

**СОДЕРЖАНИЕ ПИГМЕНТОВ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО
АППАРАТА *CHRYSANTHEMUM* × *KOREANUM* HORT.
IN VITRO И IN VIVO**

Малаева Е. В.^{1,2}, Степовая Е. С.²

¹ Государственное бюджетное учреждение Волгоградской области
«Волгоградский региональный ботанический сад»

² Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
«Волгоградский государственный социально-педагогический университет»
г. Волгоград, Росси, e-mail: e.malaeva@mail.ru

Изучено содержание фотосинтетических пигментов у сортов Хризантемы корейской (*Chrysanthemum* × *koreanum* hort.) в зависимости от условий культивирования. Определение концентрации фотосинтетических пигментов (хлорофиллов *a*, *b* и каротиноидов) проводили с помощью метода спектрофотометрии. Растения изученных сортов, полученные *in vitro*, образовали хлорофиллов *a*, *b* и каротиноидов больше, чем растения, выращенные традиционным способом. Полученные данные могут быть использованы для оптимизации этапа адаптации к нестерильным условиям выращивания.

Ключевые слова: хризантема корейская, фотосинтетические пигменты, *in vitro*, клональное микроразмножение.

Хризантема корейская (*Chrysanthemum* × *koreanum* hort.) – это сортогруппа гибридного происхождения, созданная с участием *Chrysanthemum indicum* L., *Chrysanthemum* × *morifolium* Ramat. и других видов. В связи с климатическими особенностями Волгоградской области, в регионе наблюдается недостаток декоративных растений короткого дня, к которым по праву относятся хризантемы. Однако для размножения ценных и перспективных для озеленения сортов хризантем в промышленных масштабах использование традиционного вегетативного размножения явно недостаточно. Таким образом, использование методов биотехнологии в данном случае вполне оправдано и экономически эффективно.

Следует отметить, что методы биотехнологии являются основой для первичного размножения ценных экземпляров декоративных растений в коллекции хризантем Волгоградского регионального ботанического сада, а также позволяют в короткие сроки массово размножить сорта, перспективные для использования в озеленении [4].

В культуре *in vitro* растения хризантемы культивируют в условиях искусственного освещения. Пигментный комплекс растений – это

сложная и лабильная система, которая чутко реагирует и приспосабливается к изменению условий внешней среды в пределах своей наследственно закреплённой программы. Содержание хлорофиллов и каротиноидов является одним из важнейших биохимических показателей реакции растений на изменения факторов внешней среды – условий освещения и качества света [2]. Работы ряда авторов посвящены изучению влияния качества света на ростовые процессы *in vitro* и содержанию фотосинтетических пигментов, как важных факторов определяющих подбор оптимального режима освещения [2, 5, 6].

Целью исследования явилось изучение влияния условий культивирования (*in vitro*, *in vivo*) на содержание основных фотосинтетических пигментов (хлорофиллы *a*, *b*, каротиноиды (car)) у сортов *Chrysanthemum × koreanum hort.*

Объекты и методы. Объектами исследования являлись растения-регенеранты сортов *Chrysanthemum × koreanum*: ‘Оранжевый закат’, ‘Золотой Орфей’ и ‘Ожерелье’. Данные сорта поддерживались в активно растущем состоянии *in vitro* на агаризованной питательной среде по прописи Мура-сиге и Скуга, содержащей 6-БАП 0,1 мг/л ИУК 0,02 мг/л с добавлением 2Fe, сахарозы – 30 мг/л, агара – 7 мг/л. Условия культивирования – при температуре 24 ± 2 °С, влажности воздуха 70–80 %, интенсивности освещения 2,5–3,0 тыс. люкс и продолжительности фотопериода 16 часов и в условиях теплицы с досвечиванием люминесцентной лампой Osram.

Определение содержания фотосинтетических пигментов проводили методом спектрофотометрии, основанном на способности пигментов поглощать лучи определённой длины волны с помощью спектрофотометра КФК-3КМ. Для измерения готовили вытяжки пигментов из листьев хризантемы в 96%-ном спирте. Каротиноиды определяли при $\lambda = 440,5$ нм, хлорофилл *a* – при $\lambda = 665$ нм, хлорофилл *b* – при $\lambda = 649$ нм. Измерение каждой вытяжки пигментов проводили в 10-кратной повторности. Концентрации хлорофиллов *a* и *b* (мг/л) в вытяжке рассчитывали по формуле Вернона [8]. Для определения концентрации каротиноидов (мг/л) в суммарной вытяжке пигментов использовали формулу Ветгштейна [8].

Содержание пигментов в вытяжке определяли с учётом объёма вытяжки и навески пробы по следующей формуле:

$$A = V \times C / (P \times 1\,000),$$

где: *C* – концентрация пигментов, мг/л;

V – объём вытяжки, мл;

P – навеска растительного материала, г;

A – содержание пигмента в растительном материале, мг/г сырой массы.

Обработку данных проводили с использованием пакета программ Microsoft Office Excel. Полученные данные достоверны при $p < 0,05$.

Результаты. В результате проведённых исследований для сортов хризантемы установлено, что условия культивирования оказывают влияние на содержание фотосинтетических пигментов.

Растения изученных сортов, полученные *in vitro*, образовали хлорофиллов *a* и *b* больше, чем растения, полученные традиционным способом (рис. 1, 2).

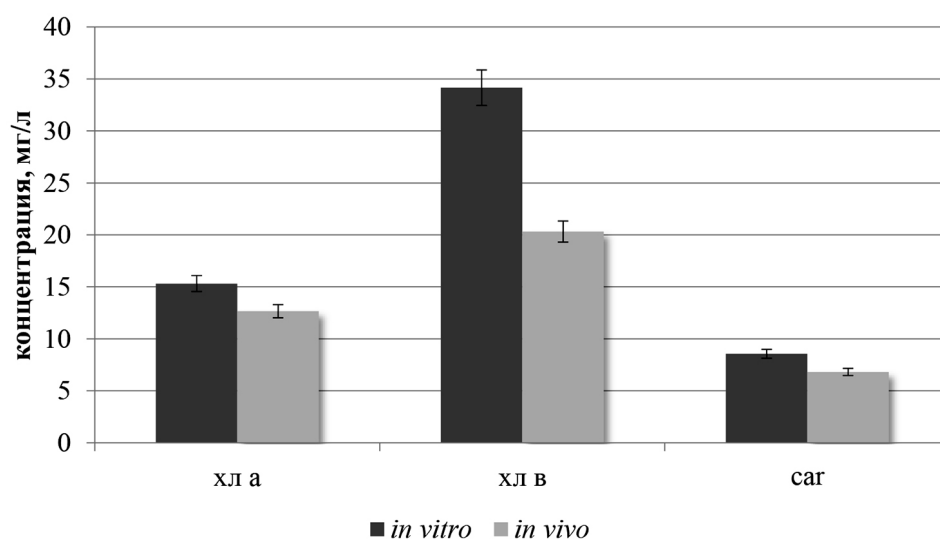


Рис. 1. Содержание пигментов в листьях хризантемы корейской 'Оранжевый закат', выращенной *in vitro* и *in vivo*, мг/г

Так, у хризантем сортов 'Оранжевый закат', 'Золотой Орфей' и 'Ожерелье' в условиях теплицы, содержание хлорофилла *a* 18,6, 18,6 и 24,3 мг/г, тогда как у растений данных сортов культивируемых *in vitro* 23,5, 21,6 и 24,3 мг/г соответственно. У растений, выращенных *in vitro* отмечено высокое содержание хлорофилла *b* по сравнению с тепличными растениями: 30,1 мг/г для сорта 'Оранжевый закат'; 31,3 мг/г – 'Золотой Орфей'; 29,1 мг/л – 'Ожерелье', что характерно для теневыносливых растений (табл. 1).

У растений, выращенных *in vitro* наблюдали более высокое содержание хлорофилла *b* по сравнению с тепличными растениями (31,3 и 25,1 мг/г для сорта 'Золотой Орфей'; 29,1 и 24,7 мг/г – 'Ожерелье') (табл. 1). Высокий синтез хлорофилла *b* характерен для теневыносливых растений.

Таблица 1

**Содержание пигментов
в листьях сортов *Chrysanthemum × koreanum hort.***

Объект исследования		Хлорофилл <i>a</i> , мг/г	Хлорофилл <i>b</i> , мг/г	Каротиноиды, мг/г
‘Оранжевый закат’	<i>in vitro</i>	23,5 ± 0,11	30,1 ± 0,12	10,7 ± 0,03
	<i>in vivo</i>	18,6 ± 0,13	29,6 ± 0,17	9,3 ± 0,04
‘Золотой Орфей’	<i>in vitro</i>	21,6 ± 0,10	31,3 ± 0,12	10,1 ± 0,03
	<i>in vivo</i>	18,6 ± 0,19	25,1 ± 0,10	7,3 ± 0,04
‘Ожерелье’	<i>in vitro</i>	24,3 ± 0,12	29,1 ± 0,15	11,1 ± 0,06
	<i>in vivo</i>	18,6 ± 0,10	24,7 ± 0,10	8,2 ± 0,08

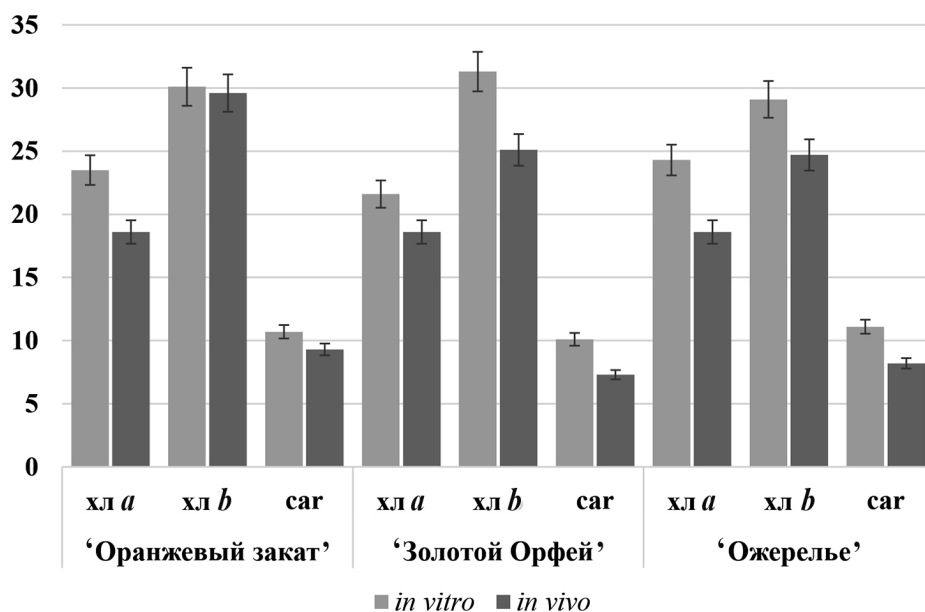


Рис. 2. Содержание пигментов
в листьях *Chrysanthemum × koreanum hort.* различных сортов,
выращенных в условиях *in vitro* и *in vivo*, мг/г

Отсюда можно предположить, что размножение хризантемы *in vitro* прежде всего оказывает влияние на первую подсистему признаков, включающую ростовые процессы, и только во вторую очередь проявляется на структурно-функциональных показателях фотосинтетического аппарата. Данное предположение согласуется с мнением Р. А. Карначука [3] о том, что на уровне листа функционирует несколько регуляторных систем, среди которых регуляторные системы роста определяются как системы первого порядка, а регуляторные системы фотосинтеза, – как системы второго порядка.

Литературные данные свидетельствуют об усилении синтеза фотосинтетических пигментов под действием экзогенных фитогормонов различной природы [1, 7, 9, 10]. Сдвиг соотношения хлорофиллов *a* и *b*, вызванный увеличением синтеза хлорофилла *b* у микроклональных растений, возможно обусловлен действием экзогенных фитогормонов на ядерные гены, контролирующие синтез хлорофилла *b* из хлорофилла *a*.

Нужно учесть то, что состав и соотношение фитогормонов в среде были предварительно подобраны именно для этих растений так, чтобы оптимальным образом обеспечить процесс микроразмножения. Следует полагать, что в результате подбора состава фитогормонов оптимальным оказалось то сочетание, которое наиболее органично дополняло уровень гормонов, эндогенно синтезируемых растениями.

Выводы. В результате проведённых исследований для сортов хризантемы установлено, что условия культивирования оказывают влияние на содержание фотосинтетических пигментов.

Высокие концентрации фотосинтетических пигментов в листьях растений обеспечивают достаточно высокую пластичность растений, более быстрый и стабильный переход от гетеро- к автотрофному питанию при микроклональном размножении. Такие растения лучше и быстрее адаптируются к нестерильным условиям выращивания, и как результат процент адаптированных растений будет достаточно высоким. Для изученных сортов хризантемы выход адаптированных растений достигал 95 %.

Библиографический список

1. Бухов Н.Г. Динамическая световая регуляция фотосинтеза // Физиология растений. – 2004. – Т. 51(6). – С. 825-837. – ISSN 0015-3303.
2. Головацкая И.Ф., Дорофеев В.Ю., Медведева Ю.В. и др. Оптимизация условий освещения при культивировании *Solanum tuberosum* L. микроклонов сорта 'Луговской' *in vitro* // Вестник Томс. гос. ун-та. Биология. – 2013. – № 4. – С. 133-144. – ISSN 1998-8591.
3. Карначук Р.А. Регуляторная роль света разного спектрального состава в процессах роста и фотосинтетической активности листа растений: автореф. ... д-ра биол. наук. – М., 1989. – 42 с.

4. Малаева Е.В., Ивлева А.В. Интродукция и особенности клонального микроразмножения сортогруппы *Chrysanthemum × koreanum* hort. // Субтропическое и декоративное садоводство. – 2015. – Вып. 55. – С. 102-108. – ISSN 2225-3068.
5. Маляровская В.И., Коломиец Т.М., Соколов Р.Н., Самарина Л.С. Влияние спектрального состава света на рост и развитие *Lilium caucasicum* в условиях культуры *in vitro* [Электронный ресурс] // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета (Научный журнал КубГАУ). – 2013. – № 10(094). – С. 1016-1026. – URL: <http://ej.kubagro.ru/2013/10/pdf/12.pdf>
6. Мякишева Е.П., Соколова Г.Г. Влияние качества света на содержание фотосинтетических пигментов картофеля (*Solanum tuberosum* L.) в культуре *in vitro* // Известия Алтайского государственного университета. – 2014. – № 3-2(83). – С. 46-49. – doi: 10.14258/izvasu(2014)3.2-08.
7. Петренко А.В., Бирюкова Е.П. Уровень содержания фотосинтезирующих пигментов в листьях кукурузы под влиянием экзогенных гибберелина и кинетина // Оптимизация фотосинтетического аппарата воздействием различных факторов. – Минск: Изд-во БГУ, 1976. – С. 40-49.
8. Чакчир Б.А., Алексеева Г.М. Фотометрические методы анализа: методические указания. – СПб.: Изд-во СПХФА, 2002. – 44 с.
9. Lichtenthaler H. K., Ab A., Marek M. V., Kalina, J., Urban O. Differences in pigment composition, photosynthetic rates and chlorophyll fluorescence images of sun and shade leaves of four tree species // Plant Physiol. Biochem, 2007. – Vol. 45. – P. 577-588. – doi:10.1016/j.plaphy.2007.04.006.
10. Topchiy N.M., Sytnik S.K., Syvash O.O., Zolotareva O.K. The effect of additional red irradiation on the photosynthetic apparatus of *Pisum sativum* // Photosynthetica. – 2005. – Vol. 43. – P. 451-456.

**PIGMENT CONTENT OF PHOTOSYNTHETIC APPARATUS
OF *CHRYSANTHEMUM × KOREANUM* HORT.
IN VITRO AND IN VIVO**

Malayeva Ye. V.^{1,2}, Stepovaya Ye. S.²

¹ State Budgetary Institution of Volgograd region
“Volgograd Regional Botanical Garden”

² Federal State Budgetary Educational
Institution of Higher Education
“Volgograd State Social & Pedagogical University”

c. Volgograd, Russia, e-mail: e.malaeva@mail.ru

The content of photosynthetic pigments in the cultivars of garden mums (*Chrysanthemum × koreanum* hort.) was studied depending on the cultivation conditions. The concentration of photosynthetic pigments (chlorophylls *a*, *b* and carotenoids) was examined using the spectrophotometry method. Plants of the studied cultivars, obtained *in vitro*, formed chlorophylls *a*, *b*, and carotenoids more than plants grown by the traditional method. The obtained data can be used to optimize the stage of adaptation to non-sterile growing conditions.

Key words: garden mums, photosynthetic pigments, *in vitro*, clonal micropropagation.