

ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ ВЫРАЩИВАНИЯ НА МОРФОГЕНЕЗ ПРОРОСТКОВ *CYMBIDIUM HYBRIDUM* В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO*

Л.В. Хоцкова, Г.Я. Степанюк, Т.П. Астафурова

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет», Томск, Россия, lyubava77kh@gmail.com

Аннотация. Изучено влияние питательных сред и спектрального состава света на морфогенез проростков *Cymbidium hybridum*, выращенных в условиях *in vitro*. Выявлено, что лучшей для роста и развития проростков, выращиваемых на белом свете, является питательная среда MS с добавлением 1 мг/л БАП и 0,5 мг/л НУК. Большинство морфометрических показателей проростков, выращиваемых на безгормональной среде MS, возрастают с увеличением длины волны света в смешанном светопотоке.

Ключевые слова: свет, питательные среды, регуляторы роста, морфогенез, *Cymbidium*

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-1414-1417

Последние десятилетия пристальное внимание сосредоточено на создании новых форм и сортов экономически важных растений и методах их ускоренного размножения. Представители семейства *Orchidaceae* Juss. являются важными хозяйственно-ценными растениями, занимающими лидерские позиции цветочной промышленности, широко используются как срезочная и горшечная культура [Xhee et al., 1999; Коломейцева, 2014]. Однако многочисленные представители орхидных характеризуются медленным циклом развития, вступая в генеративную фазу лишь на 7–10 год жизни, что затрудняет их размножение и выращивание традиционными методами, поэтому возникает необходимость регулирования их роста и развития. Методы ускоренного размножения орхидей в культуре *in vitro* с использованием питательных сред и искусственных источников освещения позволяют преодолеть эти трудности [Коломейцева, 2014].

Целью нашего исследования являлось выявление особенностей роста и развития проростков *Cymbidium hybridum* в культуре *in vitro* на начальных этапах онтогенеза в зависимости от состава питательной среды и света разного спектрального качества.

В работе использовали гибридные проростки субтропической орхидеи *Cymbidium Sw.* собственной репродукции. Методом искусственного опыления цветков материнских растений *C. hybridum* сортов ‘Showgirl’ и ‘Lilian Stewart’ из коллекционного фонда тропических и субтропических растений Сибирского ботанического сада Томского государственного университета нами были получены гибридные семена F1 *Cymbidium* ‘Showgirl’×*Cymbidium* ‘Lilian Stewart’ (далее – *C. hybridum* F1). Семенное размножение орхидей *in vitro* проводили по общепризнанной методике [Черевченко, Кушнир, 1986] с использованием питательной среды Мурасиге–Скуга (MS) [Murashige, Skoog, 1962] типовой, безгормональной, (M) и модифицированной нами добавлением в нее экзогенных регуляторов роста: среда MS с добавлением 1 мг/л 6-бензиламинопурина (БАП) и 0,5 мг/л α-нафтилуксусной кислоты (НУК) (C1) и среда MS с добавлением 0,5 мг/л кинетина и 0,5 мг/л НУК (C10) [Степанюк, Хоцкова, 2012].

Через 15 месяцев выращивания проростки *C. hybridum* F1 имели развитые побеги с 4–5 ярусами листьев и 2–3 корней, что являлось достаточным для их высадки *ex vitro* в нестерильные условия.

Источником света в нашем эксперименте служили белые и «цветные» люминесцентные лампы (Philips, 30 W). В работе было испытано четыре световых режима: контроль – белый свет «БС» и три опытных варианта – белый свет с

добавлением красного «БС+КС», синего «БС+СС» или зеленого света «БС+ЗС». Интенсивность света люминесцентных ламп во всех вариантах на уровне культуры протокормов была выровнена и составила 9,7 Вт/м², плотность потока квантов для всех ламп равнялась 30 $\mu\text{моль/м}^2\text{с}$. Культуры содержались при температуре 23±2 °С и относительной влажности 65%, 16-часовом фотопериоде. Статистический анализ морфометрических показателей проростков *C. hybridum* F1 был проведен с помощью пакета Statistica 8.0. В таблицах данные представлены как в виде средних арифметических ± стандартная ошибка, так и в процентном отношении к контролю. Достоверными считали различия с вероятностью ошибки p , не превышающей 0,05.

Сравнительное изучение влияния состава питательных сред на рост и развитие *C. hybridum* F1 показало (табл. 1), что на белом свету у проростков, растущих на среде MS с добавлением 0,5 мг/л кинетина и 0,5 мг/л НУК (С10), наблюдалось достоверное увеличение длины стебля и корня, в то время как средняя площадь листа, средняя суммарная площадь листьев растения (СПЛР) и сырая масса проростка изменялись незначительно. У проростков, выращенных на питательной среде MS с добавлением 1 мг/л БАП и 0,5 мг/л НУК (С1), наоборот, значительно увеличивалась длина корней и в большей степени возросли ростовые показатели листьев и сырой массы проростка, по сравнению с контролем и проростками, растущими на среде С10. Эти данные согласуются с результатами ряда исследователей, использующих подобные питательные среды для выращивания разных видов растений *in vitro* [Xhee et al., 1999].

Таблица 1.

Морфометрические параметры проростков *C. hybridum* F1, выращенных в условиях *in vitro* на разных питательных средах на белом свету (плотность потока квантов 30 $\mu\text{моль/м}^2\text{с}$)

Питат. среда	Длина стебля		Длина корня		Площадь листа		СПЛР		Сырая масса проростка	
	мм	%	мм	%	мм ²	%	мм ²	%	г	%
М	11,75± 1,58	100	7,63± 1,38	100	41,07± 3,63	100	212,19± 10,28	100	0,11± 0,002	100
С1	13,56± 1,95	115	13,71± 2,10	180	49,12± 4,57	120	251,08± 12,35	118	0,13± 0,003	118
С10	19,45± 1,50	166	8,83± 1,64	116	45,32± 3,33	110	226,59± 9,19	107	0,12± 0,002	109

Таким образом, нами выявлено, что питательная среда Мурасиге–Скуга с добавлением 1 мг/л БАП и 0,5 мг/л НУК для проростков *C. hybridum* F1, выращиваемых на белом свету, является наиболее оптимальной.

Известно, что большое значение для роста и развития растений в условиях *in vitro* имеет интенсивность и спектральный состав света [Shin et al., 2008; Namada et al., 2010; Soares et al., 2010; Mengxi et al., 2011]. В данном исследовании нами обнаружено, что белый свет, смешанный со светом «цветных» ламп, по-разному влиял на рост и развитие проростков *C. hybridum* F1, выращиваемых на типовой питательной среде Мурасиге–Скуга (табл. 2).

В большей степени на увеличение длины стебля проростков *C. hybridum* F1 оказывал белый свет, смешанный с зеленым или красным светом (соответственно, на 70% и 13% выше контроля), в то время как белый свет с добавлением синего приводил к уменьшению длины стебля. Длина корня проростков практически не отличалась от контроля при добавлении синего света к белому, в то время как при добавлении к белому свету зеленого и красного света наблюдалось увеличение длины корня, соответственно, на 85% и 193% выше контроля. Средняя площадь листа, суммарная

площадь листьев проростка и его сырая масса также увеличивались с увеличением длины волны. При этом максимальное увеличение данных морфометрических показателей получено на «белом+красном» свете, по сравнению с контролем. Таким образом, при выращивании проростков *C. hybridum* F1 на типовой питательной среде Мурасиге–Скуга морфометрические показатели корня, листа и сырая масса проростка возрастали с увеличением длины волны света, в то время как длина стебля была больше на белом свете, смешанным с зеленым светом. Полученные результаты исследования подтверждают закономерность, что усиление доли длинноволнового участка спектра в смешанном светопотоке увеличивает линейные размеры и площадь ассимилирующей поверхности растений, которая была выявлена и другими исследователями на разных видах растений [Appelgren, 1991; Карначук, Головацкая, 1998; Головацкая, Дорофеев и др., 2013].

Таблица 2.

Морфометрические параметры проростков *C. hybridum* F1, выращенных в условиях *in vitro* на типовой питательной среде MS на свету разного спектрального состава (плотность потока квантов 30 $\mu\text{моль}/\text{м}^2\text{с}$)

Свет	Длина стебля		Длина корня		Площадь листа		СПЛР		Сырая масса проростка	
	мм	%	мм	%	мм^2	%	мм^2	%	г	%
БС	11,75± 1,58	100	7,63± 1,38	100	41,07± 4,63	100	212,19± 10,28	100	0,11± 0,002	100
БС+СС	11,50± 0,56	98	7,64± 1,68	100	43,39± 3,84	106	227,80± 11,21	107	0,15± 0,002	136
БС+ЗС	19,92± 1,90	170	14,11± 1,97	185	49,47± 3,47	120	288,57± 12,52	136	0,20± 0,005	182
БС+КС	13,25± 0,66	113	22,33± 2,56	293	61,95± 5,91	151	371,67± 14,46	175	0,22± 0,004	200

Таким образом, полученные результаты показали зависимость роста и развития проростков *Cymbidium hybridum* в культуре *in vitro* от состава питательной среды и света разного спектрального состава на начальных этапах онтогенеза.

Статья написана в рамках научного проекта (№ 8.1.29.2018), выполненного при поддержке Программы повышения конкурентоспособности Томского государственного университета.

Литература

Головацкая И.Ф., Дорофеев В.Ю., Медведева Ю.В., Никифоров П.Е., Карначук Р.А. Оптимизация условий освещения при культивировании микроклонов *Solanum tuberosum* L. сорта Луговской *in vitro* // Вестник ТГУ. Биология. – 2013. – № 4. – С. 133–144.

Карначук Р.А., Головацкая И.Ф. Гормональный статус, рост и формирование растений, выращенных на свету разного спектрального состава // Физиология растений. – 1998. – Т. 45, № 6. – С. 925–934.

Катаева Н.В., Аветисов А.А. Клональное размножение растений в культуре ткани / В кн.: Культура клеток растений. – М.: Наука, 1981. – С. 137–149.

Коломейцева Г.Л. Крупноцветковые орхидеи в коллекции главного ботанического сада им. Н.В. Цицина РАН (*Cattleya*, *Cymbidium*, *Dendrobium*, *Paphiopedilum*, *Phalaenopsis*). – М.: ГЕОС, 2014. – 296 с.

Степанюк Г.Я., Хоцкова Л.В. Биологические особенности видов рода *Phalaenopsis* Blume при выращивании в оранжереях Сибирского ботанического сада // Вестник ТГУ. Биология. – 2012. – № 4. – С. 105–117.

Черевченко Т.М., Кушнир Г.П. Орхидеи в культуре. – Киев: Наук. думка, 1986. – 200 с.

Appelgren M. Effects of light quality on stem elongation of *Pelargonium in vitro* // *Scientia Horticulturae*. – 1991. – V. 45, Is. 3–4. – P. 345–351.

Hamada K., Shimasaki K., Ogata T., Nishimura Y., Nakamura K., Oyama-Egawa H., and Yoshida K. Effects of spectral composition conversion film and plant growth regulators on proliferation of *Cymbidium* protocorm-like body cultured *in vitro* // *Environment Control in Biology*. – 2010. – V. 48. – P. 127–132.

Mengxi L., Zhigang X., Yang Y., Yijie F. Effects of different spectral lights on *Oncidium* PLBs induction, proliferation, and plant regeneration (Article) // *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. – 2011. – V. 106, Is. 1. – P. 1–10.

Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture // *Physiologia Plantarum*. – 1962. – V. 15, No. 3. – P. 473–497.

Shin K.S., Murthy H.N., Heo J.W., Hahn E.J., Paek K.Y. The effect of light quality on the growth and development of *in vitro* cultured *Doritaenopsis* plants // *Acta Physiol. Plant* – 2008. – V. 30. – P. 339–343.

Soares J.D.R., Pasqual M., Rodrigues F.A., and de Araujo A.G. Etiolation and artificial light in native and hybrid orchids under *in vitro* cultivation // *Ciencia Rural*. – 2010. – V. 40. – P. 1941–1947.

Xhee L.L.-H., Neok C.K.-L., Mui H.K.-W., Lek K.Q.-P. Orchid tissue culture in the gardens // *Garden Wise*. – 1999. – V. 13. – P. 17–19.

INFLUENCE OF GROWTH CONDITIONS ON MORPHOGENESIS OF *CYMBIDIUM HYBRIDUM* SEEDLINGS CULTURED *IN VITRO*

L.V. Khotskova, G.Ya. Stepanyuk, T.P. Astafurova

Tomsk State University, Tomsk, Russia, lyubava77kh@gmail.com

Abstract. The effect of the spectral light composition and nutrient media on the morphogenesis of *Cymbidium hybridum* seedlings cultured *in vitro* was studied. It was found that the best for the growth and development of seedlings grown on white light was the MS nutrient medium with the addition of 1 mg l⁻¹ BAP and 0.5 mg l⁻¹ NAA. Most of the morphometric parameters of seedlings grown on a non-hormonal medium MS, increase with increasing wavelength of light in a mixed light flux.

Keywords: light, nutrient media, growth regulators, morphogenesis, *Cymbidium*