

---

## ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

---

УДК 581.43+635.91

### СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ МЕТОДИКИ УКОРЕНЕНИЯ

*CATTLEYA GASKELLIANA* (N.E.BR.)

B.S. WILLIAMS (ORCHIDACEAE JUSS.) В УСЛОВИЯХ *IN VITRO*

© 2025 г. Мусаб Хуссиен\*, @, О. И. Молканова\*, Е. Е. Орлова\*\*, В. А. Коваль\*

\*Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина РАН, Ботаническая ул., 4, Москва, 127276 Россия

\*\*ФГБОУ ВО РГАУ – МСХА имени К.А. Тимирязева, Тимирязевская ул., 49, Москва, 127550 Россия

@e-mail: muthab.hussien95@gmail.com

Поступила в редакцию 14.02.2024 г.

После доработки 06.08.2024 г.

Принята к публикации 07.08.2024 г.

Представленная статья посвящена оптимизации одного из этапов микроклонального размножения укоренения регенерантов *Cattleya gaskelliana* и выявлению особенностей анатомического строения корней при различных условиях культивирования *in vitro*. В ходе исследования установлено, что полутвердая питательная среда ½ MS, содержащая 50.0 г/л бананового пюре и 1.0 мг/л ИУК, положительно влияла на рост и развитие корневой системы регенерантов *C. gaskelliana*. Определена гистологическая дифференциация корней *C. gaskelliana* *in vitro*, образованных на питательных средах с различным содержанием агар-агара. При культивировании на полутвердой питательной среде корни имели более развитой диаметр и центральный цилиндр. Для получения максимальной приживаемости (100%) рекомендуется использовать сфагновый мох и субстрат из коры, перлита и торфа в соотношении 1: 1: 1.

**Ключевые слова:** *Cattleya*, *in vitro*, анатомия, корни, ауксины

**DOI:** 10.31857/S1026347025010045

Каттлея – один из самых популярных родов орхидей, широко известен своими красивыми и крупными цветками, которые являются уникальным компонентом для создания букетов и цветочных композиций (De, 2022). Представители этого рода распространены в Мексике и Центральной Америке, включая Колумбию и Венесуэлу. Их ареал включает в себя разнообразные местообитания, от горных хребтов и засушливых лесов до переходных зон, ведущих к влажным, туманным склонам холмов и каньонам. Представители рода демонстрируют широкий спектр экологических предпочтений и включают эпифитные, лиофилитические и наземные виды. (Pupulin, 2015; Menezes *et al.*, 2022).

*Cattleya gaskelliana* (N.E.Br.) B.S. Williams (Каттлея Гаскелла) – один из наиболее высоко декоративных представителей рода каттлеи. Цветки этого вида ароматные и особенно крупные (диаметром от 14 до 20 см) по сравнению с цветками других видов этого рода (Chadwick, Chadwick, 2021). Лепестки и чашелистики – пурпурно-фиолетовые с белым оттенком. Этот вид относится к растениям короткого дня, которые преимущественно цветут летом. Каттлея Гаскелла находится под угрозой исчезновения

и занесена в Красную книгу Венесуэлы (Salazar, Arcia-Barreto, 2020).

Клональное микроразмножение является наиболее перспективным методом получения высококачественных растений, на долю которого приходится около 70% производства орхидей (Yeung *et al.*, 2018). Укоренение орхидей *in vitro* по-прежнему остается актуальной проблемой, которая усложняет их производство, поскольку развитие корневой системы влияет на жизнеспособность регенерантов и их дальнейший рост и развитие *vitro* (Dewir *et al.*, 2015). Питательная среда для культивирования может быть твердой, полутвердой или жидкой в зависимости от наличия или отсутствия желирующих агентов (Putri *et al.*, 2022). Полужидкая среда обеспечивает эксплантам наибольший доступ к необходимым питательным веществам. Кроме того, она способствует лучшей диффузии питательных веществ среды и легко удаляется с проростков перед их переносом в условия *ex vitro* (Savangikar, 2004). Многие исследования были проведены с целью определения оптимальной среды для размножения, регенерации, укоренения и дальнейшего роста орхидей *in vitro*, с использованием сочетания органических добавок и регуляторов роста (Tung *et al.*, 2020; Nongdam *et al.*, 2023).

Целью нашего исследования является усовершенствование метода укоренения *Cattleya gaskelliana* и выявление особенностей анатомического строения корней этого вида в условиях *in vitro* в зависимости от концентрации агара в питательной среде.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа проведена в лаборатории биотехнологии растений Главного ботанического сада имени Н.В. Цицина в 2023 году. Эксперименты проводились с использованием традиционных биотехнологических приемов и методик, разработанных в лаборатории биотехнологии растений.

Объектами данного исследования послужили регенеранты *C. gaskelliana* размерами 1.0–1.2 см, полученные при культивировании протокормов на среде ½ Murasige and Skoog (1962) MS с добавлением 0.5 мг/л Тиодиазурина (ТДЗ) и 100 мл/л кокосовой воды. На этапе укоренения использовали питательную среду ½ MS с добавлением 50.0 г/л бананового пюре и 1.0 г/л древесного угля. Проведено сравнение различных концентраций агара (3.0 и 7.0 г/л) и сочетаний ауксинов (Индолил-3-масляная кислота (ИМК) и Индолилуксусная кислота (ИУК)) в концентрациях (1.0 и 2.0 мг/л). В ходе данного этапа были проведены измерения и учет следующих показателей: высота растения (см); число листьев (шт.); число корней (шт.); длина корней (см).

Во время эксперимента растительный материал культивировали по 7 шт. в каждой банке в 5 повторностях. Адаптация происходила при температуре 25–27°C, освещенности 2000 Лк, фотопериоде 16/8 ч.

Для изучения анатомического строения корней *C. gaskelliana* все объекты фиксировали в 70%-ном растворе этанола. Срезы фиксированных корней производили с помощью микротома МС-2 (“Точмедприбор”, Харьков, Украина) с подключенным замораживающим столиком ОМТ-2802Е (ООО “КБ ТЕХКОМ”, Екатеринбург, Россия). Толщина срезов составила 80–100 мкм. Для выявления лигнификации клеточных стенок корней проводилась окраска срезов сафранином и альциановым синим. Фотографирование анатомических срезов осуществлено при помощи светового микроскопа Olympus CX41 (Olympus Corporation, Токио, Япония) и подключенной к нему цифровой камеры Canon 7D Mark II (Canon Incorporated, Токио, Япония). Яркость и контрастность конечных изображений были скорректированы с помощью программного обеспечения Adobe Photoshop CC. Проведены морфометрические измерения следующих показателей: диаметр корней (мкм),

толщина веламена (мкм), экзодермы (мкм), паренхимы (мкм), толщина эндодермы (мкм) и диаметр центрального цилиндра (мкм) с помощью программы Image J.

Статистические данные анализировали с использованием программного обеспечения Microsoft Office Excel 2016 и PAST 2.17c. Достоверность различий между средними данными вариантов опыта оценивали с помощью наименьшей существенной разности для 5 %-ного уровня значимости ( $HCP_{05}$ ).

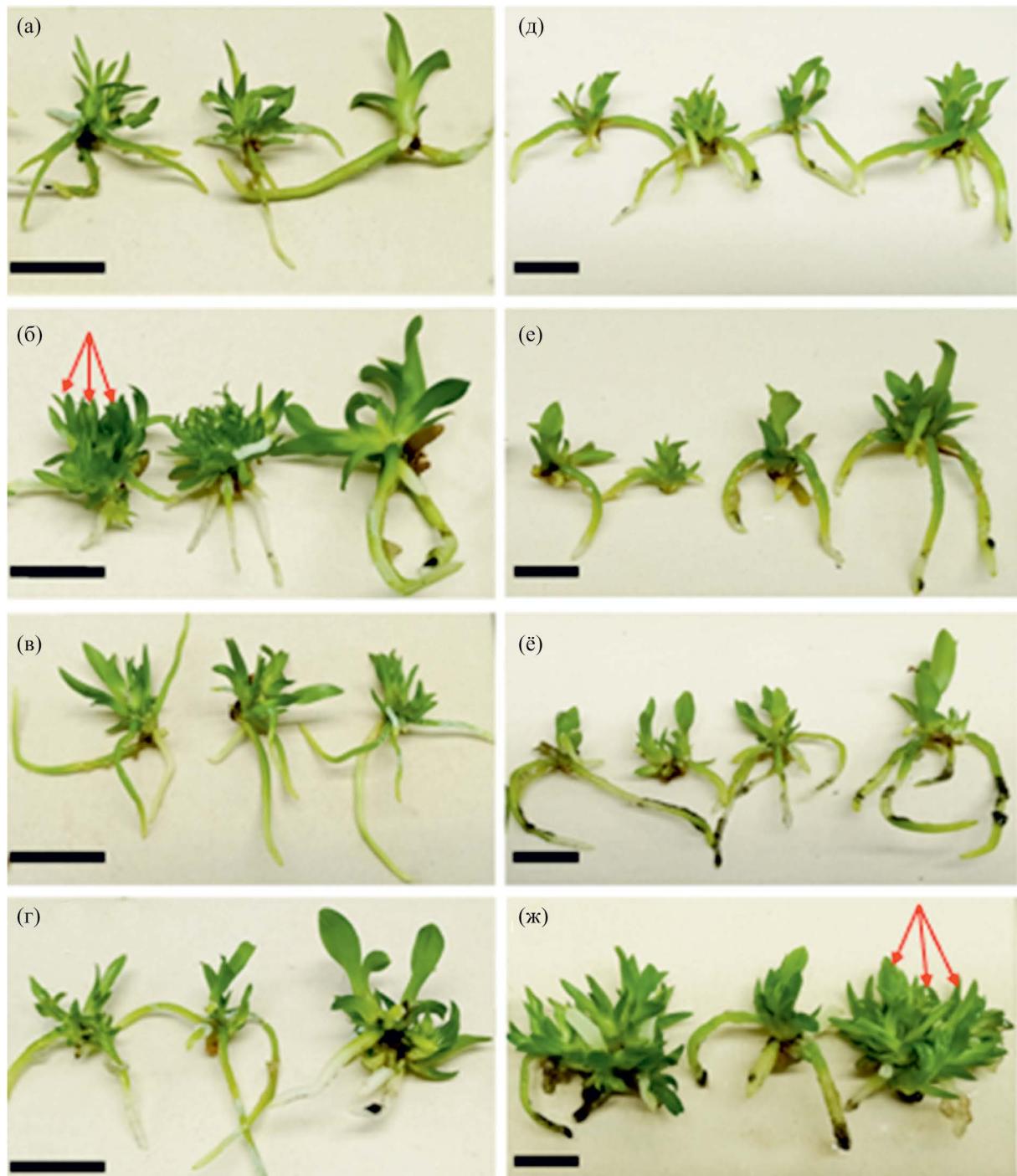
## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При укоренении *in vitro* каждый вид растений требует индивидуального подбора состава питательной среды (Mondal, Banerjee, 2017). Культивирование регенерантов на модифицированной питательной среде может стимулировать рост и способствовать производить *C. gaskelliana* в больших количествах.

В данном исследовании показано, что консистенция питательных сред, тип ауксинов и их концентрации оказывают положительное влияние на рост и укоренение проростков *C. gaskelliana* (рис. 1).

Установлено, что при культивировании регенерантов на обеих питательных средах (твердой и полутвердой) с добавлением 1.0 мг/л ИУК были выявлены наибольшие значения параметров корневой системы и роста. Но на полутвердой среде наблюдали максимальные показатели (высота растения  $3.04 \pm 0.41$  см, число корней  $5.21 \pm 0.95$ , число листьев  $5.07 \pm 0.19$  и длина корней  $5.30 \pm 0.44$  см) по сравнению с другими вариантами (рис. 2).

Это согласуется с результатами других исследований, где показано, что растения укореняются лучше на полутвердой среде по сравнению с твердой и жидкой средой (AlKhateeb, Alturki, 2014; Menezes-Sá *et al.*, 2021). Это может быть связано с тем фактом, что данная консистенция обеспечивает поддержку, гарантирующую более эффективное воздействие ауксинов только на базальную часть регенерантов (Shukla *et al.*, 2020). Также добавление бананового пюре вместе с ауксином улучшает рост и укоренение проростков в условиях *in vitro* (Kong *et al.*, 2007; Hussien *et al.*, 2023). Это связано не только с высоким содержанием углеводов, ионов и других минералов, таких как калий, марганец, цинк, витамины (тиамин, рибофлавин, ниацин, пиридоксин, пантотеновая кислота, аскорбиновая кислота, фолиевая кислота), но и природных регуляторов роста, таких как цитокинины, ИУК и ГК3 (Utami, Hariyanto, 2020). Кроме того, банановое пюре обладает способностью регулировать pH клеток, что играет ключевую роль во многих биологических процессах,

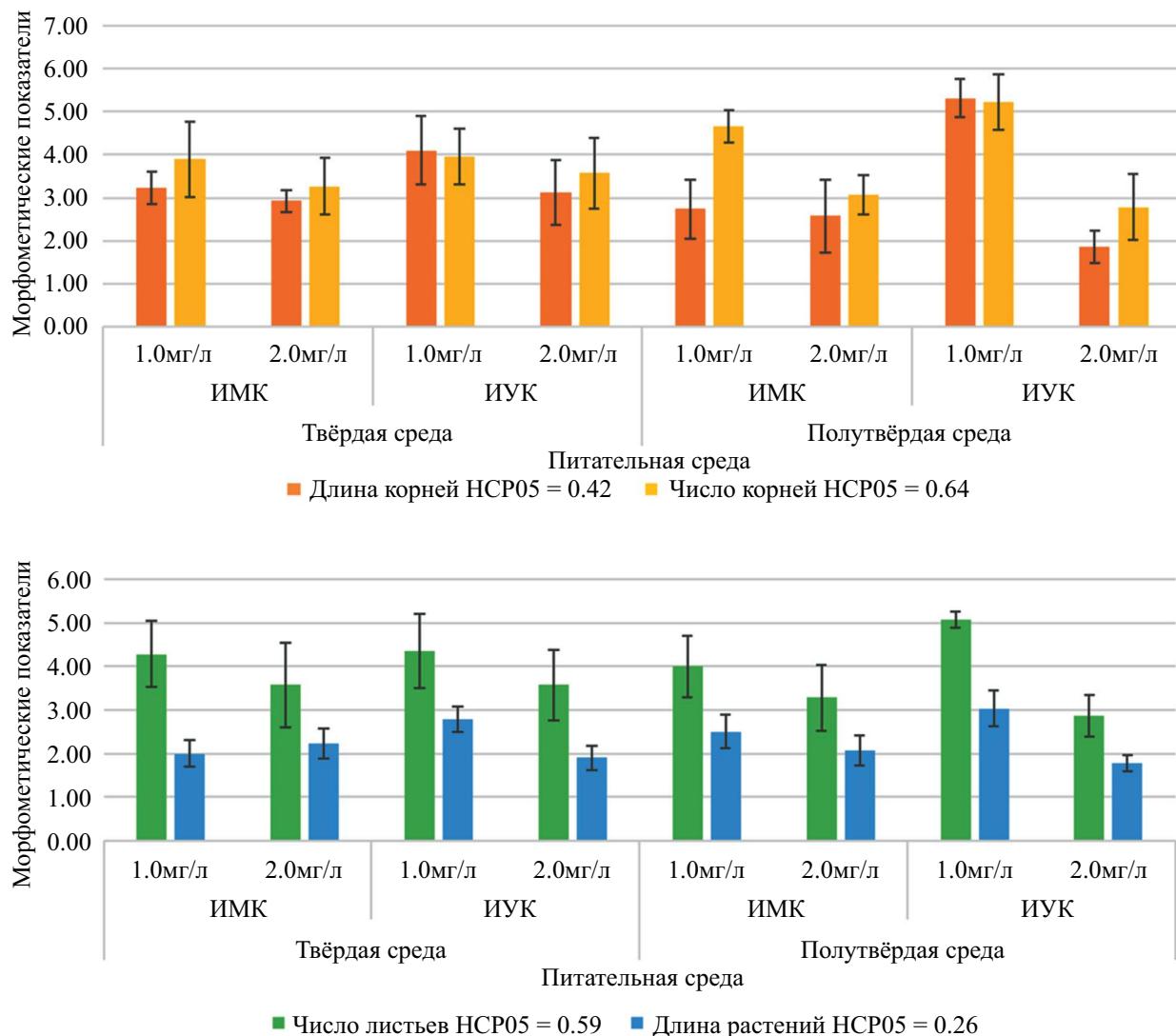


**Рис. 1.** Влияние консистенции питательных сред, типа ауксинов и их концентрации: твердая среда: а – 1.0 мг/л ИМК; б – 2.0 мг/л ИМК; в – 1.0 мг/л ИУК; г – 2.0 мг/л ИУК; полутвердая среда: д – 1.0 мг/л ИМК; е – 2.0 мг/л ИМК; ё – 1.0 мг/л ИУК; ж – 2.0 мг/л. ИУК на развитие *C. gaskelliana* после 90 суток культивирования, красные стрелки: адвентивные побеги (масштаб – 1 см).

таких как поглощение питательных веществ, укоренение и рост растений (Acemi, 2020).

На этапе укоренения наблюдали формирование адвентивных побегов на всех питательных

средах (рис. 1). Наименьшее число адвентивных побегов ( $1.83 \pm 0.46$  и  $1.62 \pm 0.36$  шт/эксплант) было получено при культивировании на твердых питательных средах с добавлением 1.00 мг/л ИМК



**Рис. 2.** Влияние консистенции питательных сред, типа ауксинов и их концентрации на морфометрические показатели *C. gaskelliana* на этапе укоренения.

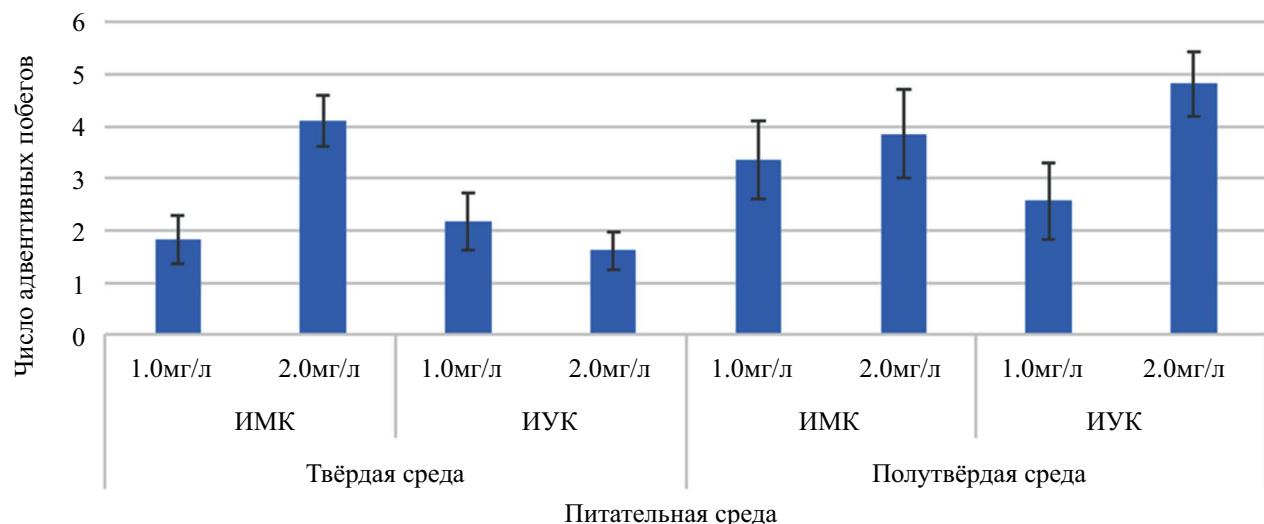
и 2.00 мг/л ИУК соответственно по сравнению с другими вариантами. В то же время наибольшее количество адвентивных побегов ( $4.10 \pm 0.49$  и  $4.81 \pm 0.62$  шт/эксплант) образовалось на твердой питательной среде с добавлением 2,0 мг/л ИМК и полутвердой среде, содержащей 2 мг/л ИУК соответственно (рис. 3).

Саравия-Кастильо (Saravia-Castillo *et al.*, 2022) отмечал стимулирующее действие ауксинов на формирование адвентивных побегов во время укоренения *Cattleya maxima* Lindl. *in vitro*, что согласуется с полученными нами результатами. Это можно объяснить тем фактом, что использование высоких концентраций ауксинов подавляет укоренение и увеличивает коэффициент размножения (Kim *et al.*, 2023). Однако увеличение концентрации

ауксинов может оказывать негативное воздействие на развитие проростков и приживаемость других таксонов орхидей, например, таких как *Brassavola nodosa* Lindl (Xu J. *et al.*, 2022).

Стоит отметить, что корни, образованные на полутвердой питательной среде, характеризовались большим диаметром (на поперечном срезе) в сравнении с корнями на твердой среде. В связи с установленными морфологическими различиями корней регенераторов *C. gaskelliana*, при культивировании на твердой и полутвердой питательной среде было проведено исследование их анатомического строения.

На питательной среде с меньшей концентрацией агара (3.0 г/л) отмечено, что веламен состоит из двух клеточных слоев. Экзодерма образована



**Рис. 3.** Влияние консистенции питательных сред, типа ауксинов и их концентрации на число адVENTивных побегов *C. gaskelliana* на этапе укоренения.

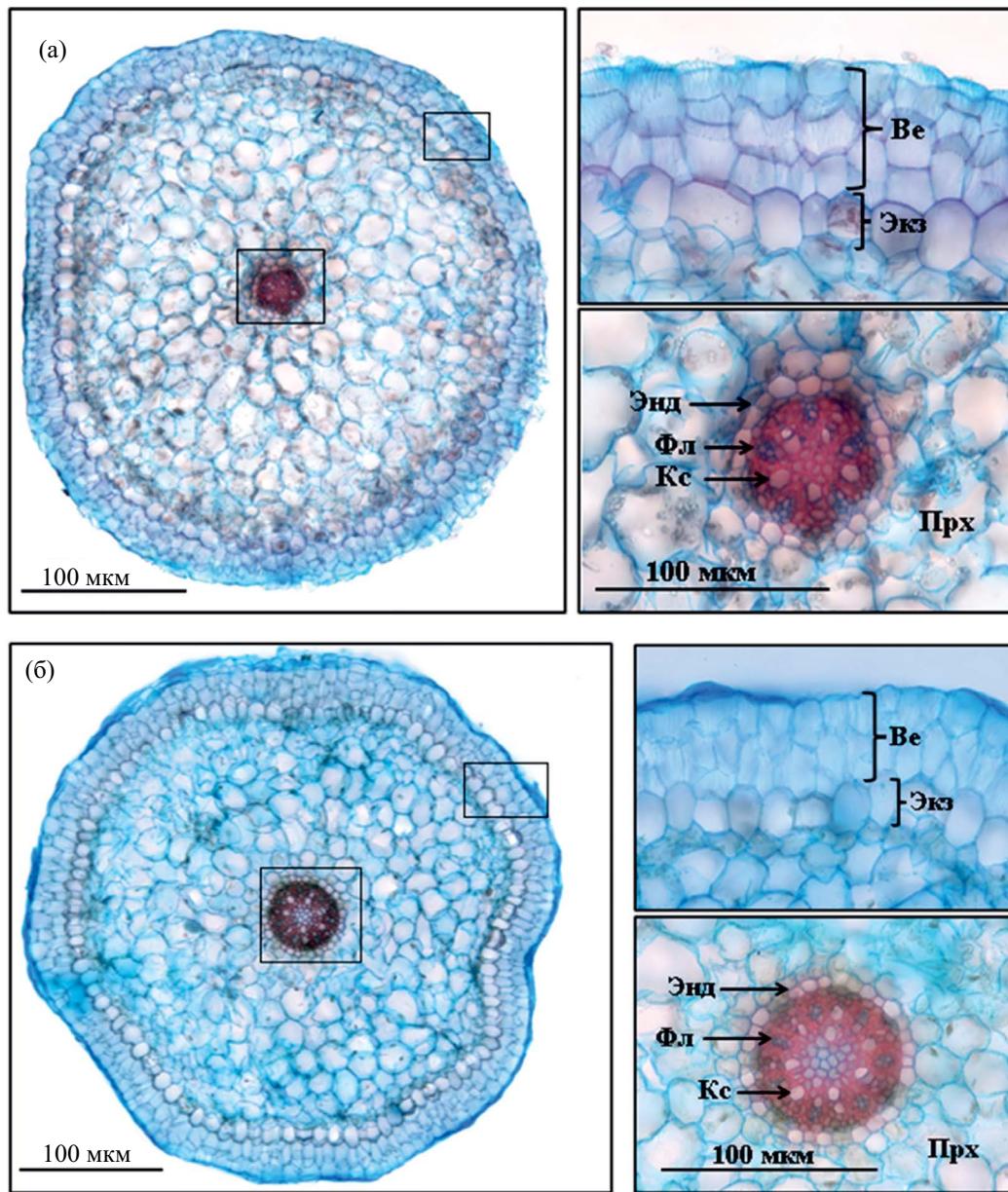
одним слоем клеток, лигнификация клеточных стенок отсутствует. Паренхима занимает основной объем кортекса. Эндодерма состоит из одного слоя клеток, клеточные стенки не лигнифицированы. Стела представляет собой полиархный пучок с паренхимной сердцевиной с 7–8 ребрами, внутри которых расположены крупные сосуды первичной ксилемы. На питательной среде с большей концентрацией агара (7.0 г/л) у корней *C. gaskelliana* наблюдали 2–3 слоя веламена. Паренхима занимает основной объем кортекса. Эндодерма также состоит из одного слоя клеток, у которых образуются пояски Каспари. Стела представляет собой полиархный пучок со склеренхимной сердцевиной с 5 ребрами и небольшим количеством сосудов первичной ксилемы (рис. 4).

При анализе анатомо-морфологического строения корней *C. gaskelliana* установлено, что диаметр корней ( $384.32 \pm 21.05$  мкм) и диаметр центрального цилиндра ( $54.15 \pm 4.34$  мкм) были больше у эксплантов, культивируемых на полутвердой питательной среде. В свою очередь корни, образованные на питательных средах с разной концентрацией агара, значительно не различались по толщине веламена, экзодермы, паренхимы и эндодермы (табл. 1).

Многие исследователи предполагают, что толщина веламена может быть связана с конкретными факторами окружающей среды, такими как температура и влажность (Sanford, Adanlawo, 1973; Rodrigues et al., 2021)! Тонкий слой веламена у растений *in vitro*, культивируемых на обеих питательных средах, объясняется отсутствием необходимости в запасании растениями влаги и предотвращении ее потери (Mustika, Sembarti, 2021).

Толщина клеточных слоев экзодермы и эндодермы существенно не различалась у корней, развивающихся на обеих питательных средах. Эти ткани играют важную роль в механической поддержке растения и защите корней от испарения воды (Lana et al., 2021). Кортекс состоит из тонкостенных паренхиматозных клеток почти одинакового размера. Было отмечено, что толщина паренхимы в корнях эксплантов, выросших на обеих вариантах питательной среды, почти одинакова. Паренхима играет важную роль не только с таксономической, но и с функциональной точки зрения, поскольку повышает способность корней противостоять засухе (Chimungu et al., 2014; Xu H. et al., 2022).

Анализ исследуемых срезов корней показал, что стела имеет округлую форму и занимает большую часть корня (табл. 1). Показано, что диаметр центрального цилиндра отличался при культивировании на двух исследуемых питательных средах. Вероятно, увеличение диаметра корня в условиях полутвердой среды обусловлено формированием центрального цилиндра, содержащего большее количество полюсов ксилемы по сравнению с корнями, развивающимися на твердой среде. (Rai et al., 2024). Этап адаптации является заключительным при клonalном микроразмножении. Способность проростков выдерживать стресс при пересадке часто определяет успех процесса размножения в культуре *in vitro* (Da Silva et al., 2017). В нашем исследовании было обнаружено, что использование сфагнового мха для адаптации регенерантов *C. gaskelliana* и высадка в субстрат, состоящий из коры, перлита и торфа в соотношении 1:1:1, показали



**Рис. 4.** Анатомия корней *C. gaskelliana* на разных питательных средах: а – твердая среда, б – полутвердая среда. Ве – веламен, Экз – экзодерма, Прх – паренхима, Энд – эндодерма, Фл – флоэма, Кс – ксилема (масштаб – 100 мкм).

**Таблица 1.** Анатомо-морфологические показатели корней *C. gaskelliana* на питательных средах с разной концентрацией агара

Концентрация агара	Параметры (мкм)						Диаметр центрального цилиндра	
	Диаметр корней	Толщина						
		веламена	экзодермы	паренхимы	эндодермы			
Полутвердая (3.0 г/л)	384.32 ± 21.05	29.42 ± 3.26	9.36 ± 1.58	119.48 ± 9.18	4.80 ± 0.55	54.15 ± 4.34		
Твердая (7.0 г/л)	332.43 ± 17.21	26.56 ± 4.21	9.65 ± 1.18	112.31 ± 6.35	4.05 ± 0.47	35.71 ± 1.84		
HCP05	13.12	2.97	–	5.80	–	2.28		



**Рис. 5.** Саженцы *C. gaskelliana* после 70 дней адаптации *ex vitro*.

100%-ную приживаемость после 70 дней адаптации (рис. 5).

Результаты данного исследования могут быть использованы как рекомендации для укоренения *in vitro*, что позволит повысить эффективность коммерческого производства и сохранение этого вида.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Усовершенствован метод укоренения *C. gaskelliana*. Наиболее эффективной для интенсивного роста и развития сеянцев оказалась питательная среда ½ MS с добавлением 3.0 г/л агара, 1.0 мг/л ИУК и 50.0 г/л бананового пюре. Впервые были выявлены особенности анатомического строения корней *C. gaskelliana* при культивировании на питательных средах с различной концентрацией агара *in vitro*. Таким образом, в результате проведенного исследования было установлено, что анатомия корня обладает типичными характеристиками корней эпифитных орхидей без каких-либо аномалий. При культивировании на твердой и полутвердой питательной среде веламен, экзодерма и эндодерма существенно не отличались. Однако на полутвердой среде корни характеризовались большим диаметром, большим количеством полосов ксилемы и большим диаметром центрального цилиндра по сравнению с корнями, растущими на твердой среде.

## ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в рамках госзадания ГБС РАН (№ 122042700002-6).

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

В данной работе отсутствуют исследования человека или животных.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Acemi A.* Growth enhancing effects of banana homogenate on a glucomannan-rich orchid species: *Serapias vomeracea* (Burm.f.) Briq // J. fur Kult. 2020. V. 72. P. 243–249. <https://doi.org/10.5073/JfK.2020.06.05>
- AlKhateeb A.A., Alturki S.M.* A comparison of liquid and semi-solid cultures on shoot multiplication and rooting of three date palm cultivars (*Phoenix dactylifera* L.) *in vitro* // Adv. Env. Biol. 2014. V.8. P. 263269.1
- Chadwick A.A., Chadwick A.E.* The classic Cattleyas // Univ. Press Fla. 2021. P. 260.
- Chimungu J.G., Brown K.M., Lynch J.P.* Reduced root cortical cell file number improves drought tolerance in maize // Plant Physiol. 2014. V. 166. P. 1943–1955.1 <https://doi.org/10.1104/pp.114.249037>
- Da Silva J.A.T., Hossain M.M., Sharma M., Dobránszki J., Cardoso J.C., Songjun Z.E. N.G.* Acclimatization of *in vitro*-derived *Dendrobium* // Hortic. Plant J. 2017. V. 3. P. 110–124. <https://doi.org/10.1016/j.hpj.2017.07.009>
- De L.* Good agricultural practices of *Cattleya* orchids // SABUJEEMA Int. Multidiscip. e-Mag. 2022. V. 2. P. 5–10.
- Dewir Y.H., El-Mahrouk M.E., Murthy H.N., Paek K.Y.* Micropropagation of Cattleya: Improved *in vitro* rooting and acclimatization // Hortic. Environ. Biote. 2015. V. 56. P. 89–93.1 <https://doi.org/10.1007/s13580-015-0108-z>
- Hussien M., Molkanova O., Mitrofanova I.V.* Micropropagation of *Trichopilia suavis* Lindl. & Paxton // Ornam. Hortic. 2023. V. 29. P. 365–374.1 <https://doi.org/10.1590/2447-536X.v29i3.2653>
- Kim S.H., Zebro M., Jang D.C., Sim J.E., Park H.K., Kim K.Y., Park S.M.* Optimization of plant growth regulators for *in vitro* mass propagation of a Disease-Free “Shine Muscat” Grapevine cultivar // Curr. Issues. Mol. Biol. 2023. V. 45. P. 7721–7733.1 <https://doi.org/10.3390/cimb45100487>
- Kong Q., Yuan S.Y., Végvári G.Y.* Micropropagation of an orchid *Dendrobium strongylanthum* Rchb. // Int. J. Hortic. Sci. 2007. V. 13. P. 61–64.1 <https://doi.org/10.31421/IJHS/13/1/696>
- Lana L.G., Silva A.F.D.M., Buss A., Oliveira D.C.D., Moreira A.S. F.P.* Early development of epiphytic

- roots: perspectives based on the composition of the velamen cell wall // *Acta Bot. Bras.* 2021. V. 34. P. 633–644.  
<https://doi.org/10.1590/0102-33062020abb0140>
- Menezes E.L., Giordani S.C.O., Mendes J.C.R. Cattleya mireileiana*, a new species of Orchidaceae (Laeliinae) from the Southern Espinhaço Complex, Minas Gerais State, Brazil // *Phytotaxa*. 2022. V. 541. P. 270–276.  
<https://doi.org/10.11646/phytotaxa.541.3.6>
- Menezes-Sá T.S.A., Costa A.S.D., Arrigoni-Blank M.D.F., Blank A.F., Moura G.M.S., Soares C.A. In vitro propagation and conservation of Cattleya tigrina A. Rich* // *Cienc. Rural*. 2021. V. 52. P. 1–11.  
<https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20200517>
- Mondal T., Banerjee N. Micropropagation and in vitro conservation of threatened orchids: a brief review* // *CIBTech J Biotech*. 2017. V. 6. P. 1–12.
- Murashige T., Skoog F. A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures* // *Physiol. Plant.* 1962. V. 15. P. 473–497.  
<https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>
- Mustika N.D., Semiaristi E. In vitro culture of Dendrobium lineale Rolfe orchid for plant breeding and propagation* // In IOP Conference Series: Environ. Earth Sci. 2021. V. 913. P. 012066 IOP Publishing.  
 DOI: 10.1088/1755-1315/913/1/012066
- Nongdam P., Beleski D.G., Tikendra L., Dey A., Varte V., El Merzougui S., Vendrame W.A. Orchid Micropropagation Using Conventional Semi-Solid and Temporary Immersion Systems: A Review* // *Plants*. 2023. V. 12. P. 1136.1  
<https://doi.org/10.3390/plants12051136>
- Pupulin F. A new form of Cattleya dowiana and the taxonomy of its color variations* // *Orchids*. 2015. V. 84. P. 46–54.
- Putri V.A., Sugiyono S., Prayoga L., Prasetyo R., Hilary S. The Application of Two Steps Culture in Agarwood, Aquilaria malaccensis, In Vitro Culture Improves Microshoots Induction and Development* // *Phys. Scr.* 2022. V. 9. P. 1–5.  
 DOI: 10.20884/1.sb.2022.9.1.1373
- Rai P., Bhutia K., Moktan S. Comparative study on root anatomy of six species of Himalayan Dendrobium Swartz* // *Flora*. 2024. V. 310. P. 152424.  
<https://doi.org/10.1016/j.flora.2023.152424>
- Rodrigues A.C., Oliveira F.M.C., Kedrovski H.R., Cruz R. Within the roots of Pleurothallidinae (Orchidaceae): An evolutionary analysis* // *Flora*. 2021. V. 282. P. 151883.  
<https://doi.org/10.1016/j.flora.2021.151883>
- Salazar S.K., Arcia-barreto M.M. Ríos en la cuenca Caribe oriental y drenajes a los golfos de Cariaco y Paria* // Douglas Rodríguez Olarte. 2020. P. 13.
- Sanford W.W., Adanlawo I. Velamen and exodermis characters of West African epiphytic orchids in relation to taxonomic grouping and habitat tolerance* // *Bot. J. Linn. Soc.* 1973. V. 66. P. 307–321.1  
<https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.1973.tb02178.x>
- Saravia-Castillo G., Tapia y Figueroa L., Borjas-Ventura R. Auxins and Cytokinins elicit a differentiated response in the formation of shoots and roots in Cattleya maxima Lindl and Phalaenopsis amabilis (L) Blume* // *Sci. Agropecu*. 2022. V. 13. P. 63–69.  
<http://dx.doi.org/10.17268/sci.agropecu.2022.006>
- Savangikar V.A. Low-cost options for tissue culture technology in developing countries* // Proceedings of a Technical Meeting organized by the Joint FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture. 2004. P. 11–15.
- Shukla M.R., Piunno K., Saxena P.K., Jones A.M.P. Improved in vitro rooting in liquid culture using a two-piece scaffold system* // *Eng. Life Sci.* 2020. V. 20. P. 126–132.1  
<https://doi.org/10.1002/elsc.201900133>
- Tung H.T., Luan V.Q., Nhut D.T. Some techniques in micropropagation and breeding of Paphiopedilum spp* // *Vietnam J. Sci. Technol.* 2020. V. 58. P. 393–401.1  
<https://doi.org/10.15625/2525-2518/58/4/14779>
- Utami E.S.W., Hariyanto S. Organic compounds: contents and their role in improving seed germination and protocorm development in orchids* // *Int. J. Agron.* 2020. V. 2. P. 1–12.  
<https://doi.org/10.1155/2020/2795108>
- Xu H., Wang S., Tang L., Wang Y., Li Z., Wang W. Differential influence of cortex and stele components on root tip diameter in different types of tropical climbing plants* // *Front. Plant Sci.* 2022. V. 13. P. 961214.  
<https://doi.org/10.3389/fpls.2022.961214>
- Xu J., Beleski D.G., Vendrame W.A. Effects of culture methods and plant growth regulators on in vitro propagation of Brassavola nodosa (L.) Lindl. Hybrid* // *In Vitro Cell Dev Biol Plant*. 2022. V. 58. P. 931–941.  
<https://doi.org/10.1007/s11627-022-10276-7>
- Yeung E.C., Park J., Harry I.S. Orchid Seed Germination and Micropropagation I: Background Information and Related Protocols. Orchid Propagation: From Laboratories to Greenhouses – Methods and Protocols* // New York, Springer Protocols Handbooks. 2018. P. 101–125.  
[https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7771-0\\_5](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7771-0_5)

**Improving rooting of *Cattleya gaskelliana* (N.E.Br.)  
B.S. Williams (Orchidaceae juss.) under *in vitro* conditions**

**Muthab Hussien<sup>1, #</sup>, O. I. Molkanova<sup>1</sup>, E. E. Orlova<sup>2</sup>, V. A. Koval<sup>1</sup>**

**\*Tsitsin Main Botanical Garden of the Russian Academy of Sciences, Botanicheskaya str., 4, Moscow, 127276 Russia**

**\*\*Russian State Agrarian University Moscow Timiryazev Agricultural Academy,**

**Timiryazevskaya str., 49, Moscow, 127550 Russia**

**#E-mail: muthab.hussien95@gmail.com**

The present article is devoted to optimizing rooting of *Cattleya gaskelliana* regenerants in vitro, and to identifying anatomical features of root under various culture conditions in vitro. The results showed that semi-solid ½ MS nutrient medium containing 50.0 g/L banana puree and 1.0 mg/L IAA is more effective in the growth and rooting of *C. gaskelliana* regenerants. Also, it has been determined the histological differentiation of *C. gaskelliana* roots formed on nutrient media with different concentrations of agar. Plants cultured on semi-solid nutrient medium had roots with more developed diameter and a central cylinder. To obtain maximum survival rate (100%), it is recommended to use sphagnum moss and a substrate consisting of bark, perlite, and peat in equal ratio.

*Keywords:* *Cattleya*, *in vitro*, anatomy, roots, auxins