М.Ю. Шпак, М.О. Моисеева, Т.В. Никонович
УО «Белорусская государственная сельскохозяйственная академия»

УДК 582.572.226:66.085.1:535.62

ВЛИЯНИЕ СПЕКТРАЛЬНОГО СОСТАВА СВЕТА НА ПРОЦЕСС РЕГЕНЕРАЦИИ ЛИЛИИ МАРТАГОН В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO*

Резюме: *В статье представлены результаты исследований по влиянию спектрального состава света на процесс регенерации лилии мартагон в культуре in vitro.*
Ключевые слова: *спектральный состав света, Lilium martagon L., регенерация, микроклональное размножение.*
Summary: *The results of investigations are presented on the effects of various spectral structure of light on lily martagon regeneration cultivated in vitro.*
Key words: *spectral structure of light, Lilium martagon L., regeneration, microclonal propergation.*

Изменение спектрального состава света в растительном сообществе, в результате поглощения и отражения фотосинтетически активного излучения, оказывает значительное влияние на рост и развитие растений. В литературе имеется большое количество данных о влиянии спектрального состава света на морфогенез, метаболизм, скорость фотосинтеза и другие физиологически активные процессы. Качественный состав света принято выражать по содержанию в нем тех лучей, которые оказывают наибольшее физиологическое воздействие на растения. Из всего спектра фотосинтетически активной радиации наиболее активными считаются красный и синий свет.

Культура *in vitro* является удобной моделью для изучения влияния различного спектрального состава света на биологические объекты [3].

М.Н. Поляковой экспериментально установлено, что наилучший регенерационный потенциал узколистного люпина в культуре *in vitro* наблюдался при воздействии на экспланты красных светодиодов, наибольшей каллусообразующей способностью отличались растения культивируемые под синими и красными светодиодами, а также в темноте. Белые светодиоды оказывали слабое влияние на образование каллуса у узколистного люпина [4].

Л.В. Алексеенко экспериментально установлено, что культивирование различных сортов земляники под лампами синего и красного света способствовало более интенсивному укоренению и лучшему развитию корневой системы растений [1].

Исследования А.Л. Немойкиной по влиянию качественного состава света на культивирование побегов юкки слоновой в культуре *in vitro*, показали, что красный свет вызывал быстрое укоренение растений юкки, а синий спектр света – тормозил рост листьев и корней в длину, но тем самым активировал пазушное размножение побега [3].

Наблюдаемые различными авторами противоречивые результаты, по воздействию тех или иных участков спектра, на морфологические реакции различных растений в культуре ткани могут быть объяснены, в первую очередь, физиологическими особенностями растений, а также степенью дифференциации тканей и органов.

Целью нашей работы являлось изучение влияния разного спектрального состава света на процесс регенерации *Lilium martagon* в культуре *in vitro*.

Лилия кудреватая (*Lilium martagon* L.) – многолетнее травянистое растение, ареал которого простирается от Евразии до Дальнего Востока. На территории республики Беларусь встречается спорадически, наиболее редко в Могилевской и

Витебской областях. Она является потенциально уязвимым видом и относится к четвёртой категории национального природоохранного статуса. С 1964 г. *Lilium martagon* L. включена в список охраняемых растений и в 1-е, 2-е, 3-е издания Красной Книги Республики Беларусь (1981, 1993, 2005 гг.) [2].

Большинство сортов лилий имеют очень низкий коэффициент размножения: делением гнезда луковиц за 2-3 года можно получить 2-4, чешуями – 50-60 новых луковиц. Клональное микроразмножение позволяет получить высококачественный посадочный материал в короткие сроки. Этот метод дает возможность более эффективно и быстро размножать растения вне зависимости от погодных условий и сезона. Из одной луковицы можно получит до 25 тыс. генетически однородных растений в год.

Исследования проводились на основании классических методов клонального микроразмножения, с применением методов культуры ткани *in vitro* [6].

В качестве эксплантов на первом этапе микроразмножения использовались луковичные чешуи. Здоровые, без явных механических повреждений, они отделялись от донца луковицы, тщательно промывались водой и в течение 1,5 часа обрабатывались раствором $KMnO_4$. Основная стерилизация проводилась 75 % спиртом в экспозиции 1 мин., а затем экспланты выдерживались 10 мин. в 0,1 % растворе сулемы.

После стерилизации чешуи в условиях ламинар-бокса ополаскивались автоклавированной дистиллированной водой. Апикальная часть чешуй, в связи с низкой способностью к регенерации луковичек, для размножения не использовалась. Остальная часть чешуй, с помощью скальпеля, делилась на экспланты размером около 1,5 $см^2$ и высаживалась в пробирки на питательную среду Мурасиге-Скуга, дополненную α-нафтилуксусной кислотой (НУК) в концентрации 1,0 мг/л [5].

Экспланты культивировались по одному в пробирках под лампой дневного света марки OSRAM L 36W/765 Cool Daylight (с длиной волны – 765 нм). Этот вариант был принят в качестве контрольного (БС); лампой синего света марки ЭТП T8/40W G13 BLUE 220W (с длиной волны – 470 нм) (ГС) и лампой красного света марки ЭТП T8/40W G13 YELLOW 220W (с длиной волны – 630 нм) (КС) при температуре 22-24 °С, 16-часовом фотопериоде. На каждый вариант высаживалось по 30 эксплантов. Через 9 недель, с момента посадки, оценивались следующие показатели: регенерационная способность (отношение числа регенерировавших эксплантов к общему количеству высаженных чешуй, умноженное в процентах), среднее количество и длина корней, среднее количество и диаметр луковиц, среднее количество и длина чешуй.

Свет разного спектрального состава вызывал заметные изменения в росте и развитии *Lilium martagon* в культуре *in vitro* (табл.).

Регенерационная способность контрольной группы и эксплантов, культивируемых под лампой ГС, была максимальной – 100 %, КС значительно подавлял регенерационный процесс, и процент регенерировавших эксплантов *Lilium martagon* составил 80.

В ходе эксперимента было установлено, что количество сформировавшихся луковиц, для каждого варианта освещения, обратно пропорционально их диаметру.

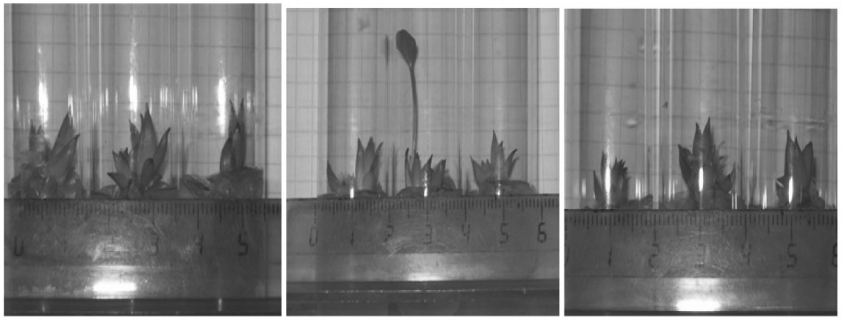
Так, наибольшее количество луковиц было сформировано при контрольном освещении (1,5 шт.), однако их диаметр был наименьшим (0,3 мм). Голубой свет способствовал формированию луковиц со средним диаметром 0,4 мм, при их среднем количестве – 1,3 шт. При культивировании растений под красным освещением было образовано наименьшее среднее количество луковиц (1,0 шт.), что в 1,5 раза меньше, чем в контрольном варианте, но которые имели максимальный размер (0,5 мм), что в 1,7 раза больше, чем в контроле (рис. 1).

Таблица

Влияние спектрального состава света на процесс регенерации эксплантов лилии кудреватой (*Lilium martagon*) в культуре *in vitro*

Вариант освещения	Всего эксплантов, шт.	Регенерационная способность, %	Кол-во луковиц на эксплант, шт.	Диаметр луковиц, мм	Кол-во чешуй в луковице, шт.	Длина чешуи, мм	Кол-во корней на эксплант, шт.	Средняя длина корней, мм
Контроль БС	30	100	1,5	0,3	4,9	0,6	10,0	2,0
ГС	30	100	1,3	0,4	5,0	0,56	10,5	0,8
КС	30	80	1,0	0,5	6,0	0,5	9,0	0,5

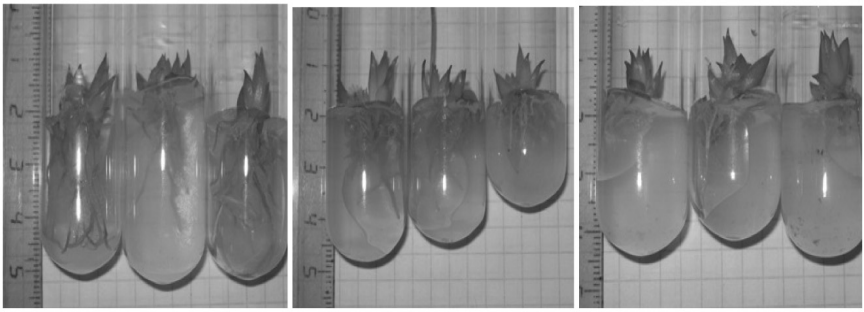
Такая же тенденция характерна для показателей количества и длины чешуй в луковице. Наибольшее количество луковичных чешуй было сформировано при красном освещении – 6,0 шт., что в 1,2 раза больше, чем в контрольном варианте, средняя длина которых в 1,2 раза была меньше, чем в контроле (0,5 мм). Экспланты *Lilium martagon* при голубом освещении в среднем сформировали по 5,0 шт. чешуй длиной 0,56 мм. В контрольном варианте было образовано наименьшее количество чешуй в луковице (4,9 шт.), которые имели максимальную длину – 0,6 мм.



а) БС (контроль) б) ГС в) КС

Рис. 1. Развитие луковиц *Lilium martagon* в условиях *in vitro* при разном спектральном составе света

Многие физиологические ответные реакции растений регулируются голубым светом. В нашем эксперименте он способствовал росту наибольшего количества корней лилии *Lilium martagon* в культуре *in vitro* (10,5 шт.). Однако их длина не превышала 0,8 мм, что в 2,5 раза ниже, чем в контрольном варианте (2,0 мм). При освещении лампами красного света, этот показатель был равен 0,5 мм. Среднее количество корней, образовавшихся под воздействием красного освещения, было равным 9,0 шт., что в 1,1 раза ниже, чем в контрольной группе (10,0 шт.) (рис. 2).



а) БС (контроль) б) ГС в) КС

Рис. 2. Развитие корневой системы у растений-регенерантов *Lilium martagon* при разном спектральном составе света

Таким образом, в ходе проведенного эксперимента, было выявлено, что качество света влияет на рост и развитие эксплантов лилии кудреватой (*Lilium martagon*) в культуре *in vitro*.

Установлено, что регенерационная способность контрольной группы и эксплантов, культивируемых под лампой голубого света, была максимальной. Красный свет значительно подавлял регенерационный процесс *Lilium martagon* в культуре *in vitro*.

Наибольшее количество луковиц *Lilium martagon* в культуре *in vitro* было сформировано при контрольном варианте освещения, однако их диаметр был наименьшим. При культивировании растений *Lilium martagon* под красным спектром света было образовано наименьшее среднее количество луковиц максимального диаметра.

При культивировании эксплантов *Lilium martagon* под лампой красного света было сформировано наибольшее количество луковичных чешуй минимальной длины. При контрольном варианте освещения было образовано наименьшее количество чешуй максимальной длины.

Голубой свет способствовал росту наибольшего количества корней *Lilium martagon* в культуре *in vitro*. Свет красной лампы ингибировал процесс ризогенеза *Lilium martagon*.

Литература

1. Алексеенко Л.В., Белякова Л.В., Высоцкий В.А. Влияние спектрального состава света на биометрические показатели эксплантов земляники в культуре *in vitro* // Плодоводство и ягодоводство России: Сб. научн. Работ, 2009. – Т. XXII. – Ч. 1. – С. 183-188.

2. Красная книга Республики Беларусь: Редкие и находящиеся под угрозой исчезновения виды дикорастущих растений. Гл. редколлегия: Л.И. Хоружик, Л.М. Сущеня, В.И. Парфенов и др. – Минск: БелЭн, 2005. – 213 с.

3. Логинова (Немойкина) А.Л. Влияние света разного спектрального состава на морфогенез Yucca elephantipes при культивировании *in vitro* // Матер. XXXIX Межд.й студенческой научной конф. «Студент и научно-технический прогресс». – Новосибирск, 2001. – С. 74.

4. Полякова М.Н. Влияние света различного спектрального состава нарегенерационный потенциал люпина в культуре *in vitro* // Актуальные задачи современной науки: матер. Межд. науч. конф. молодых ученых, апрель 2009 г. – М.: ВНИИ сельскохозяйственной биотехнологии РАСХН, 2009. – С. 163-164.

5. Французёнок В.В. Совершенствование методов микроклонального размножения лилий: Дисс ... канд. с.- х. наук: 06.01.05. – селекция и семеноводство – Горки, 1997. – 133 с.

6. Meins F., Lutz J. Tissue-specific variation in the cytokinin habituation of cultured tobacco cells // Differentiation, 1979. – №1. – P. 1-6.