сравнительного анализа эффективности использования световых установок с разным типом ламп для стимуляции роста и развития регенерантов *Vaccinium corymbosum* L. *in vitro*.

**Объекты и методы исследования.** В качестве объекта исследования использовали регенеранты голубики высокой *Vaccinium corymbosum* L. сорта Brigitta blue, размножаемые микрклонально *in vitro*. В качестве экспланта для формирования регенеранта использовали фрагмент побега из двух метамеров. Метамер состоит из узла с листом и пазушной почкой и нижележащего междоузлия. Регенеранты в колбах объемом 100 мл, содержащими по 20 мл агаризованной питатель-

ной среды для размножения [5], размещали на стеллажах световой установки биотехнологической лаборатории при освещении либо оригинальными светодиодными лампами (4000 лк; полезная мощность 7,5 Вт; потребляемая мощность 14,0 Вт;  $\lambda = 400\text{--}440$  нм; 530–550 нм; 660–690 нм), либо люминесцентными лампами OSRAM L36W/76 Natura (6000 лк; потребляемая мощность 36 Вт; CCT = 6200–6500 К) при фотопериоде 16/8 ч (свет/темнота) и при температуре  $24 \pm 1$  °С.

Пассаж регенерантов и учет количественных признаков проводили через 7 недель культивирования *in vitro*. Анализировали изменчивость следующих признаков: «высота регенерантов», «коэффициент размножения/побеги» (как количество развившихся побегов из одного экспланта) и «коэффициент размножения/экспланты» (как количество полноценных эксплантов для последующего размножения, получаемое после черенкования побегов, развившихся у одного регенеранта). Количество анализируемых регенерантов при освещении светодиодными и люминесцентными лампами составило 385 и 331 соответственно (табл. 1).

Т а б л и ц а 1. Биометрические показатели изменчивости высоты регенерантов голубики высокой *in vitro* при освещении разными типами ламп

| Тип лампы   | Номер колбы | Количество анализируемых регенерантов, шт. | Высота регенерантов, см | Минимальная высота регенеранта, см | Максимальная высота регенеранта, см |
|---|-------------|--|-------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|
| Лампа светодиодная ( $\lambda = 400\text{--}440$ ; 530–550; 660–690 нм) | 1           | 39   | 1,63±0,06               | 0,75                               | 3,00                                |
|   | 2           | 98   | 1,19±0,04               | 0,50                               | 2,00                                |
|   | 3           | 146  | 1,01±0,02               | 0,60                               | 1,70                                |
|   | 4           | 102  | 0,94±0,03               | 0,60                               | 1,80                                |
| OSRAM L 36W/76 Natura (CCT=6200–6500 К)                                 | 1           | 88   | 0,81±0,02               | 0,30                               | 1,30                                |
|   | 2           | 113  | 0,78±0,02               | 0,45                               | 1,20                                |
|   | 3           | 46   | 0,96±0,04               | 0,40                               | 1,50                                |
|   | 4           | 84   | 1,00±0,02               | 0,40                               | 1,60                                |
| HCP <sub>05</sub>   |             | –  | 0,08                    | –                                  | –                                   |
| HCP <sub>01</sub>   |             | –  | 0,10                    | –                                  | –                                   |

П р и м е ч а н и е. Прочерк «–» – отсутствие данных. Высота регенерантов приводится как «среднее арифметическое ± стандартная ошибка».

Общий математический анализ данных проводили по стандартным методам вариационной статистики с использованием программы статистического анализа данных STATISTICA 6.0 [6]. Дисперсионный анализ данных и расчет доли влияния факторов на изменчивость исследуемых признаков проводили в программе AB-Stat, разработанной в Институте генетики и цитологии НАН Беларуси.

**Результаты и их обсуждение.** Результаты биометрического анализа изменчивости признака «высота регенерантов» приведены в табл. 1. Согласно полученным данным, средняя высота регенерантов, культивируемых *in vitro* при освещении светодиодными лампами, в отдельных вариантах опыта достоверно (при  $P < 0,01$ ) на 6,3–8,5 мм превышала таковую у регенерантов, культивируемых *in vitro* при освещении люминесцентными лампами указанного выше типа. Максимальная высота отдельных регенерантов при освещении светодиодными лампами достигала 2,0–3,0 см, в то время как у регенерантов, освещаемых люминесцентными лампами, не превышала 1,6 см (табл. 1). В целом разбежка по высоте регенерантов для вариантов опыта со светодиодной и люминесцентной подсветкой составила 0,5–3,0 см и 0,3–1,6 см соответственно (табл. 1).

Усредненные результаты анализа изменчивости исследуемых признаков приведены в табл. 2. Согласно полученным данным, высота регенерантов под светодиодной лампой достоверно (при  $P < 0,01$ ) на 4,0 мм превышала высоту регенерантов под люминесцентной, а коэффициент размножения (по количеству полноценных эксплантов) у регенерантов под светодиодной лампой достоверно (при  $P < 0,05$ ) в 1,49 раза превышал таковой у регенерантов под люминесцентной лампой. По количеству развившихся побегов из одного регенеранта достоверных различий выявить не удалось, тем не менее следует отметить тенденцию повышения коэффициента размножения (по побегам) в 1,39 раз у регенерантов под светодиодной лампой (табл. 2). Таким образом, за один и тот же промежуток времени при использовании созданных светодиодных ламп для освеще-

щения регенерантов *Vaccinium corymbosum L. in vitro* возможно производство большего количества качественного материала в виде полноценных эксплантов для размножения, что позволяет существенно сократить сроки производства необходимого количества регенерантов для их последующего укоренения и адаптации.

Т а б л и ц а 2. Изменчивость количественных признаков у регенерантов голубики высокой *in vitro* при освещении разными типами ламп

| Тип лампы  | Высота регенерантов, см | Коэффициент размножения/побеги, шт. | Коэффициент размножения/экспланты, шт. |
|--|-------------------------|-------------------------------------|--|
| OSRAM L 36W/76 Natura CCT=6200–6500 К (контроль)               | 0,93                    | 3,12                                | 4,16                                   |
| Лампа светодиодная ( $\lambda = 400-440; 530-550; 660-690$ нм) | 1,33**                  | 4,36                                | 6,19*                                  |
| HCP <sub>05</sub>  | 0,08                    | 1,70                                | 1,91                                   |
| HCP <sub>01</sub>  | 0,10                    | 3,12                                | 3,52                                   |

\* Достоверно отличается от контроля при  $P < 0,05$ .

\*\* При  $P < 0,01$ .

Однофакторный дисперсионный анализ выявил достоверное влияние фактора «тип ламп» на изменчивость признаков «высота регенерантов» (при  $P < 0,01$ ) и «коэффициент размножения/экспланты» (при  $P < 0,05$ ) (табл. 3). Доля влияния фактора на изменчивость данных признаков составила 28,4 и 46,7 % соответственно. Несмотря на то что доля влияния фактора на изменчивость признака «коэффициент размножения/побеги» составила 56,6 %, достоверность влияния при этом не установлена (табл. 3).

Т а б л и ц а 3. Однофакторный дисперсионный анализ изменчивости количественных признаков у регенерантов голубики высокой *in vitro* при освещении разными типами ламп

| Источник варьирования | Степень свободы | Высота регенерантов |                 | Степень свободы | Коэффициент размножения/побеги |                 | Коэффициент размножения/экспланты |                 |
|-----------------------|-----------------|---------------------|-----------------|-----------------|--------------------------------|-----------------|-----------------------------------|-----------------|
|                       |                 | Средние квадраты    | Доля влияния, % |                 | Средние квадраты               | Доля влияния, % | Средние квадраты                  | Доля влияния, % |
| Общее                 | 311             | 0,143               | —               | 7               | 0,771                          | —               | 2,507                             | —               |
| Фактор А (тип лампы)  | 1               | <b>12,644**</b>     | 28,376          | 1               | 3,050                          | 56,557          | <b>8,201*</b>                     | 46,742          |
| Повторности           | 155             | 0,089               | 30,791          | 3               | 0,213                          | 11,860          | 2,393                             | 40,910          |
| Случайные отклонения  | 155             | 0,117               | 40,833          | 3               | 0,568                          | 31,583          | 0,722                             | 12,347          |

П р и м е ч а н и е. Прочерк «—» – отсутствие данных.

\* Значимо при  $P < 0,05$ .

\*\* При  $P < 0,01$ .

**Заключение.** Регенеранты, культивируемые *in vitro* при освещении созданными светодиодными лампами, в отдельных случаях достоверно (при  $P < 0,01$ ) превышали по высоте на 6,3–8,5 мм регенеранты, культивируемые под люминесцентными лампами OSRAM L36W/76 Natura.

В среднем высота регенерантов под светодиодными лампами достоверно (при  $P < 0,01$ ) на 4,0 мм превышала высоту регенерантов под люминесцентными лампами OSRAM L36W/76 Natura.

По количеству полноценных эксплантов, полученных после черенкования побегов, развившихся из одного регенеранта, установлено достоверное (при  $P < 0,05$ ) превышение в 1,49 раза у регенерантов под светодиодными лампами.

В процессе однофакторного дисперсионного анализа установлено достоверное при  $P < 0,01$  и  $P < 0,05$  влияние типа ламп на изменчивость признаков «высота регенерантов» и «коэффициент размножения/экспланты» соответственно.

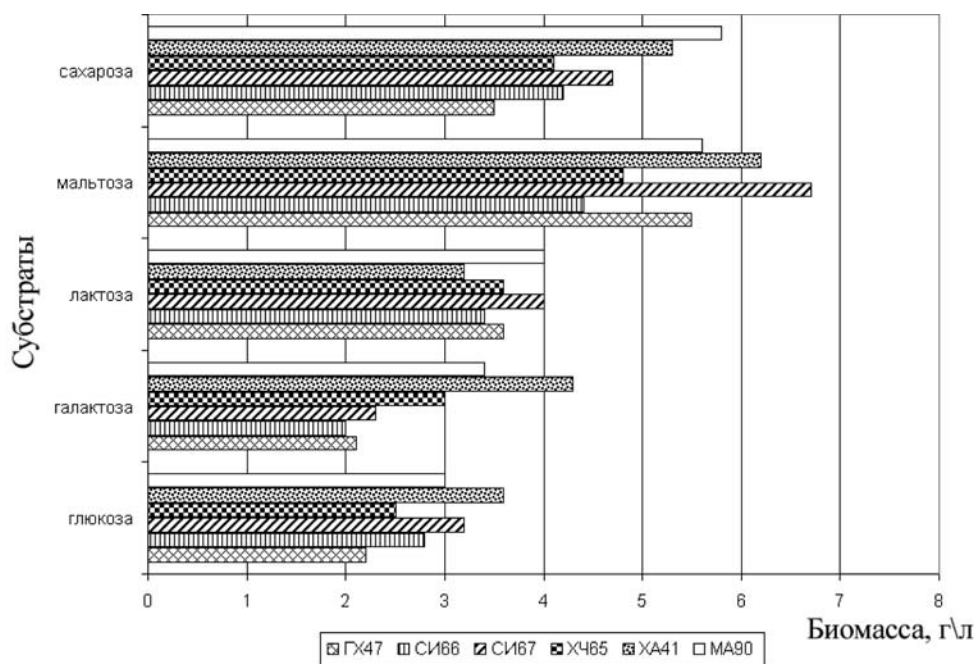


Рис. 1. Влияние сахаров на рост штаммов молочнокислых бактерий *L. fermentum*

Все опыты исследований повторены 5 раз, и результаты были статистически обработаны [6].

**Результаты и их обсуждение.** При исследовании было обнаружено, что по отношению к сахарам (глюкозе, галактозе, лактозе, мальтозе, сахарозе), используемым в качестве источника углерода и энергии, штаммы вида *Lactobacillus fermentum*, используемые на территории Азербайджанской Республики и выделенные из молочнокислых продуктов, отличаются друг от друга.

У штаммов ГХ 47, СИ 66, СИ 67, ХЧ 65 вида *L. fermentum* наблюдали наилучшую усвояемость мальтозы, хорошую усвояемость сахарозы, относительно слабую усвояемость глюкозы, галактозы и лактозы. Так, биомасса, образованная в среде с мальтозой и сахарозой, превышала биомассу при лактозе в 1,6 и 1,9 раз соответственно. Штамм МА90 *L. fermentum* лучше всего растет в сахарозе, затем – в мальтозе, хорошо развивается в лактозе, относительно слабо растет в глюкозе и галактозе. Наилучшим субстратом для этого штамма считается сахароза, затем мальтоза. Было обнаружено, что биомасса, образованная при сахарозе и мальтозе, превышает биомассу при глюкозе в 1,9 и 1,8 раза соответственно (рис. 1).

Характерная особенность гетероферментативных, а также гомоферментативных молочнокислых бактерий – приспособление к развитию в среде с высокой концентрацией этилового спирта. Согласно этому, было изучено влияние этанола, дульсита, глицерина, инозита и сорбита на развитие штаммов молочнокислых бактерий.

Штаммы ГХ 47, СИ 66, СИ 67 вида *L. fermentum* очень хорошо усвоили маннит и сорбит и очень слабо – этанол и глицерин. Биомасса при первых спиртах превышала биомассу при вторых в 2,9–13 раз.

Штамм ХЧ 65, относящийся к этому виду, в одинаковой степени относительно хорошо усвоил дульсит, инозит, манит и сорбит и очень слабо – этанол и глицерин. Биомасса при первых спиртах превышала биомассу при вторых в 2,4–3,3 раза.

Штамм ХА41 *L. fermentum* очень хорошо усвоил манит и сорбит, хорошо – инозит и дульсит, в средней степени – этанол и слабо усвоил глицерин. Максимальная биомасса образовалась в среде с маннитом и превышала биомассу при глицерине в 3,9 раза. Штамм МА90 вида *L. fermentum* хорошо усвоил манит и сорбит, в средней степени – дульсит и инозит и слабо – этанол и глицерин. Биомасса при первых спиртах превышала биомассу при этаноле и глицерине в 2,0–2,3 раза (рис. 2).

Одним из главных и необходимых питательных элементов для молочнокислых бактерий является источник азота. Этот источник, как и источник углерода, обеспечивает их рост. Так, боль-

шинство молочнокислых бактерий не обладают способностью синтезировать сложные органические формы азота и поэтому для их роста в такой среде необходим источник азота.

С этой точки зрения было изучено влияние органических (мочевины, пептона и аспарагина) и неорганических (нитрата натрия, нитрата аммония, сульфата аммония) соединений азота на штаммы молочнокислых бактерий вида *L. fermentum*.

Штаммы ГХ 47, СИ 66, СИ 67, ХЧ 65, ХА 41 и МА 90 *L. fermentum* не смогли усвоить в качестве источника азота  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ , однако хорошо усвоили  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ . Биомасса в среде с  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  превысила биомассу в среде  $\text{NaNO}_3$  в 2,7–13 раз.

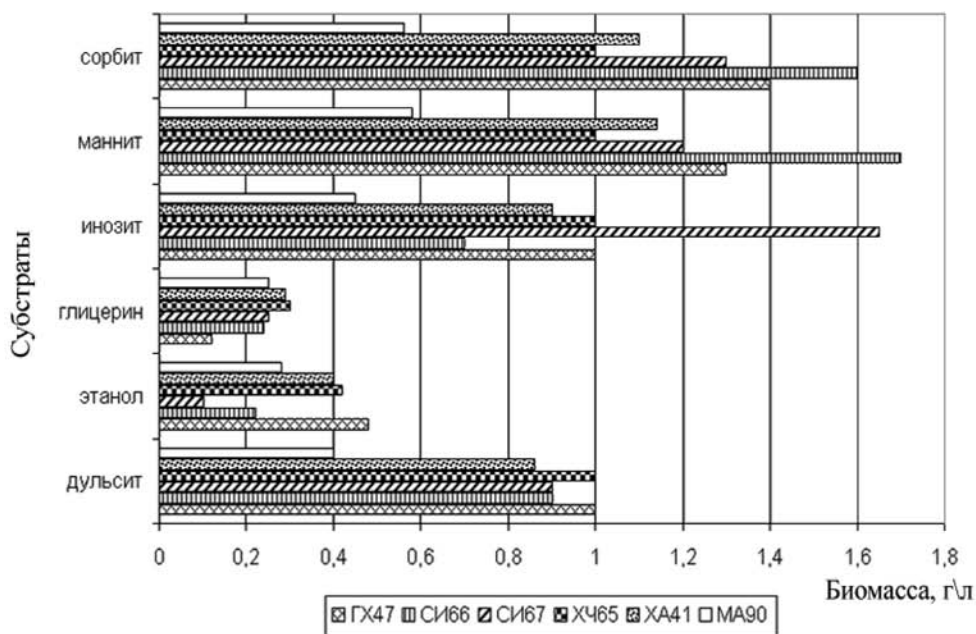


Рис. 2. Влияние спиртов на рост штаммов молочнокислых бактерий *L. fermentum*

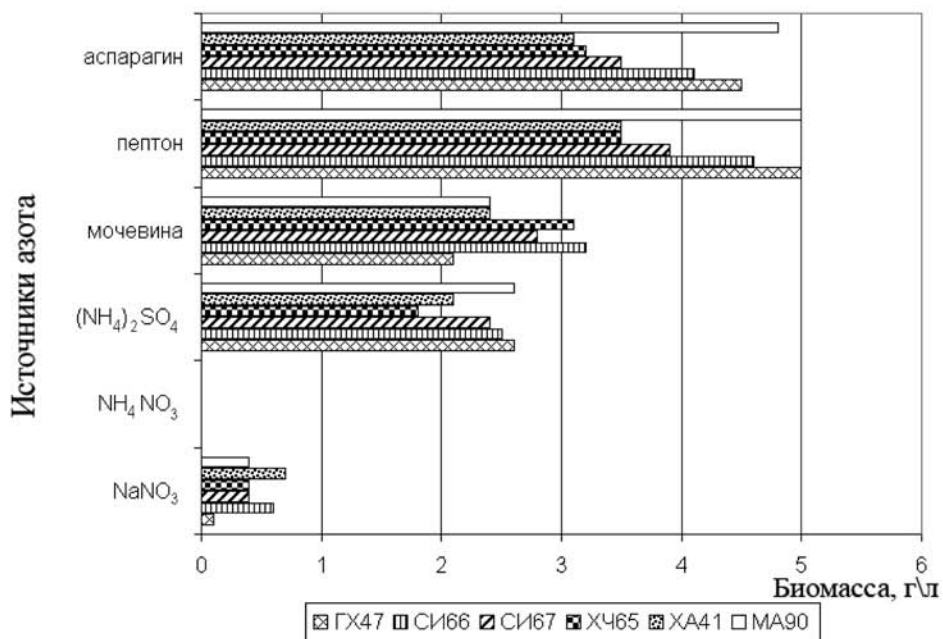


Рис. 3. Влияние источников азота на рост штаммов молочнокислых бактерий *L. fermentum*

Источники органического азота по сравнению с неорганическим очень хорошо усваиваются этими бактериальными штаммами. Биомасса, образованная этими штаммами в среде с пептоном, превысила биомассу в среде с  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  в 1,6–1,9 раз. Из источников органического азота лучше всего был усвоен пептон. Биомасса, образованная в среде с пептоном, превысила биомассу при мочеvine в 1,4–2,3 раза, аспарагине – в 1,1 раза (рис. 3).

Известно, что температура – один из главных факторов, влияющих на рост и развитие микроорганизмов, в том числе и молочнокислых бактерий. Учитывая именно это, мы изучили влияние температурных факторов на рост и развитие штаммов бактерий вида *L. fermentum* и выявили, что эти штаммы очень слабо развиваются при 20 и 40 °С и хорошо – при 25–35 °С. Максимальная биомасса наблюдается при 35 °С. Так, биомасса, образованная бактериальными штаммами при 35 °С, превысила биомассу при 25 °С в 1,5–2,4 раза, а при 30 °С – в 1,2–1,5 раз (рис. 4).

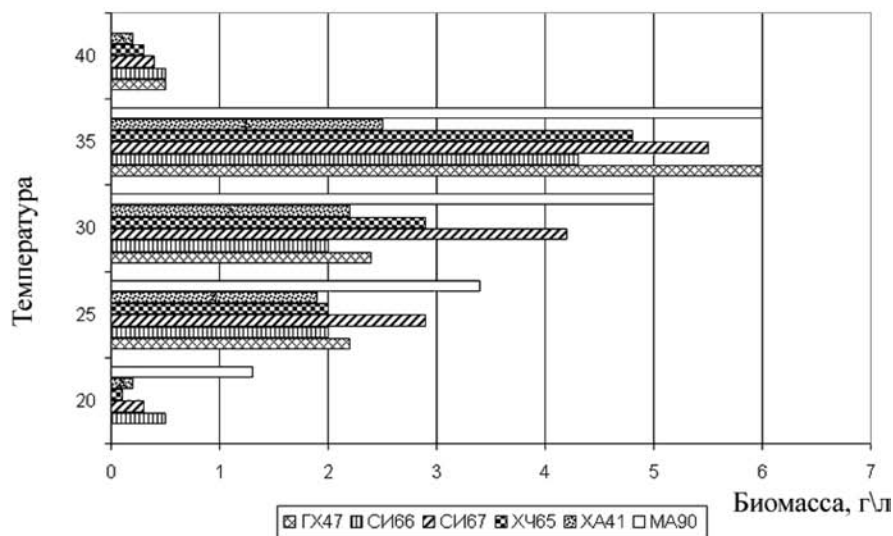


Рис. 4. Влияние температуры на рост штаммов молочнокислых бактерий *L. fermentum*

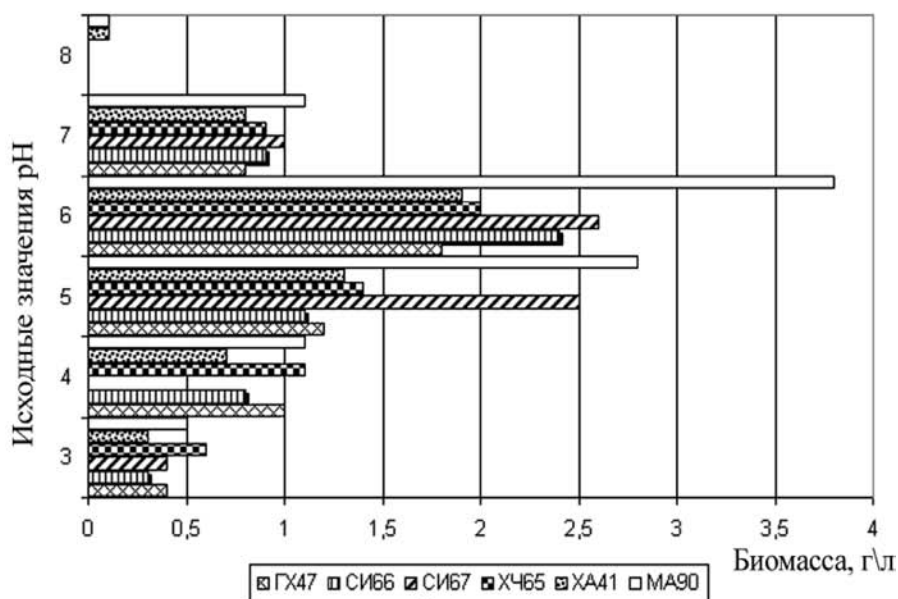


Рис. 5. Влияние pH на рост штаммов молочнокислых бактерий *L. fermentum*

Как видно из рисунка, штаммы вида *L. fermentum* хорошо развиваются при pH 4,0–7,0, при pH 3,0 рост незначителен, а при pH 8,0 рост отсутствует. Наибольшая биомасса – в среде с pH 5,0 и 6,0, а максимальная биомасса наблюдалась в среде с pH 6,0. Максимальная биомасса штаммов превышала биомассу сред с pH 4,0; 5,0 и 7,0 в 1,6–4,4; 1,1–2,4 и 2,0–3,8 раз соответственно (рис. 5).

**Заключение.** Для молочнокислых бактерий вида *L. fermentum* наилучшим источником углерода и энергии из сахаров является мальтоза и сахароза, из спиртов – сорбит и манит. Для этих бактериальных штаммов наилучший источник неорганического азота –  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ . Они также хорошо усвоили источники органического азота (мочевину, пептон и аспарагин). Пептон, аспарагин и мочевина вызвали образование относительно большей биомассы.

Оптимальная температура для этих штаммов 35 °С, а оптимальная кислотность – pH 6,0.

### Литература

1. Ганбаров Х. Г., Джафаров М. М. Микробиология лечебных и диетических кисломолочных продуктов. Баку, 2001.
2. Квасников Е. И., Нестеренко О. А. Молочнокислые бактерии и пути их использования. М., 1975.
3. Джафаров М. М., Ганбаров Х. Г., Касимзаде М. А. // Некоторые физиологические свойства микроорганизмов, выделенных из лечебной простокваши: I Кавказский симпозиум по медико-биологическим наукам. Тбилиси, 1999. С. 74–75.
4. Ганбаров Х. Г., Джафаров М. М., Гурбанова Ф. К. // Влияние моно- и дисахаридов на рост молочнокислых бактерий, выделенных из простокваш, используемых в агроклиматических областях Азербайджанской Республики: Науч. тр. Москов. пед. гос. ун-та. М., 2006. С. 422–431.
5. Нетрусов А. И. Практикум по микробиологии. М., 2006.
6. Теппер Е. З., Шильникова В. К., Переверзева Г. П. // Практикум по микробиологии. М., 2004. С. 256.
7. Плохинский Н. А. Биометрия. М., 1998.

**РЕФЕРАТЫ**

УДК 57.085:634.73

Кудряшова О. А., Волотович А. А., Герасимович Т. В., Кудряшов А. А., Корнейчик В. Л.  
**Ускорение роста и развития регенерантов *Vaccinium corymbosum in vitro* с использованием установки освещения на основе светодиодов** // Весці НАН Беларусі. Сер. біял. навук. 2011. № 2. С. 114–117.

Приведены результаты испытаний созданного опытного образца светодиодной лампы и сравнительного анализа эффективности использования световых установок с разным типом ламп для стимуляции роста и развития регенерантов *Vaccinium corymbosum* L. *in vitro*. Установлено достоверное влияние типа используемых для освещения ламп на изменчивость признаков «высота регенерантов» (при  $P < 0,01$ ) и «коэффициент размножения» (при  $P < 0,05$ ).

Табл. 3. Библиогр. – 6 назв.