



УДК 582.594.2:581.4

АДАПТИВНІ ЗМІНИ ПОВЕРХНІ ЛИСТКА ТРОПІЧНОЇ ОРХІДЕЇ *CATTLEYA GASKELLIANA* (N.E.BR.) B.S. WILLIAMS ПРИ ЗМІНІ УМОВ КУЛЬТИВУВАННЯ (*IN VITRO* → *EX VITRO*)

Людмила І. Буюн

Анотація. Мікроморфологічні особливості поверхні листових пластинок ювенільних рослин *Cattleya gaskelliana*, розмножених з насіння у культурі *in vitro*, а також генеративних особин, вирощених в умовах оранжерейної культури, були досліджені за допомогою сканувальної електронної мікроскопії (СЕМ). Як у ювенільних, так і у генеративних рослин листки гіпостоматичні; продиховий апарат тетрацитного типу. Поодинокі продиhi на адаксіальній поверхні листка було відмічено лише у ювенільних рослин. Встановлено, що у процесі адаптації ювенільних рослин до умов оранжерейної культури відбуваються наступні зміни у будові поверхні листка: 1) змінюється конфігурація епідермальних клітин; 2) зменшуються їхні розміри; 3) збільшується щільність та розміри продихів. Очевидно, що структурні зміни поверхні листка можна розглядати як пристосування, що забезпечує зниження рівня транспірації протягом періоду акліматизації ювенільних рослин *C. gaskelliana in vitro* та *in vivo* (щільність продихів/мм², продиховий індекс, кількість основних епідермальних клітин/мм²) були порівнюваними, коефіцієнт акліматизації ювенільних рослин становив понад 95%.

Ключові слова: *Cattleya gaskelliana*, Orchidaceae, мікроморфологія, листовка пластинка, епідермальні клітини, продиховий апарат, *in vitro*, *ex vitro*

Національний ботанічний сад ім. М.М. Гришка НАН України, вул. Тімірязєвська, 1, Київ, 01014; orchids.lyuda@gmail.com

Вступ

Однією з найважливіших складових системи заходів з охорони тропічних рослин поза межами їх природного зростання є наявність ефективних методів розмноження у культурі (Черевченко *и др.* 2008). Для представників родини Orchidaceae, яким притаманна залежність від грибів-мікоризоутворювачів та морфолого-фізіологічна редукція зародка, єдиним ефективним методом розмноження *ex situ* є застосування методу асимбіотичного розмноження *in vitro*. Умови у культивацийних ємностях *in vitro* обумовлюють формування ювенільних рослин зі змінами анатомічної будови листків та їх продихового апарату, що призводить до певних змін водного статусу, а інколи й до загибелі рослин при адаптації до оранжерейних умов (Назаріка 2006). Разом з тим, дослідження зосереджені переважно

на оптимізації етапів розмноження тропічних орхідних *in vitro*, тоді як особливості адаптації ювенільних рослин при зміні умов *in vitro* → *ex vitro* було досліджено значно менше (Torres *et al.* 2006; Черевченко *и др.* 2008; Буюн 2011).

Тому метою даного дослідження було провести порівняльний анатомо-стоматографічний аналіз листків ювенільних рослин *C. gaskelliana*, а також дорослих рослин, що культивуються в умовах оранжерейної культури, для з'ясування напрямків структурної адаптації рослин при зміні умов *in vitro* → *ex vitro*.

Матеріали і методи досліджень

Як модельний об'єкт нами був обраний вид тропічних орхідних *Cattleya gaskelliana* (N.E.Br.) B.S. Williams, що належить до однієї з найчисельніших

підтриб Orchidaceae (Epidendroideae) – Laeliinae. Це епіфітний вид, що поширений на північному сході Венесуели на висоті 750-1000 м над р.м. (PRIDGEON *et al.* 2005). Квітки всіх видів роду *Cattleya* відзначаються високою декоративністю, внаслідок чого їхні природні популяції потерпають в результаті колекціонування рослин.

У дослідженні використані листки ювенільних рослин *C. gaskelliana*, розмножених у культурі *in vitro* з насіння, а також листки генеративних рослин з оранжерейної колекції Національного ботанічного саду ім. М.М. Гришка НАН України.

Порівняльний аналіз продихового апарату та епідермальних клітин проводили за допомогою методу сканувальної електронної мікроскопії (SEM). Підготовку зразків для дослідження поверхні листової пластинки проводили за традиційною для растрової електронної мікроскопії схемою. Зразки досліджували за допомогою сканувальних електронних мікроскопів PEMMA-102 AT (SELMI, Україна) і GSM-6700F (JEOL, Японія).

Результати та їх обговорення

Листки гіпостоматичні; продиховий апарат тетрацитного, рідше – енциклоцитного типу (БАРАНОВА 1985); у ювенільних і дорослих рослин має однаковий план будови. Побічні клітини паралельні до замикаючих клітин і відрізняються від основних епідермальних клітин за формою та розмірами. Продихи розташовані хаотично або утворюють невеликі групи. Досить часто зустрічаються суміжні продихи зі спільними побічними клітинами. Поодинокі продихи на адаксіальній поверхні листків були виявлені лише у ювенільних рослин у культурі *in vitro*. По краях листків продихи відсутні.

Клітини верхнього епідермісу листків ювенільних рослин прямокутні або неправильної форми; стінки переважно прямі або дещо вигнуті (Рис. 1 А). Клітини нижнього епідермісу багатокутні, неправильної форми; стінки прямі або вигнуті (Рис. 1 Б). У останньому випадку довга вісь

клітин у два або більше разів перевищує коротку. Кількість основних епідермальних клітин на абаксіальній поверхні листків ювенільних рослин майже вдвічі більша, ніж на їх адаксіальній поверхні ($794,5 \pm 62,7$ і $413,1 \pm 23,0$ на 1 мм^2 відповідно).

На адаксіальній поверхні листків дорослих рослин через добре розвинену кутикулу контури клітин не розрізняються (Рис.1 В), що не дало нам змоги описати їх конфігурацію та провести підрахунок кількості клітин на одиницю поверхні листка.

Клітини нижнього епідермісу листка дорослих рослин здебільшого багатокутні; кути у суміжних межах прямі або загострені (Рис.1 Г).

Порівняльне дослідження поверхні листків *C. gaskelliana in vitro* та *in vivo* показало, що листки дорослих рослин відрізняються від листків ювенільних рослин більшою кількістю основних епідермальних клітин на абаксіальній поверхні листка ($794,5 \pm 62,7$ і $413,1 \pm 23,0$ на 1 мм^2 відповідно), а також щільністю продихів ($95,15 \pm 6,9$ проти $29,93 \pm 1,6$ на 1 мм^2).

У ювенільних рослин продихи мають майже округлу, у дорослих – овальну форму (Рис. 2). Форма продихових щілин на листках *in vitro* та *in vivo* також різна: у ювенільних рослин вони округлі (Рис. 1 А), а у дорослих рослин – овальні (Рис.1 Б). Замикаючі клітини продихів на листках дорослих рослин вкриті кутикулою. Довга вісь продихів листків ювенільних рослин розташована паралельно середній жилці листків, тоді як у генеративних особин – перпендикулярно до неї. Довжина продихів становить $23,57 \pm 0,52$ мкм у рослин з культури *in vitro* і $27,65 \pm 0,74$ – у дорослих рослин; ширина – $23,25 \pm 0,55$ мкм і $29,73 \pm 0,71$ мкм відповідно.

У ювенільних рослин продихи виступають над поверхнею листка (Рис. 2 А); натомість у дорослих рослин вони розташовані у неглибоких криптах – дещо нижче епідермальної поверхні (Рис.2 Б), що можна пояснити відмінностями у швидкості транспірації рослин за умов різного водного режиму. При культивуванні рослин *in vitro* спостерігається збільшення продихового індексу – від 3,54% у рослин у віці шести

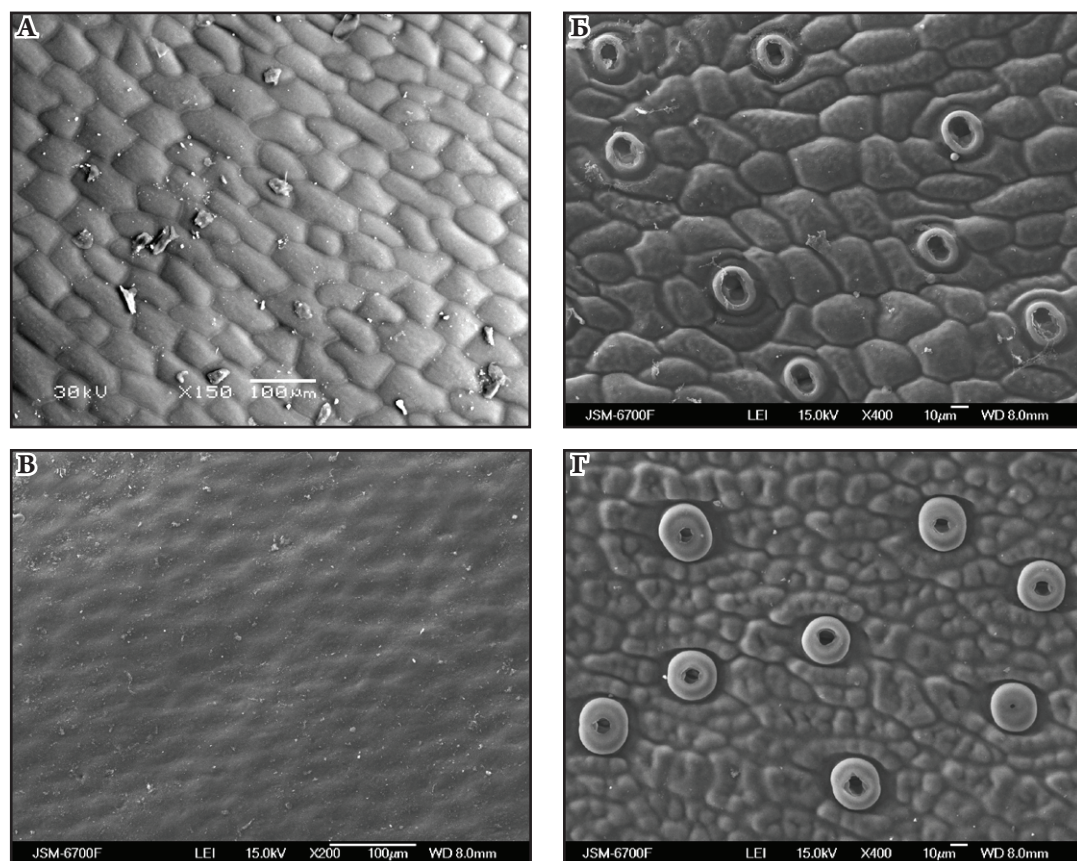


Рис. 1. Ультраструктура поверхні епідермісу листової пластинки *Cattleya gaskelliana* *in vitro* (А, Б) та *in vivo* (В, Г). А, В – адаксіальна поверхня; Б, Г – абаксіальна поверхня.

Fig. 1. Ultrastructure of epidermis from leaf surface of *Cattleya gaskelliana* *in vitro* (A, B) and *in vivo* (B, Г): A, B – adaxial surface; Б, Г – abaxial surface.

місяців до 6,77% – у рослин віком 14 місяців (готові до перенесення в оранжерейні умови). У випадку, коли анатомо-стоматографічні характеристики листків *C. gaskelliana* *in vitro* та *in vivo* (щільність продихів/мм², продиховий індекс, кількість основних епідермальних клітин/мм²) були порівнянними, коефіцієнт акліматизації ювенільних рослин становив понад 95%.

Висновки

На наш погляд, структура епідерми може бути використана як біологічний маркер адаптаційної здатності рослин при зміні умов *in vitro* → *ex vitro*, а, отже, дані порівняльного анатомо-стоматографічного дослідження

поверхні листка фотоміксотрофних і фототрофних рослин можна використовувати для прогнозування успішності акліматизації ювенільних рослин до умов оранжерей.

Дослідження адаптивних реакцій тропічних орхідних має велике значення для розробки оптимальних біотехнологій з метою довготривалого зберігання колекційних зразків за умов оранжерейної культури і культури *in vitro*.

Подяки

Автор висловлює щирі вдячність співробітникам відділу тропічних і субтропічних рослин НБС НАН України І.В. Гурненку, к.б.н. І.Ю. Мальцову,

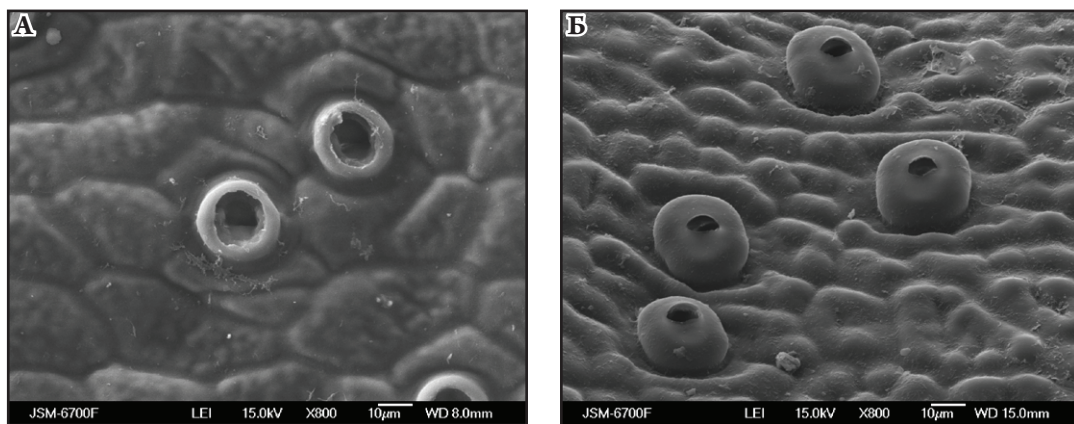


Рис. 2. Продири на абаксiальнiй поверхнi листковоi пластинки *Cattleya gaskelliana* *in vitro* (А) та *in vivo* (Б).
Fig. 2. Stomata on abaxial epidermis from leaf surface of *Cattleya gaskelliana* *in vitro* (A) and *in vivo* (B).

М.М. Маринюк за допомоги при проведеннi досліджень, а також д.б.н. Р.В. Иваннiкову – за наданi зразки розмножених у культурi *in vitro* рослин.

Використанi джерела

- БАРАНОВА М.А. 1985.** Классификация морфологических типов устьиц. *Ботан. журн.* **70**: 1585–1595.
- Буюн А.І. 2011.** Тропiчнi орхiднi (Orchidaceae Juss.): репродуктивна бiологiя та структурно-функцiональнi адаптацiї за умов збереження *ex situ*: автореф. дис. на здобуття вчен. ступеня доктора бiол. наук : спец. 03.00.05 «Ботанiка». Київ.

ЧЕРЕВЧЕНКО Т.М., ЛАВРЕНТЬЄВА А.Н., ИВАННИКОВ Р.В. 2008. Биотехнология тропических и субтропических растений *in vitro*. Наукова думка, Київ.

HAZARIKA B.N. 2006. Morpho-physiological disorders in *in vitro* culture of plants. *Scientia Horticulturae* **108** (2): 105–120.

PRIDGEON A.M., CRIBB P.J., CHASE M.W. et al. (eds). 2005. Genera Orchidacearum. Volume 4. Epidendroideae. Part 1. Oxford University Press, Oxford.

TORRES JH., LASKOWSKI L., SANABRIA M. 2006. Environmental effect during growth on anatomical characteristics of leaf epiderm in *Cattleya jenmanii* Rolfe. *Bioagro* **18** (2): 93–99.

ADAPTATIVE CHANGES OF LEAF SURFACE OF TROPICAL ORCHID *CATTELEYA GASKELLIANA* (N.E.BR.) B.S. WILLIAMS AFTER TRANSFERRING FROM *IN VITRO* TO *EX VITRO* CONDITIONS

LYUDMILA I. BUYUN

Abstract. The leaf surface micromorphology of *Cattleya gaskelliana* juvenile plants, propagated *in vitro* from seeds, as well as of adult plants, cultivated in glasshouse, was analyzed by scanning electron microscopy (SEM). The leaves of both juvenile and adult plants are hypostomatic, their stomata are of tetracytic type. It was found that development of single stomata on the adaxial leaf surface of juvenile plants was induced by *in vitro* conditions. During the acclimation of *in vitro* propagated plants to glasshouse conditions the following changes of leaf surface micromorphology have been observed: 1) configuration of epidermal cells changed; 2) dimensions of typical epidermal cells reduced; 3) stomata density and their dimensions increased. The results suggest that structural changes, probably, can be regarded as an adaptation to avoid excessive rate leaf transpiration during a period of *C. gaskelliana* juvenile plants acclimation to glasshouse conditions. In the case when micromorphological leaf characteristics (stomata density per mm², stomatal index, epidermal cells number per mm²) of *in vitro* propagated plants of *C. gaskelliana* were comparable to those of adult plants, survival rate was more than 95%.

Key words: *Cattleya gaskelliana*, Orchidaceae, leaf surface, micromorphology, epidermal cells, stomatal apparatus, *in vitro*, *ex vitro*