

УДК 578.083:635.9

UDC 578.083:635.9

**ВЛИЯНИЕ СПЕКТРАЛЬНОГО СОСТАВА СВЕТА НА РОСТ И РАЗВИТИЕ *LILIUM CAUCASICUM* В УСЛОВИЯХ КУЛЬТУРЫ *IN VITRO***

**THE EFFECT OF LIGHT SPECTRAL COMPOSITION ON GROWTH AND DEVELOPMENT OF *LILIUM CAUCASICUM* UNDER *IN VITRO* CONDITIONS**

Маляровская Валентина Ивановна  
к.б.н

Malyarovskaya Valentina Ivanovna  
Cand.Biol.Sci.

Коломиец Татьяна Михайловна  
к.с.х.н., старший научный сотрудник

Kolomiets Tatyana Mikxialovna  
Cand.Agr.Sci., senior research scientist

Соколов Роман Николаевич  
аспирант

Sokolov Roman Nikolayevich  
postgraduate student

Самарина Лидия Сергеевна  
младший научный сотрудник  
*Государственное научное учреждение  
Всероссийский научно-исследовательский  
институт цветоводства и субтропических  
культур Россельхозакадемии, Сочи, Россия*

Samarina Lidia Sergeevna  
junior research scientist  
*All-Russian Scientific and Research Institute of  
Floriculture and Subtropical Crops of Russian  
Academy of Agricultural Sciences, Sochi, Russia*

Показано, что в условиях культуры *in vitro*, у растений-регенерантов лилии кавказской при культивировании на свету различной интенсивности и спектрального состава биометрические показатели (длина и ширина листа), а также количество микролуковичек были неодинаковы. Установлена специфичность действия двух основных областей ФАР – синей и красной на рост, и развитие растений и на содержание фотосинтетических пигментов

It is shown that under *in vitro* conditions, regenerated plants of *Lilium caucasicum* cultivated in the light of varying intensity and spectral composition didn't have the same biometric parameters (length and width of leaves) or number of micro bulbs. There were established some specific effects of the two main areas of photosynthetically active radiation - blue and red on the growth and development of the plants as well as on the content of photosynthetic pigments

Ключевые слова: ЛИЛИЯ КАВКАЗСКАЯ, КУЛЬТУРА ТКАНЕЙ, СПЕКТРАЛЬНЫЙ СОСТАВ СВЕТА, ХЛОРОФИЛЛ А И В, КАРОТИНОИДЫ, ЦИТОКИНИНЫ

Keywords: LILIUM CAUCASICUM, TISSUE CULTURE, THE SPECTRAL COMPOSITION OF LIGHT, CHLOROPHYLL A AND B, CAROTENOIDS, CYTOKININS

### Введение

Процессы жизнедеятельности растений находятся в тесной зависимости от интенсивности и спектрального состава света. Некоторыми исследователями показано, что свет разного спектрального состава регулирует рост и развитие, а также фотосинтетические процессы и продуктивность растений, как *in vivo*, так и *in vitro* [1, 2, 3, 4, 5].

Как известно, из всего спектра для жизни растений важна фотосинтетически активная, находящаяся в пределах от 380 до 710 нм, и физиологически активная радиация (300-800 нм), но наиболее значимы красные лучи, спектр которых находится в пределах от 600 до 720 нм [1, 2,

3]. Для образования хлорофилла необходимы именно эти световые волны. Эта часть спектра является основным поставщиком энергии для фотосинтеза и влияет на процессы, связанные с изменением скорости развития растения. Вместе с тем избыток красной части спектра задерживает процессы образования генеративных органов. Синие и фиолетовые (380-490 нм) лучи, как и красная составляющая, принимают непосредственное участие в фотосинтезе, стимулируют образование белков и регулируют скорость развития растения [1].

При синем свете формируются листья с большим содержанием хлорофилла. По данным Н.В. Катаевой и др. (1981) синий свет, характеризуется как основной компонент морфогенеза [6].

Известно, что различные спектры света могут вызывать у растений и различные процессы морфогенеза. Т.Н. Константиновой с соавторами (1987) показано, что синий свет усиливает закладку вегетативных почек у побегов табака в условиях *in vitro*, а красный стимулирует развитие цветочных почек [7].

По мнению W.M. Morgan (1993), свет является основным и необходимым требованием для коррекции роста, и развития растений, культивируемых *in vitro*, но значительно меньшей интенсивности, чем солнечный [15]. В связи, с чем высокий уровень света не обязателен. Также известно, что растения могут приспосабливаться к низкой интенсивности излучения за счёт снижения затрат ассимилятов на дыхание и интенсивность фотосинтеза, это позволяет за счёт оптимизации фотосинтетической деятельности накапливать в побегах углеводы [13]. При этом немаловажное значение играет сочетание спектрального состава света и гормональных факторов среды [9].

В этом плане представляют интерес исследования по изучению спектрального состава света, наиболее эффективного для выращивания растений *Lilium caucasicum* в условиях культуры *in vitro*, что являлось целью наших исследований.

Перед нами стояли задачи выяснить: 1) как меняется рост и развитие растений в зависимости от спектрального состава света; 2) какова специфичность действия на содержание пигментного состава двух основных областей ФАР – синей и красной.

### Методы исследований

Исследования проводили в лаборатории биотехнологии, физиологии и биохимии растений (ГНУ ВНИИЦиСК Россельхозакадемии, г. Сочи). Объектами исследований были растения-регенеранты вида *Lilium caucasicum* культивируемые *in vitro*.

*Lilium caucasicum* Misch. ex Grossh (рис.1) — многолетнее луковичное растение семейства лилейных (*Liliaceae*). Луковица достигает 10 см. в диаметре, яйцевидной формы, не очень плотная, состоит из донца конической формы и спирально расположенных на нем сочных чешуй. Чешуи золотисто-желтого цвета, узколанцетной формы, заостренные на конце, цельные или с перетяжками, в количестве 25-30.

Стебель 80-150 см. высоты, круглый, зеленый или неровно буроватый, часто в верхней части белоопушенный, олиственный.

Листья короткочерешковые или сидячие, в средней части стебля собраны по 10-15 в 2-4 мутовки (иногда мутовки выражены нечетко), в верхней части стебля очередные. Листья в мутовках продолговато-овальной или обратнояйцевидной формы, 12-13 см. длины, 3,7-4,5 см. ширины.

У лилии кавказской, как почти у всех видов лилий, различают два типа корней: луковичные – растущие от донца луковицы, и стеблевые – развивающиеся на подземной части стебля. Луковичные корни растут с весны до поздней осени, функционируют 1-1,5 года. Среди них есть сильно утолщенные, поперечно морщинистые втягивающие (контрактильные) корни. С помощью их луковица углубляется в почву. Стеблевые корни начинают расти поздно весной, и отмирают осенью

вместе со стеблем. Кроме функции поглощения питательных веществ они способствуют закреплению стебля в почве.

Соцветие кистевидной формы из 3-х – 17-ти (и более) цветков. Цветки поникающие, обычно сиреневые или розово-сиреневые (известны формы с белыми, желтыми, винно-красными цветками), с темно-пурпурными пятнышками (или без них), слабо-ароматные. Околоцветник чалмовидной формы, листочки его 3-4 см. длины, 1-1,3 см. ширины, 4-4,2 см. в диаметре, сильно отогнуты назад. Тычинок 6, тычиночные нити и столбики голые, пыльца коричнево-красная, рыльце трехлопастное, темно-пурпурное.

Плод - обратнойцевидная шестигранная трехгнездная коробочка, усеченная сверху, с заостренными ребрышками, высотой 2,5-3 см. и шириной 1,5-1,7 см. Цветет в июне-июле. Диплоидный набор хромосом — 24[10].



Рисунок 1. *Lilium caucasicum* в период цветения

Растения культивировали в течение шестидесяти дней на питательной среде содержащей основу по Мурашиге и Скугу [16] с содержанием цитокинина 6-БАП в концентрации - 1,0 мг/л, в условиях культурального помещения при температуре +18-25 °С, влажности воздуха

70±3 %, различной интенсивности ФАР и световом режиме 16/8 час. В качестве экспериментальных источников освещения в культуре тканей использовали люминесцентные лампы с максимумом излучения в красной и синей областях спектра (марки *Feron tb g13 Flu 1*) и лампы белого света (марки *Chamelion*); мощность всех ламп 36 Вт, диаметр – 1200 мм. Основные характеристики используемых ламп белого света (БС): световой поток – 2500 Lum; спектральный состав – 50 % фиолетовые лучи (440 нм), 30 % зеленых (500 нм) и 15 % желтых лучей (575 нм). Лампы красного света (КС): 2400 Lum; 90 % красных лучей (600 нм). Лампы синего света (СС): световой поток в 900 Lum; 90 % синих лучей (435 нм). Лампы марки *Feron* и *Chamelion* не нагреваются, поэтому их, возможно, располагать достаточно близко к растениям. Величина излучения лучистой энергии в процессе культивирования лилии кавказской *in vitro* варьировала от 800-1500 лк (синий-красный) до 3000 лк (белый контроль).

При определении биологической эффективности источника искусственного света или отдельных областей спектра в качестве критерия оценки были взяты такие биометрические показатели как длина, ширина листьев и образование микролуковичек на одном растении; также учитывали такие физиологические показатели, как состав и мощность фотосинтетических пигментов листа.

Определение пигментного состава экстракции хлорофиллов и каротиноидов проводили с применением охлажденного 100 % ацетона по методу А.А. Шлыка (1971) с использованием расчетных формул Циглера и Эгле [14]. Обработку экспериментальных данных проводили, применяя пакет программ MS Excel.

### **Результаты и обсуждение**

Экспериментальные исследования, проведенные в условиях культуры *in vitro*, позволили установить, что у растений-регенерантов

лилии кавказской при культивировании на свете различной интенсивности и спектрального состава биометрические показатели (длина и ширина листа), а также количество микролуковичек были неодинаковы (табл. 1).

Таблица 1 - Влияние различного спектра света на рост и развитие *Lilium caucasicum*

Спектр света	Длина листа, см	Ширина листа, см	Количество микролуковичек, шт.
Синий	5,6±1,0	0,7±0,2	1,3±0,3
Красный	8,0±1,0	1,2±0,2	1,4±0,3
Белый (контроль)	7,7±1,3	1,4±0,3	1,6±0,4

Установлено, что синий свет вызывал торможение роста листовой пластины, в то время как красная область спектра способствовала более интенсивному увеличению площади листьев в 1,4 раза по сравнению с белой (контроль). Такое, различие в росте и развитии растений обусловлено, по мнению Н.Н. Протасовой (1982), тем, что при синем свете в листьях образуется значительно большее количество ингибиторов роста, таких как: абсцизовая кислота, оксикоричные кислоты и др., по сравнению с растениями, выращенными при красном свете, что приводит к формированию укороченных стеблей и более толстых листьев (рис. 2, А) [11].

Активное нарастание микролуковичек также отмечено при свете белого спектра (рис. 2, В) (контроль) и в варианте с красным спектром (рис. 2, Б) света (1,6 и 1,4 шт./растении, соответственно). В нашем опыте полученные результаты не противоречат данным других авторов относительно более активного влияния белого и красного спектров излучения на увеличение площади листовой поверхности растений [8, 12].

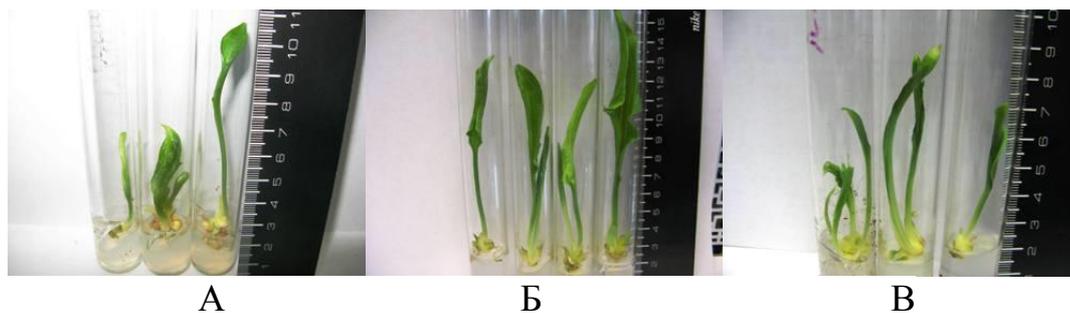


Рисунок 2. Регенеранты *Lilium caucasicum* после выращивания при разных световых спектрах: А) Синий свет; Б) Белый свет; В) Красный свет

В результате изучения специфичности действия двух основных областей, ФАР – синей и красной на содержание пигментного состава было установлено, что при свете синего спектра фотосинтетическая активность в листьях лилии кавказской была выше, чем у растений, культивируемых на белом (контроль) и красном спектрах света. Так, в листьях растений, культивируемых на синем свете содержание хлорофилла **a** (0,55 мг/г) и **b** (0,22 мг/г), а также сумма хлорофиллов (0,77 мг/г) имели максимальные показатели (табл. 2). Однако по содержанию каротиноидов достоверных отличий по вариантам не отмечено. Что касается отношения суммы хлорофилла к каротиноидам, то здесь существенные отличия отмечены были только между, синим и красным и контрольным белым источниками света (см. таблицу 2). Проведенный дисперсионный анализ показал высокую долю влияния (65 %) различных спектров света на рост и развитие, а также на содержание пигментов (хлорофилла **a** и **b**, **a+b**) в листьях растений.

Таблица 2 - Влияние различных спектров освещения на содержание фотосинтетических пигментов в листьях *Lilium caucasicum*

С <i>a</i> мг/г	С <i>b</i> мг/г	С <i>a+b</i> мг/г	С <i>κ</i> мг/г	С <i>a+b</i> /С <i>κ</i>
Синий				
0,55±0,02	0,22±0,06	0,77±0,08	0,28±0,06	2,81±0,31
Красный				
0,52±0,01	0,19±0,01	0,71±0,03	0,32±0,01	2,24±0,23
Белый (контроль)				
0,46±0,06	0,20±0,03	0,66±0,08	0,28±0,01	2,38±0,23

Таким образом, в неблагоприятных световых условиях у растений происходит восполнение недостатка одного параметра другим. При низких интенсивностях света (красном) невысокий фотосинтез частично компенсируется усиленным ростом листьев, в то время как при высоких интенсивностях света (синем) меньшая листовая поверхность может компенсироваться повышенным синтезом фотосинтетических пигментов. В итоге относительно улучшается количественный баланс поглощенной энергии у теневыносливых растений, к которым можно отнести и лилию кавказскую, произрастающую в природе в различных условиях: на опушках высокогорных лесов и на лугах субальпийского пояса среди высокотравья и кустарников. Следовательно, лилия кавказская, обладает достаточно высокой пластичностью и хорошей адаптацией к различным условиям произрастания, как в естественных природных условиях, так и в культуре *in vitro*. Поэтому для роста и развития лилии кавказской максимум излучения в источнике может быть в красной области спектра.

### Выводы

На основании полученных результатов можно сделать вывод, о том, что красная и белая область спектра (контроль) способствовала более

интенсивному увеличению площади листьев. В то время как синий свет, замедлял рост, что приводило к формированию низкорослых растений.

Таким образом, изучение механизмов регуляции морфогенеза и физиологических функций позволит с большим успехом использовать свет различного спектра для оптимизации режимов культивирования растений в условиях *in vitro*.

Исследования проводились при финансовой поддержке РФФИ (грант № 13-04-96572).

### Список литературы

1. Белоус О.Г., Маляровская В.И., Коломиец Т.М. Effect of spectral composition of light on growth of *chrysanthemum morifolium in vitro*// Nauka i Studia: Przemysł, 2012. - № 10(55). – P. 30-35.
2. Дорофеев В.Ю., Медведева Ю.В., Карначук Р.А. Оптимизация светового режима при культивировании оздоровленных растений картофеля *in vitro* с целью повышения продукционного процесса // Материалы VI Московского международного конгресса, часть 1 (Москва, 21-25 марта, 2011 г.). - М.: ЗАО «Экспо-биохим-технологии», РХТУ им. Д.И. Менделеева, 2011. С. 238-239.
3. Карначук Р.А., Гвоздева Е.С. Влияние света на баланс фитогормонов и морфогенез в культуре ткани зародышей пшеницы. // Физиология растений. 1998. Т. 45, № 2. С. 289 – 295.
4. Карначук Р.А., Головацкая И.Ф. Гормональный статус, рост и фотосинтез растений, выращенных на свету разного спектрального состава // Физиология растений. 1998. Т. 45, вып. 6. С. 925–934.
5. Карначук Р.А., Дорофеев В.Ю., Медведева Ю.В. Фоторегуляция роста и продуктивности растений картофеля при размножении *in vitro* // VII Съезд общества физиологов растений России, Международная конференция «Физиология растений - фундаментальная основа экологии и инновационных биотехнологий» 4-10 июля 2011. - Нижний Новгород, 2011. С. 313-314.
6. Катаева Н.В., Аветисов В.А. Клональное размножение в культуре ткани. // Культура клеток растений. М.: Наука, 1981. С.137-149.
7. Константинова Т.Н., Аксенова Н.П., Сергеева Л.И., Чайлахян М.Х. Взаимное влияние света и гормонов на регуляцию морфогенетических процессов в культуре *in vitro*. // Физиология растений. 1998. Т. 34, № 4. С. 795 - 802.
8. Немойкина А.Л. Влияние синего света на морфогенез и количество фитогормонов *Yucca elephantipes* R. в культуре *in vitro* // Международная конференция «IV Сибирская школа молодого ученого». – Томск: ТГПУ, 2001. С.58.
9. Немойкина А. Л. Влияние света и гормонов на морфогенез юкки слоновой в культуре *in vitro*. Дисс. канд. биол. наук. Томск, 2003. 133 с.
10. Немченко Э. П. Лилия кудреватая // Биолог. флора Моск. области. — М.: Изд-во МГУ, 1993. — В. 9. — Ч. 1.
11. Протасова Н. Н., Кефели В. И. Фотосинтез и рост высших растений, их взаимосвязь и корреляции. Физиология фотосинтеза. М.: Наука, 1982. С. 251.

12. Протасова Н. Н., Ложникова В. Н., Ничипорович А. А. и др. Рост, активность фитогормонов и ингибиторов и фотосинтез у карликовых мутантов гороха в разных условиях светового режима. Изв. АН СССР. Сер- биол., 1980. ,Nb 1. С. 94.
13. Смuryгин А. С. Влияние химических препаратов и формировок кустов на зимостойкость винограда//Автореф. дис. ... к.с.-х.н. Ереван, 1977. 27 с.
14. Шлык А.А. Определение хлорофилла каротиноидов в экстрактах зеленых листьев / Шлык А.А.//В кн.: Биологические методы в физиологии растений. М.: Наука. 1971. С.154-170.
15. Morgan W. M. Plant tissue culture // World Agriculture. 1993. P. 19-21.
16. Murashige T., Scoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture // *Physiol. Plant.*-1962. - N.4. – P.473-479.

### References

1. Belous O.G., Maljarovskaja V.I., Kolomic T.M. Effect of spectral composition of light on growth of chryzantemum morifolium in vitro// *Nauka i Studia: Przemysl*, 2012. - № 10(55). – P. 30-35.
2. Dorofeev V.Ju., Medvedeva Ju.V., Karnachuk R.A. Optimizacija svetovogo rezhima pri kul'tivirovanii ozdorovlennyh rastenij kartofelja in vitro s cel'ju povyshenija produkcionnogo processa // *Materialy VI Moskovskogo mezhdunarodnogo kongressa, chast' 1 (Moskva, 21-25 marta, 2011 g.)*. - M.: ЗАО «Jekspo-biohim-tehnologii», RHTU im. D.I. Mendeleeva, 2011. S. 238-239.
3. Karnachuk R.A., Gvozdeva E.S. Vlijanie sveta na balans fitogormonov i morfogenez v kul'ture tkani zarodyshej pshenicy. // *Fiziologija rastenij*. 1998. T. 45, № 2. S. 289 – 295.
4. Karnachuk R.A., Golovackaja I.F. Gormonal'nyj status, rost i fotosintez rastenij, vyrashhennyh na svetu raznogo spektral'nogo sostava // *Fiziologija rastenij*. 1998. T. 45, vyp. 6. S. 925–934.
5. Karnachuk R.A., Dorofeev V.Ju., Medvedeva Ju.V. Fotoreguljacija rosta i produktivnosti rastenij kartofelja pri razmnozhenii in vitro // VII S#ezd obshhestva fiziologov rastenij Rossii, Mezhdunarodnaja konferencija «Fiziologija rastenij - fundamental'naja osnova jekologii i innovacionnyh biotehnologij» 4-10 ijulja 2011. - Nizhnij Novgorod, 2011. S. 313-314.
6. Kataeva N.V., Avetisov V.A. Klonal'noe razmnozhenie v kul'ture tkani. // *Kul'tura kletok rastenij*. M.: Nauka, 1981. S.137-149.
7. Konstantinova T.N., Aksenova N.P., Sergeeva L.I., Chajlahjan M.H. Vzaimnoe vlijanie sveta i gormonov na reguljaciju morfogeneticheskikh processov v kul'ture in vitro. // *Fiziologija rastenij*. 1998. T. 34, № 4. S. 795 - 802.
8. Nemojkina A.L. Vlijanie sinego sveta na morfogenez i kolichestvo fitogormonov *Yucca elephantipes* R. v kul'ture in vitro // *Mezhdunarodnaja konferencija «IV Sibirskaja shkola molodogo uchenogo»*. – Tomsk: TGPU, 2001. S.58.
9. Nemojkina A. L. Vlijanie sveta i gormonov na morfogenez jukki slonovoj v kul'ture in vitro. Diss. kand. biol. nauk. Tomsk, 2003. 133 s.
10. Nemchenko Je. P. Lilija kudrevataja // *Biolog. flora Mosk. oblasti*. — M.: Izd-vo MGU, 1993. — V. 9. — Ch. 1.
11. Protasova N. N., Kefeli V. I. Fotosintez i rost vysshih rastenij, ih vzaimosvjaz' i korreljicii. *Fiziologija fotosinteza*. M.: Nauka, 1982. S. 251.
12. Protasova N. N., Lozhnikova V. N., Nichiporovich A. A. i dr. Rost, aktivnost' fitogormonov i inhibitorov i fotosintez u karlikovyh mutantov goroha v raznyh uslovijah svetovogo rezhima. *Izv. AN SSSR. Ser- biol.*, 1980. ,Nb 1. S. 94.
13. Smurygin A. S. Vlijanie himicheskikh preparatov i formirovok kустov na zimostojkost' vinograda//Avtoref. dis. ... k.s.-h.n. Erevan, 1977. 27 s.

14. Shlyk A.A. Opredelenie hlorofilla karotinoidov v jekstraktah zelenyh list'ev / Shlyk A.A.//V kn.: Biologicheskie metody v fiziologii rastenij. M.: Nauka. 1971. S.154-170.
15. Morgan W. M. Plant tissue culture // World Agriculture. 1993. P. 19-21.
16. Murashige T., Scoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture // *Physiol. Plant.*-1962. - N.4. – P.473-479.