4. Hein A.M. Neuroinflammation and cognitive dysfunction in chronic disease and aging / Hein A.M., O'Banion M.K. // J Neuroimmune Pharmacol. 2012 Mar;7(1):3-6. doi: 10.1007/s11481-011-9340-1.
5. Grummt I. A metabolic throttle regulates the epigenetic state of rDNA / Grummt I., Ladurner A.G. // Cell. 2008 May 16;133(4):577-80. doi: 10.1016/j.cell.2008.04.026
6. Hannan K.M. Dysregulation of RNA polymerase I transcription during disease / Hannan K.M., Sanij E., Rothblum L.I., Hannan R.D., Pearson R.B. // Biochim Biophys Acta. – 2013. – V. 1829(3-4). – P.342-360. doi: 10.1016/j.bbagr.2012.10.014.
7. Malinovskaya E.M. Copy Number of Human Ribosomal Genes With Aging: Unchanged Mean, but Narrowed Range and Decreased Variance in Elderly / Malinovskaya E.M., Ershova E.S., Golimbet V.E., Porokhovnik L.N., Lyapunova N.A., Kutsev S.I., Veiko N.N., Kostyuk S.V. // Group. Front Genet. 2018 Aug 7;9:306. doi: 10.3389/fgene.2018.00306. eCollection 2018.

Хуссиен Мусаб

Влияние регуляторов роста на клональное микроразмножение *Cymbidium erythrostylum* Rolfe

*ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева
(Россия, Москва)*

doi: 10.18411/trnio-10-2021-108

Аннотация

Цимбидиум эритростилум - один из самых красивых представителей рода цимбидиума, который используется в качестве комнатных растений из-за своего уникального строения цветка и раннего цветения. Семенное размножение цимбидиума в природе ограничено. Клональное микроразмножение является эффективным решением этой проблемы. В работе было изучено влияния регуляторов роста растений на размножение *C. erythrostylum* в культуре *in vitro*. В качестве объектов исследования использовали протосомы *C. erythrostylum*, полученные из семян пророщенных ассимбиотическим методом на питательной среде ½ МС с добавлением 1,0 мг / л 2iP. На этапе собственно микроразмножения число образовавшихся протосом на питательной среде, содержащей 0,8 мг/л 6-БАП было больше (3,8±0,68) по сравнению с другими вариантами. При последующем культивировании на питательной среде ½ МС, содержащей 2,0 мг/л 6-БАП и 0,5 мг/л НУК, были получены наибольшее число побегов (4,00±0,99).

Ключевые слова: *Cymbidium erythrostylum*, *in vitro*, протосомы, регуляторы роста.

Abstract

Cymbidium erythrostylum Rolfe is one of the most beautiful species of the genus *cymbidium* which is used as an indoor plant because of its unique flower structure and early flowering. Propagation of *Cymbidium* by seeds in nature is limited. Clonal micropropagation is an effective solution to this problem. In this study was studied the effects of plant growth regulators on the propagation of *C. erythrostylum* in vitro. We used protosoms obtained by the asymbiotic germination of seed on ½ MS medium supplemented with 1.0mg/l 2iP as objects of study. During the multiplication stage, the number of formed protosoms on a culture medium containing 0.8 mg / L 6-BAP was higher (3.8±0,68) compared with other variants. During the subsequent cultivation on ½ MS medium supplemented with 2.0 mg / l 6-BAP and 0.5 mg / l NAA, which was the best culture medium for growth and development of seedling, were obtained the highest numbers of shoots (4.00±0,99).

Keywords: *Cymbidium erythrostylum*, *in vitro*, protosoms, plant growth regulators.

Род цимбидиум (*Cymbidium* Swartz) относится к семейству орхидных (Orchidaceae), который включает около 50 видов [1]. Представители рода *Cymbidium* занимают первое место среди орхидей по производству срезанных цветков из-за красивых соцветий. Они популярны как в цветочных композициях, так и в комнатном озеленении [2].

Cymbidium erythrostylum Rolfe один из ценных представителей рода *Cymbidium*, отличающийся ранним цветением и уникальным строением цветка [3]. Растения этого вида цветут крупными кристально белыми цветками с желтой губой, кончик которой окрашен в различные оттенки розового, фиолетового или красного. Ширина лепестков больше, чем у многих других видов цимбидиума. Цветки собраны в приподнятые соцветия по 6-10 шт. Листья длинные, линейные, около 50 см длиной и 1,5 см шириной [4].

Некоторые виды орхидей относятся к сложно размножаемым растениям [5]. Клональное микроразмножение является важным инструментом как в научных исследованиях, так и в коммерческом производстве. Это эффективный способ быстрого получения безвирусных растений орхидеи, благодаря высокому коэффициенту размножения, сокращению репродуктивного цикла, производству посадочного материала в течение всего года и т. д. [6].

Асимбиотический посев семян *in vitro* является эффективным способом для размножения ценных видов орхидей и их сохранения [7]. Характерной особенностью асимбиотического прорастания орхидей *in vitro* является образование протокормов, содержащих зачатки листьев и неразвитый стебель. В дальнейшем они развиваются в проростки с корнями, полноценными листьями и посеудобульбами [8].

В ходе изучения научной литературы по клональному микроразмножению представителей рода *Cymbidium* были найдены работы, устанавливающие влияние регуляторов роста, минеральных составов питательных сред, источников углеводов, витаминов, а также использования органических добавок на рост, коэффициент размножения, и укоренение видов цимбидиума в культуре *in vitro*. Стоит отметить, что на сегодняшний день проведено мало исследований, посвященных размножению *C. erythrostylum* [9,10,11].

Цель данного исследования состоит в выявлении особенностей размножения *in vitro* цимбидиума эритростилума.

Объекты и методы исследования

Исследование было проведено в лаборатории биотехнологии растений ФГБУН ГБС им. Н. В. Цицина РАН. В качестве объектов исследования были использованы протосомы *C. erythrostylum*, полученные из семян, пророщенных асимбиотическим методом на питательной среде 1/2 MS (Murashige and Skoog, 1962), дополненной 2-изопентениладенином 2ip в концентрации 1,0 мг/л.

На этапе собственно микроразмножения использовали питательную среду 1/2 MS, содержащую 1,0 г/л древесного угля с добавлением 6-бензиламинопурина (6-БАП) в разных концентрациях (0,5, 0,8 и 1,0 мг/л). В качестве контроля была использована питательная среда без добавления гормонов. На данном этапе было подсчитано число образовавшихся новых протосомов.

На этапе роста и развития проростков использовали питательную среду 1/2 MS с различными цитокининами: кинетин (КИН) и 6-БАП в концентрациях 1,0 и 2,0 мг/л, дополненной 0,5 мг/л нафталинуксусной кислоты (НУК) и 1,0 г/л древесного угля. На этом этапе измеряли и подсчитали следующие показатели: длина проростков; число побегов; листьев; корней и длина корней.

Во время эксперимента растительный материал культивировали по 5 шт. в каждой банке в 7 повторностях. Условия культивирования: температура 25 – 27°C, освещение 1500 – 2000 лк, 16- часовая фотопериод.

Статистический анализ полученных данных был проведен с использованием программного обеспечения Microsoft Office Excel 2016.

Результаты и обсуждение исследований

Процесс образования новых протосомов является важным способом для клонального микроразмножения орхидей [12]. При культивировании протосомов на питательных средах наблюдали образование новых протосомов, которое зависело от концентрации 6-БАП. Число образовавшихся протосомов на питательной среде, содержащей 0,8 мг/л 6-БАП, было больше ($3,8 \pm 0,68$) по сравнению с другими вариантами (рис 1).

Рисунок 1. Влияние концентрации 6-БАП на число образовавшихся протосомов *C. erythrostylum* после 60 суток культивирования ($HCP_{05} 0,68$)

Это согласуется с результатами других исследований, где сообщалось о влиянии 6-БАП на размножение, образование и развитие новых протосомов у представителей рода *Cymbidium* *C. giganteum* Wall. ex Lindl, *C. aloifolium* (L.) Sw. [2,13].

В процессе исследования было установлено влияние концентраций регуляторов роста на морфометрические показатели проростков *C. erythrostylum* (табл. 1).

Таблица 1

Влияние концентрации регуляторов роста на морфометрические показатели проростков *C. erythrostylum* после 120 суток культивирования

Концентрация регуляторов роста, мг/л	1,0 6-БАП +0,5 НУК	2,0 6-БАП +0,5 НУК	1,0 КИН +0,5 НУК	2,0 КИН +0,5 НУК	HCP_{05}
Высота растения, см	2,22	3,19	3,00	2,09	0,59
Число побегов, шт.	1,86	4,00	2,8	1,8	0,99
Число листьев, шт.	2,59	4,50	3,18	2,27	0,45
Число корней, шт.	1,31	1,93	1,87	1,37	0,43
Длина корней, см	1,00	1,59	1,31	0,83	0,37

Наибольшее число побегов ($4,00 \pm 0,99$), было получено на питательной среде $\frac{1}{2}$ MS с добавлением 2 мг/л 6-БАП и 0,5 мг/л НУК (рис. 2). Это соответствует результатам других исследований, которые доказали, что сочетание НУК и 6-БАП является наиболее подходящим выбором для клонального микроразмножения видов цимбидиума [14].

Рисунок 2. Влияние регуляторов роста на число побегов и листьев проростков *C. erythrostylum* после 120 суток культивирования

Заключение

На основании данного исследования можно сделать следующие выводы: клональное микроразмножение является одним из способов сохранения редких видов цимбидиума. Была подобрана оптимальная питательная среда (1/2 MS, дополненная 1,0 г/л древесного угля и 0,8 6-БАП) для получения большого количества новых протосомов цимбидиума эритростилума. Было выявлено, что гормональный состав питательной среды влиял на развитие проростков. Питательная среда, содержащая 2,0 мг/л 6-БАП и 0,5 мг/л НУК, способствовала образованию новых побегов ($4,00 \pm 0,99$).

1. Yang, J. B., Tang, M., Li, H. T., Zhang, Z. R., & Li, D. Z. Complete chloroplast genome of the genus *Cymbidium*: lights into the species identification, phylogenetic implications and population genetic analyses. BMC evolutionary biology. 2013. Vol. 13(1). pp: 1-12.
2. Regmi, T., Pradhan, S., & Pant, B. In vitro mass propagation of an epiphytic orchid, *Cymbidium aloifolium* (L.) Sw., through protocorm culture. Biotechnology Journal International. 2017. Vol. 19(1). pp: 1-6.
3. White, J. 'Cymbidium Chatter', *Cymbidium* Society of Victoria. 2021. Vol. 2(30). pp: 1-25.
4. Aoyama, M. Karyomorphological studies in *Cymbidium* and its allied genera. Bull. Hiroshima Botanical Garden. 1989. Vol. 11, pp: 55-57.
5. DeYoung, G., Rowe, B., & Runkle, E. Propagating orchids. American Orchid Society. 2011. pp: 486-489.
6. Tao, J., Yu, L., Kong, F., & Zhao, D. Effects of plant growth regulators on in vitro propagation of *Cymbidium faberi* Rolfe. African Journal of Biotechnology. 2011. Vol. 10(69). pp: 15639-15646.
7. Mohanty, P., Paul, S., Das, M. C., Kumaria, S., & Tandon, P. A simple and efficient protocol for the mass propagation of *Cymbidium mastersii*: an ornamental orchid of Northeast India. AoB PLANTS, 2012. pls 023. doi:10.1093/aobpla/pls023.
8. Cardoso, J. C., Zanello, C. A., & Chen, J. T. An overview of orchid protocorm-like bodies: Mass propagation, biotechnology, molecular aspects, and breeding. International journal of molecular sciences. 2020. Vol. 21(3). pp: 985.
9. Potshangbam, N., & Nirmala, C. In vitro rapid propagation of *Cymbidium aloifolium* (L.) Sw.: a medicinally important orchid via seed culture. Journal of Biological Sciences. 2011. Vol. 11(3). pp: 254-260.
10. Вельмийкин, И. Н., Мокшин, Е. В., & Лукаткин, А. С. Влияние регуляторов роста на размножение и рост побегов *Cymbidium hybridum hort. in vitro*. Вестник Нижегородского университета им. НИ Лобачевского. 2013. № 3(1). с. 133-137.
11. Philip Robinson, J., Jyoti, P. K., Sebastianraj, J., & Suriya, K. In vitro seed germination of *Cymbidium aloifolium* (L.) Sw., a potential medicinal Orchid from Eastern Ghats of Tamil Nadu, India. Journal of Plant Biotechnology. 2017. Vol. 44(3). pp: 343-348.
12. Trunjaruen, A., & Taratima, W. An effective micropropagation of *Cymbidium aloifolium* (L.) Sw. Thai Journal of Botany. 2018. Vol. 10(1). pp: 77-91.
13. Ghosh, A., Hossain, M. M., & Sharma, M. Mass propagation of *Cymbidium giganteum* Wall. ex Lindl. using in vitro seedlings. 2014. Vol. 52. pp: 905-911.
14. Pradhan, S., Tiruwa, B. L., Subedee, B. R., & Pant, B. Micropropagation of *Cymbidium aloifolium* (L.) Sw., a medicinal orchid by artificial seeds technology. Journal of Natural History Museum. 2014. Vol. 28. pp: 42-48.