

ИНДУКЦИЯ ОНТОМОРФОГЕНЕТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ НА ТКАНЯХ ЭКСПЛАНТОВ ФАЛЕНОПСИСА ГИБРИДНОГО В КУЛЬТУРЕ IN VITRO

А.С. Карунос, магистрант

Научный руководитель – С.М. Ленивко, к.б.н., доцент

Брестский государственный университет имени А.С. Пушкина

Орхидные относятся к крупнейшему семейству однодольных растений, которое отличается высокими уровнями специализации и стенопопности, что обуславливает их повышенную уязвимость при изменении условий обитания. По состоянию на 2021 г. 1855 видов орхидных было внесено в IUCN Red List (International Union for Conservation of Nature's Red List, 1964) [1]. Особую группу орхидных составляют селекционные формы, обладающие высокой декоративной ценностью и востребованностью на современном рынке, а гибридные растения фаленопсиса в наибольшей степени [2].

Цель работы – произвести оценку интенсивности морфогенного отклика на эксплантах фаленопсиса гибридного (*Phalaenopsis hybridum* hort.) различного морфо-анатомического генезиса по частоте прямого соматического эмбриогенеза (СЭ), индуцируемого различными экзогенными синтетическими морфорегуляторами, а также изучить условия способствующие, конверсии СЭ в протокормоподобные тела (ПТ).

Материалы и методы. Листья и фрагменты корня асептических сеянцев фаленопсиса гибридного были использованы в качестве эксплантов. Сформированные ювенильные растения фаленопсиса гибридного из коллекции пробирочных растений кафедры зоологии и генетики БрГУ имени А.С. Пушкина имели по три листа и 2–3 корня. Корень был разделен на три фрагмента – базальную, среднюю и апикальную части. Пассаж эксплантов проводился на модифицированную питательную среду Мурасиге и Скуга, содержащую макро- и микроэлементы в половинной концентрации. Первый эксперимент включал пять вариантов питательных сред, дополненных фитогормонами 6-бензиламинопурином (БА), индолилмасляной кислотой (ИМК) и тидиазуроном (ТДЗ) в следующих концентрациях (мг/л): 0,5 БА + 0,01 ИМК (1-й вариант); 0,5 БА + 0,1 ИМК (2-й вариант); 1,5 ТДЗ (3-й вариант); 0,5 БА (4-й вариант); 0,1 БА + 0,01 ИМК (5-й вариант). В каждом варианте опыта было заложено по две повторности. Индукция СЭ проводилась при постоянной температуре 24 °С. После 30 дней культивирования экспланты с 1-го и 3-го вариантов питательных сред были пассированы на среды с добавлением картофельного экстракта в количестве 20 % от объема среды, в варианте А без добавления фитогормонов, в варианте Б с добавлением 1 мг/л ТДЗ.

Во втором эксперименте частота морфогенетической реакции также фиксировалась на 30 день с помощью бинокулярного микроскопа МБС-10. Статистические расчеты проводились при помощи MS Excel. Уровень достоверной значимости различий между вариантами эксперимента оценивался при $P \leq 0,05$.

Результаты исследований. Наибольшая частота СЭ в 1-ом варианте эксперимента отмечена у апикального листа (55,6 %), при этом формирование эмбриоидов не было отмечено у базального листа (рисунок). Существенной разницы между типами эксплантов по показателям СЭ не наблюдалось.

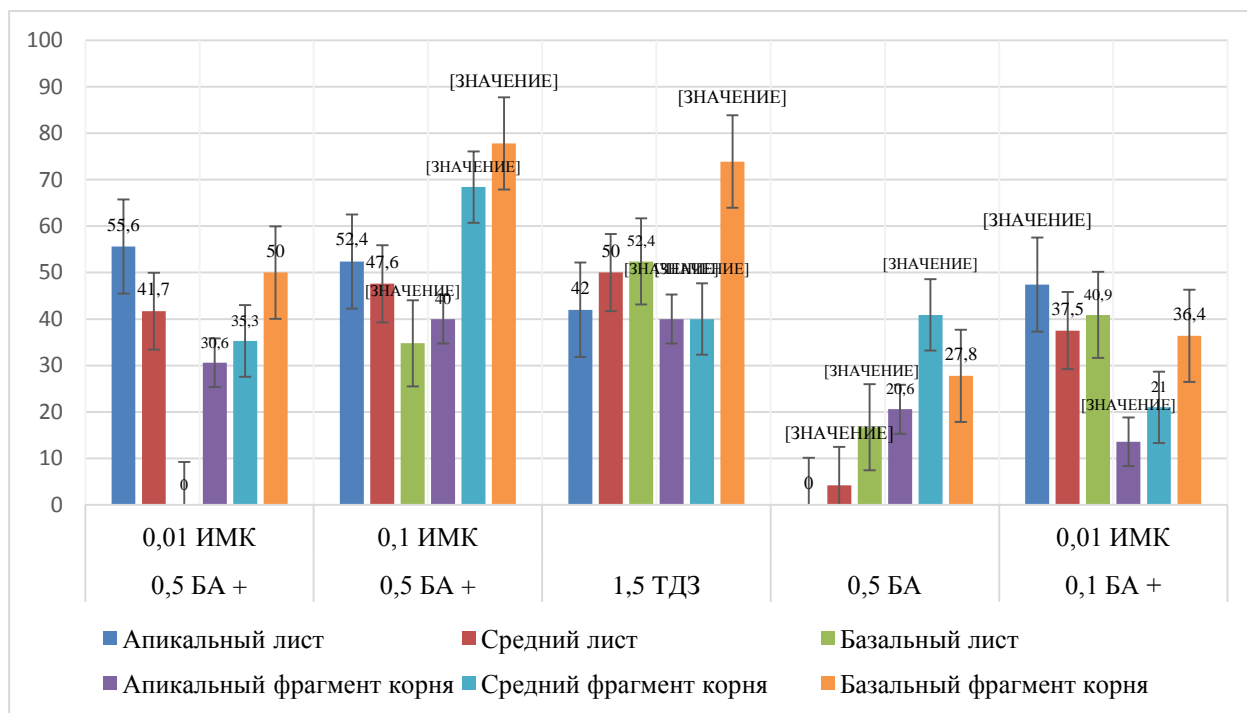


Рисунок – Частота формирования эмбриоидов (%) в различных вариантах гормональной регуляции у эксплантов *Phalaenopsis hybridum hort.*

Во 2-ом варианте эксперимента наибольшая частота СЭ зафиксирована у базального фрагмента корня (77,8 %), которая существенно отличалась от данного показателя у апикального фрагмента корня (40,0 %) и базального листа (34,8 %). В 3-ем варианте эксперимента существенных различий по регистрируемому показателю в пределах листовых эксплантов не установлено из-за небольшой вариации средних значений. Наибольшая частота СЭ выявлена у базального фрагмента корня (73,9 %), которая существенно превышала данный показатель у апикального фрагмента (40,0 %). Наибольшая изменчивость полученных данных наблюдалась в 4-ом варианте эксперимента. Так частота СЭ варьировала от 4,2 % у среднего листа до 40,9 % у среднего фрагмента корня, а у апикального листа формирование эмбриоидов не было отмечено. В 5-ом варианте эксперимента было отмечена существенная разница между эксплантами представленными апикальным листом с наибольшей частотой СЭ (47,4 %) и апикальным фрагментом корня, у которого зафиксирована наименьшее значение частоты (13,6 %). Проведенный двухфакторный дисперсионный анализ подтвердил наличие достоверных различий по частоте формирования эмбриоидов у *Phalaenopsis hybridum hort.* только варианта питательной среды. Так доля влияния гормональной регуляции в варьировании данного показателя составила 43,8 %.

Во втором эксперименте оценивалась частота протокормообразования у различных эксплантов *Phalaenopsis hybridum hort.* (таблица).

Таблица – Частота конверсии соматических эмбриоидов в протокормоподобные тела (ПТ) у эксплантов *Phalaenopsis hybridum hort.*

Тип экспланта	Варианты эксперимента			
	0,5 БА + 0,01 ИМК		1,5 ТДЗ	
	вариант А (безгормональный)	вариант Б (1,0 ТДЗ)	вариант А (безгормональный)	вариант Б (1,0 ТДЗ)
Апикальный лист	0	27,3 ± 13,4 ^a	0	50,0 ± 15,8
Средний лист	45,5 ± 15,0	0	0	40,0 ± 12,6
Базальный лист	18,2 ± 11,6	0	0	15,4 ± 9,3 ^a
Апикальный фрагмент корня	14,3 ± 7,6	25,0 ± 10,8 ^a	6,7 ± 6,4 ^{a*}	60,0 ± 12,6 ^{b*}
Средний фрагмент корня	36,4 ± 14,5	71,4 ± 17,1 ^{b*}	25,0 ± 15,3*	40,0 ± 12,6
Базальный фрагмент корня	40,0 ± 15,5	72,7 ± 13,4 ^{b*}	30,0 ± 14,5 ^{b*}	40,0 ± 12,6

Примечания – ^{a, b} – существенные различия между типами эксплантов в пределах варианта обозначены разными буквами; * – существенные различия между вариантами, в пределах одного типа экспланта.

Полученные данные показали, что процесс протокормообразования наблюдался не у всех листовых эксплантов. Наибольшие значения по конверсии СЭ в ПТ были зафиксированы на базальных (72,7 %), средних (71,4 %) и апикальных (60,0 %) фрагментах корней. Двухфакторный дисперсионный анализ показал, что на конверсию СЭ в ПТ существенное влияние оказывает только вариант питательной среды, доля влияния которого составила 25,4 %.

Закключение. Таким образом, проведенные нами исследования показали, что максимальные значения частот ПСЭ наблюдались во 2-ом варианте на средних (68,4 %) и базальных фрагментах (77,8 %) корня и 3-ем варианте опыта на базальных фрагментах (73,9 %) корня. Однако определяющим в индукции ПСЭ является гормональная регуляция. Наиболее эффективными индукторами ПСЭ на испытанных типах эксплантов были 1,5 мг/л ТДЗ, а также 0,5 мг/л БА в сочетании с 0,1 мг/л ИМК. Интенсивнее конверсия СЭ в ПТ проходила у корневых эксплантов под влиянием 1 мг/л ТДЗ и не зависела от варианта первого пассажа.

Список использованных источников

1. Red List Updates [Electronic resource] – Mode of access: <https://www.orchidspecialistgroup.com/news-copy>. – Date of access: 04.03.2023.
2. Upbeat mood at 2021 Dutch Orchid Inspiration Days [Electronic resource] – Mode of access: <https://aiph.org/floraculture/news/upbeat-mood-at-2021-dutch-orchid-inspiration-days/>. – Date of access: 04.03.2023.