

УДК 635.965.286.5:582.918.3:631.532

Л. И. ВЕЧЕРКО, Н. А. ВЕЧЕРКО

## ОСОБЕННОСТИ БИОЛОГИИ РАЗВИТИЯ, БИОТЕХНОЛОГИИ ВЫРАЩИВАНИЯ И РАЗМНОЖЕНИЯ ЦИКЛАМЕНА В УСЛОВИЯХ *IN VIVO* И *IN VITRO*

(Институт ботаники и фитоинтродукции МОН РК,

Институт биологии и биотехнологии растений НЦБ РК, г. Алматы)

Впервые в условиях закрытого грунта Юго-Восточного Казахстана изучены особенности онтогенеза, биологии цветения и размножения цикламена персидского и его сортов.

Для ускоренного размножения ценных генотипов цикламена использован метод культуры тканей.

Цикламен (*Cyclamen Mill.*) – красивоцветущее травянистое многолетнее клубневое растение закрытого грунта из семейства первоцветные (*Primulaceae Vent.*). Его родина – Малая Азия, Греция. Род цикламена насчитывает 12 дикорастущих видов [1]. Цикламен не только высокодекоративное, но и лекарственное растение. Порошок лиофилизированного сока и водного экстракта клубней цикламена европейского использован фармакологами для получения нового препарата Синуфорте, который с успехом применяется для лечения катарального (гнойного) гайморита, комбинированных синуситов.

В культуре наибольшее распространение получил цикламен персидский (*Cyclamen persicum Mill.*) и его гибриды. Встречается цикламен европейский (*Cyclamen europeum L.* С более мелкими ароматными цветками.

Цикламен – одна из наиболее популярных горшечных культур, широко выращиваемых в зоне умеренного климата для цветочной продукции в зимние месяцы. В Латвии, например, около 30% от общего числа горшечных растений приходится на цикламены. В целях обогащения ассортимента интродуцируются зарубежные и создаются новые местные сорта [2]. В Казахстане эта культура пока не получила должного распространения из-за отсутствия хозяйственно ценных сортов и семенного посадочного материала.

Поскольку коммерческий интерес цветочной индустрии к цикламену достаточно высок, то наши исследования направлены на ускорение размножения наиболее ценных видов и сортов. Для успеха этой работы, для разработки рациональных приемов выращивания и выгонки цикламена применительно к конкретным условиям, необходимо

димы данные по биологии развития его видов и сортов.

Цель настоящей работы – пополнение сведений по биологии развития, биотехнологии выращивания и размножения цикламена, использование полученных данных в селекции.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объектов исследования использовались виды цикламена: *Cyclamen hederifolium*, *C. persicum*, *C. cuprion* и сорта Ария и Таурус. Для получения семян, необходимых для исследования проводилось искусственное опыление сортов цикламена. Фертильность пыльцы определялась ацетокарминовым способом. Диаметр ее измерялся с помощью линейки окуляр – микрометра, а цифровые данные переводились в микроны. Для выяснения степени жизнеспособности пыльцы в ней определялось наличие окислительных ферментов- пероксидазы, цитохромоксидазы и дегидрогеназы. Для индукции процессов морфогенеза и регенерации в культуре изолированных тканей цикламена (сегменты черешков листа, листовой пластинки) использовалась питательная среда Мурасиге и Скуга с следующими модификациями фитогормонов (мг/л): вариант 1 (1 БАП; 1НУК); вариант 2 (безгормональная), вариант 3(2НУК; 0,3 ИУК; 0,5 БАП ), вариант 4 (4 кинетин), вариант 5 (2 ИУК; 0,5 НУК; 0,5 БАП, 0,5 г/л гидролизата казеина)

У цикламена персидского и его сортов цветки одиночные, крупные – диаметром до 7 см, орхидеоподобной формы, расположены на вертикальных цветоносах длиной до 25 см с двойным околоцветником. Чашечка пятираздельная. Чашелистики яйцевидной формы, зелено-серого

цвета. Венчик спайнолепестный с короткой трубкой и пятью долями, отогнутыми назад. Пять тычинок с сидячими пыльниками плотно окружают жесткий столбик пестика. Завязь одногнездная, округлая.

У диких видов цикламена цветки в основном лилово-розовые. Путем гибридизации и длительного отбора получены гибриды и сорта с разнообразной окраской цветков: белой, розовой, розово-фиолетовой, красной, малиновой, бордовой, с изрезанными лепестками, а также бахромчатыми. На одном растении развивается 10-15 и более цветков. Плод – многосеменная коробочка диаметром 1-2,5 см. Семена коричневые, имеют плотную оболочку. Форма семян неправильная, дисковидная с ложбинкой на одной стороне.

У цикламена вместо стеблей уплощенные клубни, покрытые грубой коркой. Цикламен персидский имеет округло-плоский клубень гипокотильного происхождения, который развивается из подсемядольного колена и является видоизмененным стеблем [3]. У цикламена европейского клубни более мелкие, с выростами. У сеянца и молодого растения клубни более мелкие 0,3-1 см в диаметре, у взрослого -10-15 см. Клубни – запасающие органы, но в первый год жизни это просто укороченные стебли, через которые питательные вещества и вода поступают к листьям.

В первый год клубни округлые, с одним-трехмя меристематическими центрами на верхушке. У 3-4-х летних и более старых клубней верхушка уплощается и на ней развивается до семи ростовых центров. Листья собраны в розетку, округло-сердцевидные или округло-почковидные, гладкие, блестящие, темно-зеленые, часть с серебристым рисунком на внешней стороне, диаметром до 10 см, на черешках длиной 10-15 см. Корневая система мочковатая. Корни двух типов: толстые-диаметром до 0,2 см, длиной 10-20 см разветвленные.

Чаще всего цикламен размножают семенами. Чтобы изучить особенности семенной культуры цикламена в условиях закрытого грунта Юго-Восточного Казахстана, необходимо иметь исходный материал, т.е. семена. В условиях экспериментальной теплицы ИбиФ МОН РК сорта и виды цикламена цветут в ноябре – декабре. Во время цветения цикламена насекомых-опылителей в теплице не было, поэтому для получения семян, необходимых для исследования, нами

проводилось искусственное опыление цветков 5 видов цикламена (*Cyclamen hederifolium*, *C. persicum*, *C. cypriion* и двух сортов Ария и Таурус). Пыльца, попадая на рыльце пестика, прорастала и при этом производилось оплодотворение. Оплодотворенный цветок быстро отцветал. В течение нескольких недель происходило формирование и развитие круглой коробочки, наполненной твердыми, темно-коричневыми семенами.

Посев семян исследуемых видов и сортов в середине августа, в оптимальные для Юго-Восточного Казахстана сроки. Для этого использовали рыхлую и влагоемкую почву. Чаще всего цикламен выращивают в торфе. Нами подобрана почвенная смесь, состоящая из листовой земли, перегноя, дерновой земли, торфа и крупнозернистого речного песка в соотношении 2:1:1:0,5: 0,5.

В период прорастания семян в теплице поддерживалась температура 18-20°C. Через 30 дней семена прорастали, после чего с посевых ящиков снимали темную полиэтиленовую пленку (семена цикламена прорастают в темноте), с сеянцев убирали торф, которым мульчировали посевы, а ящики с сеянцами ставили на более светлое место, притеняя от прямых солнечных лучей, температуру понижали до 15°C.

Всходость семян цикламена разных видов колебалась от 40,4 до 80%. Хорошей всхожестью обладали семена *Cyclamen hederifolium*, *C. persicum*. Семена сортов Ария и Таурус имели 100% всхожесть. Спустя месяц после появления всходов, у сеянцев из зародышевого стебелька формируется нежный бело-зеленоватый клубенек, реагирующий на механические и др. рода вмешательства (Рис. 1).



Рис. 1. Формирование клубенька и первого листа у сеянцев цикламена через месяц после появления всходов

Через 6 недель сеянцы цикламена в стадии 2-х листочков рассаживались в 0,5 л. горшочки, в тот же субстрат, но приготовленный из свежих составных частей. Содержали на свету при температуре 18°C. При пикировке клубеньки цикламена лишь слегка прикрывали тонким слоем земли, так как глубокая посадка растений приводит к их загниванию.

Спустя еще 2-6 месяцев происходит дальнейший рост и развитие цикламена: увеличивается количество и размер листьев, растет диаметр клубенька. На стадии 4-5 хорошо развитых листьев цикламен пикировали второй раз в посевные ящики по схеме 10x10 см или высаживали в 9 см горшки, при этом следили, чтобы верхняя часть клубня у основания листьев была покрыта слоем земли на 0,5 см и слегка выступала над краем горшка (Рис. 2). Нельзя заглублять клубень, потому что верхняя его часть представляет видоизмененный стебель с вегетативными и репродуктивными органами, которые не могут развиваться в земле.

В течение двух-трех недель после посадки у растений интенсивно развивается корневая система, поэтому их необходимо регулярно, по мере подсыхания почвы, поливать и опрыскивать. Лучше поливать цикламен в поддон. В весенне-летний период растения подкармливали один раз в месяц раствором минеральных удобрений (NPK). С середины августа дозы азотных удобрений уменьшали, а затем исключали совсем. Фосфорные и калийные удобрения вносили до появления окрашенных бутонов.



Рис. 2. Цветение и образование коробочек с семенами (сорт Таурус)

Нами изучались биологические особенности сеянцев цикламена. Данные приведены в таблице 1.

Из приведенных данных таблицы 1 видно, что наилучшим развитием по всем изученным показателям отличался цикламен персидский. Рисунок на листьях является сортовым и видовым признаком. У изученных видов цикламена рисунок на листьях хорошо выражен.

Через 15 месяцев после посева семян сорта цикламена Ария и Таурус зацветают (рис. 2). Цветет цикламен обильно и долго (с ноября по апрель), развивая цветок за цветком, но для это-

Таблица 1. Биологические особенности сеянцев цикламена

| Название вида                | Возраст сеянца (мес.)<br>( $x \pm m$ ) | Диаметр клубня (см)<br>( $x \pm m$ ) | Диаметр листа (см)<br>( $x \pm m$ ) | Диаметр черешка листа (см) ( $x \pm m$ ) | Число листьев (шт.)<br>( $x \pm m$ ) | Рисунок листа  |
|------------------------------|--|--------------------------------------|-------------------------------------|--|--------------------------------------|----------------|
| <i>Cyclamen hederifolium</i> | 6                                      | 0,05±0,05<br>Cv-2,9<br>p-0,91        | 1,2±0,25<br>Cv-6,75<br>p-2,13       | 2,03±0,03<br>Cv-4,92<br>p-1,55           | 3,5±0,07<br>Cv-6,28<br>p-1,78        | Хорошо выражен |
| <i>Cyclamen cuprion</i>      | 6                                      | 0,8±0,02<br>Cv-3,2<br>p-1,1          | 1,1±0,01<br>Cv-4,5<br>p-4,05        | 2,44±0,15<br>Cv-2,08<br>p-0,86           | 2,6±0,2<br>Cv-2,53<br>p-0,97         | Хорошо выражен |
| <i>Cyclamen persicum</i>     | 6                                      | 1,03±0,02<br>Cv-6,1<br>p-3,0         | 2,62±0,9<br>Cv-1,52<br>p-0,58       | 6,1±0,1<br>Cv-8,1<br>p-1,3               | 5,1±0,1<br>Cv-6,47<br>p-1,26         | Хорошо выражен |
| <i>Cyclamen persicum</i>     | 12                                     | 2,07±0,01<br>Cv-6,2<br>p-3,0         | 5,2±0,05<br>Cv-3,26<br>p-0,62       | 12,2±0,1<br>Cv-3,5<br>p-0,2              | 10,3±0,2<br>Cv-5,53<br>p-0,53        | Хорошо выражен |

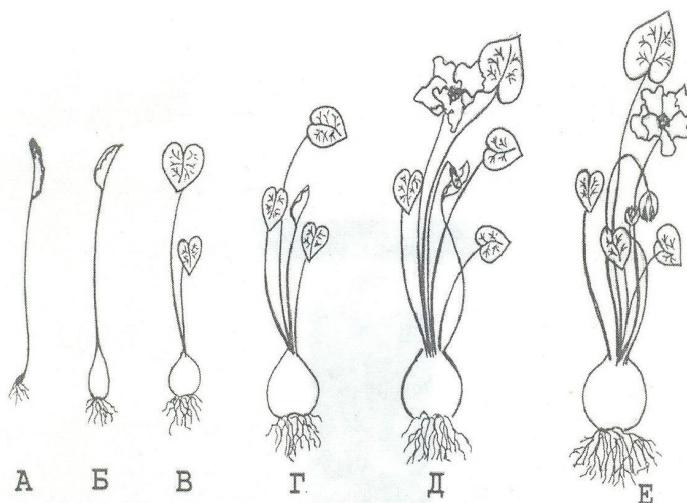


Рис. 3. Цикл развития цикламена. Обозначения: А – прорастание семени; Б – формирование клубенька и первого листа; В – стадия второго листа; Г – стадия 4-х листьев, дальнейшее формирование клубня; Д – цветение цикламена; Е – цветение и образование коробочки с семенами

го растения необходимо содержать в прохладной, светлой теплице при температуре воздуха не выше 15°C.

Для нормального развития цикламену необходима освещенность 8000-10000 люкс. Цикл развития цикламена персидского и сортов Ария и Таурус представлен на рисунке 3.

После цветения у цикламена постепенно желтеют и засыхают листья, клубень приходит в стадию покоя, который длится с мая по июль. В августе цикламен выбрасывает маленькие сердцевидные листочки и начинается дальнейший его рост и развитие. Таким образом, впервые в условиях закрытого грунта Южного Казахстана, изучены особенности онтогенеза трех видов и двух сортов цикламена.

Нами изучены особенности биологии цветения и опыления цикламена. В условиях экспериментально-производственной теплицы ИбиФ МОН РК цикламен персидский и его сорта Ария и Таурус, цветли в январе-марте. Проведено морфологическое описание цветков цикламена, изучена фертильность, жизнеспособность пыльцы и установлены оптимальные сроки опыления.

У сорта Ария (окраска цветка красная с малиновым оттенком и вишневым глазком) и Таурус (окраска цветка светло-розово-красная с бордовым глазком) пыльца мелкая, округлая, выровненная. Диаметр ее 27,5 микрон. У сорта Ария фертильность пыльцы составляет 98,5%, у Таурус – 93,3%.

Показателем жизненного тонуса и общего уровня физиологической активности пыльцевых зерен является наличие в их плазме окислительных ферментов. В зрелой пыльце исследуемых сортов цикламена реакции на окислительные ферменты выражены очень сильно, пероксидаза (гвайкол+ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) – положительная (коричневая), пероксидаза (бензидин+ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) – положительная (синяя), цитохромоксидаза («Нади-реактив») – положительная (синяя), дегидрогеназа (метиленовая синь) – положительная (обесцвечивание метиленовой сини), что указывает на высокую активность ферментов в фертильной пыльце.

Исследование показало, что оптимальным сроком для искусственного опыления цветков цикламена, является третий-пятый день после раскрытия цветков. Рыльце пестика в этот период готово для принятия зрелой пыльцы.

Поскольку основным способом размножения цикламена является семенной, было осуществлено искусственное опыление цикламена персидского. С одного маточника собрано 10 коробочек с коричневыми средневыполненными семенами (рис. 4), общее количество которых составило 370 штук. Процент завязывания семян составил от 27,1 до 95,7%.

Для ускорения степени размножения наиболее ценных видов и сортов цикламена использован метод культуры тканей *in vitro*. Исследования по микроклональному размножению проводились совместно с лабораторией эксперимен-

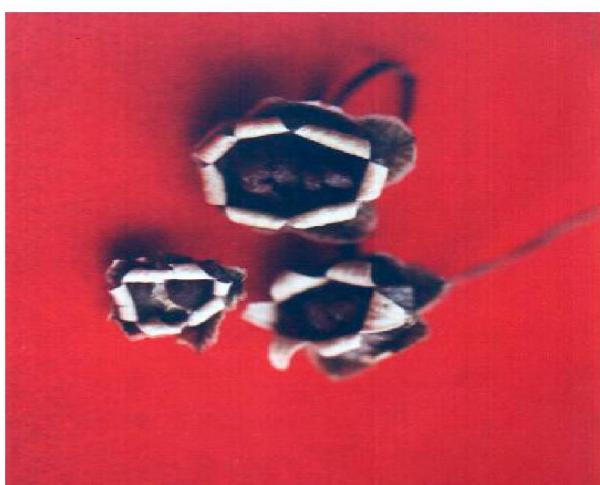


Рис. 4. Коробочки с семенами



Рис. 5. Морфогенная каллусная ткань на эксплантах сегментов черешков

тальной эмбриологии Института биологии и биотехнологии растений НЦБ РК. Исследовались возможности индукции процессов морфогенеза и регенерации в культуре изолированных тканей цикламена (сегменты черешков листа, сегменты листовой пластинки, семена)

Выяснено, что сочетание фитогормонов в вариантах среды №1, №3 индуцировало образование морфогенной каллусной ткани на первичных эксплантах сегментов черешков и сегментов листовой пластинки (рис. 5, 6).

На всех вариантах питательной среды МС при культивировании семян цикламена наблюдалось набухание семян, а на вариантах среды №3, №4 единичное прорастание семян цикламена и их дальнейшее развитие.

Цикламен относится к трудноразмножаемым растениям как *in vivo*, так и *in vitro*. Основным фактором, ограничивающим размножение цикламена *in vitro* является: 1) инфицированность питательной среды паразитарной микрофлорой, присущей на ткани при взятии эксплантов из различных частей растения, особенно клубня; 2) ограниченность сырьевой базы для взятия исходных эксплантов; 3) достаточно низкая регенерационная способность растений *in vitro* [4].

Основным препятствием при культивировании цикламена *in vitro* является сложность введения его эксплантов в стерильную культуру. Поэтому весьма важным является отработка методики стерилизации эксплантов цикламена. Ниже представлена схема стерилизации растительного материала (сегментов клубня, черешков листьев):

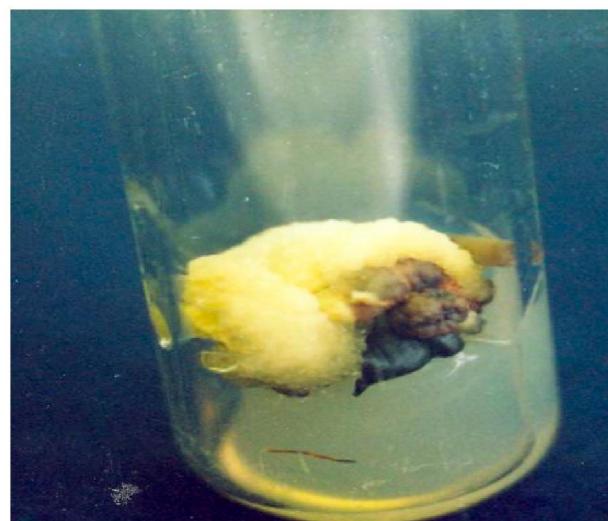


Рис. 6. Морфогенная каллусная ткань на эксплантах сегментов листовой пластинки

мыльный раствор – 20 минут, раствор перманганата калия – 10 мин., 10% раствор перекиси водорода – 15 мин., 7% раствор хлорамина В – 20 мин., 0,1% раствор суплемы – 20 мин. После каждого этапа проводили промывание эксплантов в стерильной дистиллированной воде.

Таким образом, пополнены сведения по биологии развития и размножения видов и сортов цикламена, полученные данные будут использоваться в дальнейшей селекционной работе.

Разработаны питательные среды для индукции процессов куаллусогенеза, адVENTивного побегообразования и прорастания семян в культуре тканей *in vitro*, что дает возможность присту-

пить к разработке регламента клonalного микроразмножения цикламена.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Жизнь растений. М., 1981. Т. 5. Ч. 2. С.110-115.
2. Роценя Г., Звиргздиня В. Оценка интродуцированных сортов цикламена// Ботанические сады Прибалтики: тепличные растения. Рига, 1982. С. 100-110.
3. Юскевич Н.Н. //Промышленное цветоводство России. М., 1990. С. 281-291.
4. Ando T, Murasaki K. In vitro propagation of cyclamen by the use of etiolated petioles // Techn. Bull. Fac. Hortic. Chiba Univ. 1983. V. 32. P.1-5.

#### Резюме

Қазақстанның Оңтүстік-шығысында жабық грунт жағдайында алғаш рет парсы цикламені және оның сорттарының онтогенезі, گүлдену биологиясы және көбею ерекшеліктері зерттелді. Цикламеннің бағалы генотип-терін тезірек көбейту үшін *in vitro* жағдайында ұлпаларынан өсіру әдісі қолданылды.

#### Summary

The specialities of ontogenesis, flowering biology and of cyclamen's persicum propagation and its cultivars in close soil of the South-East of the Kazakhstan were studied for the first time.

There was used the method of tissue culture for rapid micropagation of cyclamen's valuable cultivars.