

4. *Шахмирзоев Р.А., Казиметова Х.М.* Размещение плодовых насаждений в агроландшафт предгорной и горной провинции Дагестана // Горное сельское хозяйство. –2016. – Вып. 1. – С. 121-126.

Shamirzoev R.A., Dogeyev G.D., Shamirzoev A.R. Development of intensive gardening in the republic of Dagestan // Woks of the State Nikit. Botan. Gard. – 2017. – Vol. 144. – Part II. – P. 51-55.

In article are characterized by the horticultural development of the Republic of Dagestan, in the priority allocated to intensive horticulture under this sector, the ways of intensification of horticulture, - substantiation of optimizing the placement of gardening taking into account the vertical zonality partner.

Key words: *horticulture; development; optimization; nursery; ecology productivity varieties.*

РАЗВИТИЕ ПИТОМНИКОВОДСТВА. РЕСУРСОСБЕРЕГАЮЩИЕ ТЕХНОЛОГИИ УСКОРЕННОГО ВЫРАЩИВАНИЯ ПОСАДОЧНОГО МАТЕРИАЛА. БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ РАЗМНОЖЕНИЯ

УДК 634.37:581.4:57.085.2

МОРФОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ НЕКОТОРЫХ СОРТОВ *FICUS CARICA* L. В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO*

**Валентина Анатольевна Браилко, Ирина Вячеславовна Митрофанова,
Ольга Владимировна Митрофанова, Елена Леонидовна Шишкина,
Ирина Васильевна Жданова**

ФГБУН «Ордена Трудового Красного Знамени Никитский ботанический сад –
Национальный научный центр РАН», г. Ялта, Российская Федерация
valentina.brailko@yandex.ru

Представлены данные структурно-функционального анализа микропобегов и листьев двух сортов *F. carica* – Romigiyskiy и Sabrutsiya Rozovaya при различной длительности культивирования *in vitro*. Установлена высокая степень дифференциации и специализации тканей вегетативных органов, ассимиляционная активность и способность регулировать водный режим. Показана возможность к адаптации в постасептических условиях *ex vitro*.

Ключевые слова: *инжир; in vitro; вегетативные органы; морфология; анатомия; фотосинтетическая активность.*

Введение

Инжир (*Ficus carica* L., семейство Moraceae) – ценное высокопродуктивное скороплодное субтропическое растение, плоды которого обладают высокой калорийностью и диетической ценностью [6]. В свою очередь, необходимость культивирования растений *F. carica in vitro* вызвана оздоровлением пораженных сортов вирусными болезнями [8], проблемой получения большого количества посадочного материала и сохранением уникального генофонда Никитского ботанического сада (НБС).

Известно, что приспособление к новым условиям культивирования носит комплексный характер и основывается на пластичности анатомических структур, лабильности и толерантности биохимических и физиологических параметров, пределы которых определены генетической природой конкретных генотипов. R.K.S. Rezende

(2008) [10] и S. Dousseau (2008) [5] с соавторами указывают на существенные анатомические различия, которые существуют у растений, выращенных из семян, полученных в условиях *in vitro*. Таким образом, целью исследования является мониторинг жизнедеятельности микропобегов, изучение морфо-анатомических и физиологических параметров культиваров ценных сортов инжира коллекции Никитского ботанического сада (НБС) при различных сроках культивирования *in vitro*, а также определение адаптивных особенностей изучаемых генотипов к условиям *ex vitro*.

Объекты и методы исследований

В исследования были включены два сорта инжира: Pomoriyskiy (интродуцирован из Болгарии, самоплодный с двумя урожаями, отличается ранними сроками созревания и высокими вкусовыми качествами) и Sabrutsiya Rozovaya (селекции Н.К. Арендт (НБС); сорт самоплодный с одним урожаем, отличается крупными привлекательными плодами (80 –100 г) и также высокими вкусовыми качествами). Опыты по введению меристем в культуру *in vitro* и регенерации микропобегов инжира проводили с применением биотехнологических методов [7, 9]. Для индукции морфогенеза использовали питательную среду WPM с 0,7 – 2,0 мг/л БАП, 0,15 – 0,5 мг/л НУК и 9 г/л агара (рН среды доводили до 5,8 – 5,9 до автоклавирования). Все эксперименты проводили в асептических условиях бокса биотехнологической безопасности SC2 («ESCO», Сингапур). Питательные среды автоклавировали при 120°C в течение 5 – 12 минут в стерилизаторе LAG 5060S (Южная Корея). Полученные микропобеги в условиях *in vitro* субкультивировали каждые 20 – 25 суток. Температура в культуральной комнате составляла 24±1°C, использован 16-часовой фотопериод, интенсивность освещения 37,5 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Отбор микропобегов осуществляли через 100 суток (5 пассажей) и 390 суток (19 пассажей) культивирования *in vitro*.

Для определения линейных размеров микропобегов брали по 10 растений, морфометрию листьев проводили с 30-кратной повторностью. Гистологические препараты листовых пластинок (временные водные и глицериновые) изготавливали по общепринятой методике [3]. Анализ проводили с помощью микроскопа AxioScope A.1 (Zeiss, Германия) и программного приложения Axio Vision Rel. 4.8.2. Микрофотографии получены с помощью системы анализа изображения AxioCam ERc5s. В качестве критериев оценки водного режима микропобегов проведены исследования общей оводненности и фракционный состав воды [2]. Функциональное состояние ассимиляционного аппарата оценено по параметрам индукции флуоресценции хлорофилла облиственных микропобегов при помощи портативного флуориметра «Флоротест» (2010, Украина) [1].

Для статистической обработки полученных данных использовали программное приложение Statistica 6.0.

Результаты и обсуждение

Микропобеги изученных сортов инжира *in vitro* имели различную высоту (от 1,2 до 4,2 см), облиственность и степень сформированности в зависимости от сроков культивирования (рис. 1, 2, табл. 1).

При этом отмечено, что количество развившихся микропобегов и линейные размеры листьев с продолжительностью культивирования уменьшаются вне зависимости от сортовой принадлежности. Листовые пластины имеют типичную для инжира форму и зеленую окраску. У сорта Pomoriyskiy количество листьев больше,

однако, они меньших размеров, вместе с тем как у сорта Sabrutsiya Rozovaya меньшее количество листьев сочетается с большими размерами, особенно при культивировании в течение 100 суток. Некротизация листьев не превышала 25%.

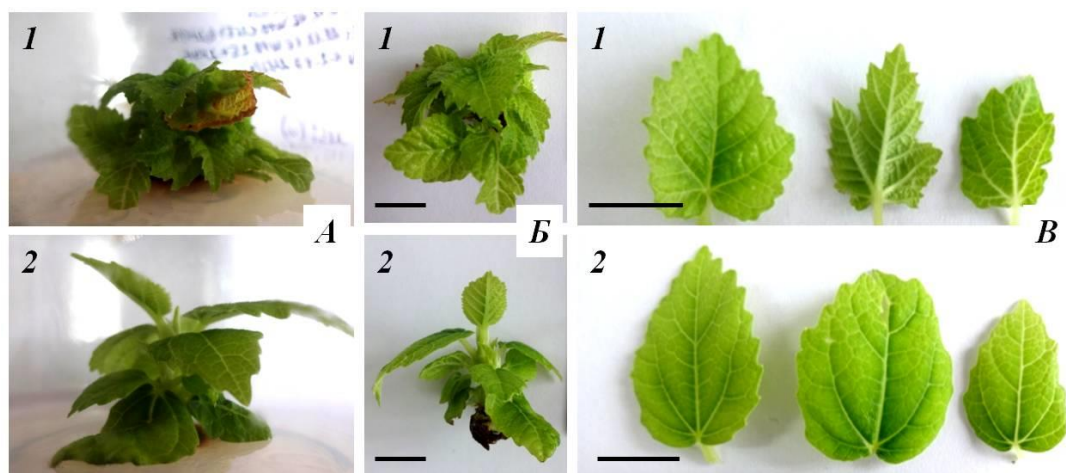


Рис. 1 Внешний вид микропобегов *F. carica* при культивировании *in vitro* в течение 100 суток: А – на питательной среде; Б – микропобеги, В – листья сорта: 1 – Pomoriyskiy, 2 – Sabrutsiya Rozovaya; масштаб 1 см.

Ассимиляционные ткани функционируют активно, о чем свидетельствуют показатели индукции флуоресценции $(F_m - F_{st})/F_m$ и F_m/F_{st} (табл. 1). Незначительное фотоингибирование отмечено только у сорта Pomoriyskiy при 390-суточном культивировании. Индекс жизнеспособности тканей листа выше при 100-суточном культивировании.

Листовые пластинки микропобегов бифациальные, тонкие (рис. 2). Их толщина также снижается при культивировании в течение 390 суток (табл. 1). Покровные ткани сформированы, выражен тонкий (1 – 3 мкм) кутикулярный слой и простые трихомы (рис. 2). Клетки эпидермиса крупные, амебоидной формы.

Таблица 1
Морфометрические, гистологические и физиологические характеристики вегетативных органов некоторых сортов инжира при различных условиях культивирования ($M \pm SE$)

Показатели / сортовая принадлежность и длительность культивирования	Pomoriyskiy		Sabrutsiya Rozovaya		
	100 суток	390 суток	100 суток	390 суток	
Высота микропобегов, см	1,5 ± 0,3	1,8 ± 0,8	1,8 ± 0,5	3,5 ± 0,7	
Количество микропобегов на экспланте, шт	7 ± 2	3 ± 2	1 ± 1	2 ± 1	
Количество листьев, шт	26 ± 5	14 ± 3	14 ± 3	11 ± 3	
Размер листьев (длина × ширина), см	1,1 × 0,9	1,1 × 1,0	2,3 × 1,9	1,8 × 1,3	
% некротизированных листьев	25	9	12	10	
Толщина листовой пластинки, мкм	83 ± 7	75 ± 12	117 ± 10	81 ± 14	
Толщина покровных тканей, мкм	адаксиальной	19 ± 2	16 ± 2	18 ± 3	14 ± 2
	абаксиальной	10 ± 3	7 ± 2	9 ± 1	8 ± 2
Толщина мезофилла, мкм	палисадного	28 ± 5	17 ± 4	37 ± 2	21 ± 3
	губчатого	26 ± 5	22 ± 8	47 ± 4	35 ± 8
Коэффициент палисадности	0,51	0,44	0,45	0,38	
Размеры клеток эпидермиса (длина × ширина), мкм	адаксиального	19 × 14	19 × 12	25 × 16	21 × 16
	абаксиального	22 × 17	19 × 10	32 × 21	23 × 19
Длина устьичной щели, мкм	18 ± 2	12 ± 4	18 ± 4	17 ± 2	
Количество устьиц на 1 мм ² абаксиальной	112 ± 26	163 ± 19	196 ± 31	236 ± 29	

эпидермы				
Оводненность тканей регенерантов, %	92 ± 3	84 ± 2	90 ± 2	89 ± 3
Доля связанной воды, %	20 ± 4	32 ± 6	19 ± 3	26 ± 4
Относительная фотосинтетическая активность, $(F_m - F_{st})/F_m$, отн.ед.фл.	0,64 ± 0,02	0,58 ± 0,08	0,60 ± 0,12	0,60 ± 0,05
Индекс жизнеспособности F_m/F_{st} , отн.ед.фл.	2,91 ± 0,03	2,16 ± 0,18	3,18 ± 0,52	2,14 ± 0,12

Для сорта Sabrutsiya Rozovaya характерны большие размеры клеток покровных тканей вне зависимости от срока культивирования. Устьичные аппараты аномоцитного типа, сосредоточены преимущественно на абаксиальной стороне листовых пластинок. Существенных различий по размерам устьичной щели между сортами и вариантами длительности культивирования не выявлено. Вместе с этим, у обоих изученных сортов больше устьиц формируется при продолжительном нахождении микропобегов в условиях *in vitro* (табл. 1).

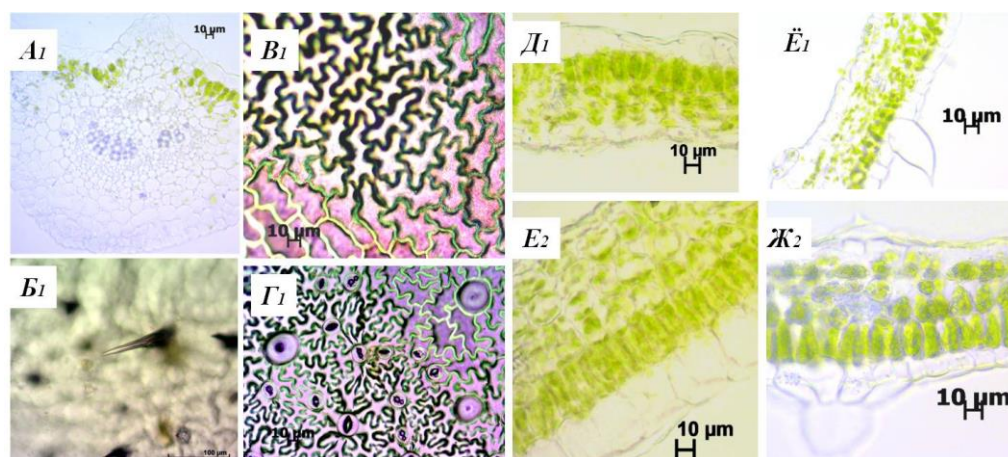


Рис. 2 Структура листовых пластинок *F. carica* в культуре *in vitro*: А – срез центральной жилки листа при 390 сутках культивирования; слепки покровных тканей при 390 сутках культивирования: Б, В – адаксиальной и Г – абаксиальной эпидермы; срезы листовых пластинок: Д, Е – при 100 сутках культивирования; Ё, Ж – при 390 сутках культивирования; сорта: 1 – Pomoriyskiy, 2 – Sabrutsiya Rozovaya.

Мезофилл листа дифференцирован на палисадную и губчатую ткань. Толщина его и коэффициент палисадности выше при 100-суточном культивировании (0,45 – 0,51). Палисадная ткань состоит из одного, редко двух слоев, губчатая – от двух до 4 слоев.

Оводненность микропобегов высокая: от 82 до 95%, снижается с увеличением продолжительности культивирования. Доля связанной воды – наоборот, имеет тенденцию к росту: от 16 к 38% (табл. 1).

Сопоставляя данные проведенного нами гистологического анализа с информацией, представленной в работе С.Ф. [4] с соавторами (2012) при 30-суточном культивировании *in vitro* растений *F. carica* сорта Roxo de Valinbos (на среде PGR free WPM), можем обоснованно предположить, что стремительное развитие тканей листа происходит в 100-суточный период. Далее следует некоторая депрессия в развитии хлоренхимы, однако при этом наблюдается усиленное развитие элементов покровных тканей: трихом и устьиц, что в свою очередь приводит к снижению транспирационной активности, и увеличению фракции связанной воды.

Выводы

Таким образом, можем заключить, что микропобеги инжира в условиях *in vitro* формируют морфологически и функционально нормальные вегетативные органы, фотосинтезирующие активно. В структуре листьев проявляется ряд черт ксероморфной организации. Мезофилл более развит при менее длительном культивировании после инициации процесса морфогенеза. При более продолжительном культивировании покровные ткани имеют более выраженные черты, необходимые для адаптации к водному стрессу в условиях *ex vitro*. Полученные данные позволяют оптимизировать сроки этапов культивирования микропобегов инжира *in vitro*, могут быть использованы для ускоренной селекции и выявления критериев устойчивости данной культуры к абиотическим стрессорам зоны возделывания.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда № 14-50-00079.

Список литературы

1. Брайон О.В., Корнеев Д.Ю., Снегур О.О., Кутаев О.И. Инструментальное изучение фотосинтетического аппарата с помощью индукции флуоресценции хлорофилла. Методические указания. К. – 2000. – 11с.
2. Лицук А.И. Методика определения водоудерживающей способности к обезвоживанию листьев плодовых культур. Физиологические и биофизические методы в селекции плодовых культур: методические рекомендации. – М.: ГНБС. – 1991. – С. 33–36.
3. Паушева З.П. Практикум по цитологии растений. – М: Колос. – 1990. – 283 с.
4. Chirinea C.F., Pasqual M., Araujo A.G.D., Pereira A.R., and Castro E.M.D. Acclimatization and leaf anatomy of micropropagated fig plantlets // Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal. – SP. – 2012. – № 34 (4). – P. 1180-1188.
5. Dousseau S., Alvarenga A.A., Castro E.M., Soares R.P., Emrich E.B., Melo. L.A. Leaf anatomy of *Tabebuia serratifolia* (Vahl) Nich. (Bignoniaceae) propagated *in vitro*, *in vivo* and during the acclimatization. Ciencia & Agrotecnologia, Lavras. – 2008. – V. XXXII. – P.1694-1700.
6. Flaishman M.A., Rodov V., Stover, E. The fig: botany, horticulture, and breeding // Horticultural Review. – 2008. – № 34. – P. 113-197. – <http://dx.doi.org/10.1002/9780470380147.ch2>
7. Kyte L., Kleyn J., Scoggins H. and Bridgen M. Plants from test tubes: An introduction of micropropagation. 4th ed. Timber Press, Portland, Oregon. – 2013. – 274 p.
8. Mitrofanova I.V., Mitrofanova O.V., Lesnikova-Sedoshenko N.P., Chelombit S.V., Shishkina E.L. and Chirkov S.N. Phytosanitary status of *Ficus carica* collection orchards in Nikita Botanical Gardens and biotechnology of fig plants regeneration // Acta Horticulturae. – 2016. – № 1139. – P. 303-310, DOI 10.17660 // Acta Hortic. 2016. 1139.53.
9. Mitrofanova O.V., Mitrofanova I.V., Lesnikova-Sedoshenko N.P. and Ivanova N.N. Using of biotechnological methods for plants improvement and propagation of virus-free planting material of perspective ornamental plants // Works of the State Nikit. Botan. Gard. 138. – 2014. – С. 5-56.
10. Resende R.K.S., Paiva L.V., Paiva R., Chalfeun A., Torgas P.P., Castro E.M. Capitulum organogenesis and anatomical characterization of *Gerbera jamesonii* Adlan leaves. Ciencia & Agrotecnologia, Lavras. – 2008. – V. XXXII. – P. 821-827.

Brailko V.A., Mitrofanova I.V., Mitrofanova O.V., Shishkina E.L., Zhdanova I.V. Morphological and physiological features in some *Ficus carica* L. cultivars *in vitro* // Works of the State Nikit. Botan. Gard. – 2017. – Vol. 144. – Part II. – P. 55-60.

Ficus carica L. plants *in vitro* culture have a great interest due to the high nutritional value of their fruits, obtaining plants resistant to viral diseases, the large-scale production of improved plant material and preservation of the unique fig gene pool collected in Nikita Botanical Gardens. The aim of our studies was to identify structural and metabolic features in vegetative organs of two fig cultivars (Pomoriyskiy and Sabrutsiya Rozovaya) under various durations of *in vitro* culture.

WPM medium supplemented with 0.7-2.0 mg/L BAP, 0.15-0.5 mg/L NAA and 9 g/L agar (pH 5.8-5.9) was used for morphogenesis induction. Microshoots were cultured for 100 and 390 days (they were subcultured every 20-25 days) at 24±1°C, 16-h photoperiod and light intensity 37.5 μmol m⁻²s⁻¹. Morphometric measurements were made in 30 replications; histological analysis was performed on temporary microscope slides. Some aspects of water content in microshoot tissues and their assimilation activity were studied.

Plants regenerated *in vitro* had morphologically and functionally normal microshoots and actively photosynthesized leaf blades. Leaves were bifacial, hypostomatic, thin and xeromorphic. Chlorenchyma was differentiated. Mesophyll was better developed under morphogenesis initiation after 100-days culture. Epidermis was covered with thin cuticle. Simple trichomes and multiple stomatal apparatus of anomocyt type were noted. Cover tissues demonstrated better defined features needed for water stress adaptation under prolonged culture *ex vitro*. The total water content in tissues was high, water fractions repartition to increasing the part of bound water occurred after 390-days culture. Presented data gave us possibility to optimize the time of fig plants *in vitro* culture stages as well as they can be used for advanced breeding and identification of the criteria for abiotic stressors resistance in fig plants according to the cultivation zone.

Key words: *common fig; in vitro; vegetative organs; morphology; anatomy; photosynthetic activity.*

УДК 634.11:631.53.01:632.38

ОСОБЕННОСТИ ТЕХНОЛОГИИ СОЗДАНИЯ БАЗИСНЫХ И СЕРТИФИЦИРОВАННЫХ МАТОЧНИКОВ ВЕГЕТАТИВНО-РАЗМНОЖАЕМЫХ ПОДВОЕВ ЯБЛОНИ

**Леонид Леонтьевич Бунцевич¹, Николай Алексеевич Щербаков²,
Наталья Валерьевна Кухарчик³, Марина Алексанровна Винтер¹**

¹ ФГБНУ Северокавказский зональный научно-исследовательский институт садоводства и виноградарства, г. Краснодар, Россия, leobun@mail.ru

² НКО Союз «Садоводы Кубани», г. Краснодар, Россия, zigsad1@mail.ru

³ РУП «Институт плодородия», пос. Самохваловичи, Республика Беларусь, biotech@belsad.by

В статье описаны особенности промышленной технологии закладки и содержания базисных и сертифицированных маточников вегетативно-размножаемых подвоев яблони, общие правила выбора и подготовки подвоев, выбора и подготовки участка для закладки маточного насаждения, способов его содержания в условиях специализированных предприятий, занимающихся размножением вегетативно-размножаемых подвоев яблони.

Ключевые слова: *питомниководство; вегетативно-размножаемые подвои яблони; вирусные болезни; оздоровление; базисный маточник; сертифицированный маточник; этапы производства; садоводство.*

Введение

До настоящего времени в Российской Федерации не разработаны нормативные документы, регламентирующие общие правила технологии производства вегетативно-размножаемых подвоев яблони высших категорий качества на основе новейших достижений науки и производства. Предлагаемая работа призвана наметить пути решения этой проблемы.