

11. Sack L., Cowan P. D., Jaikumar N. et al. The 'hydrology' of leaves: co-ordination of structure and function in temperate woody species // Plant Cell Environ. – 2003. – **26**, No 8. – P. 1343–1356.
12. Dietz K. J., Schreiber U., Heber U. The relationship between the redox state of Q_A and photosynthesis in leaves at various carbon dioxide, oxygen and light regimes // Planta. – 1985. – **166**, No 2. – P. 219–226.
13. Powles S. B. Photoinhibition of photosynthesis induced by visible light // Annu. Rev. Plant Physiol. – 1984. – **35**. – P. 15–44.
14. Довбиш К. П., Васильченко С. М., Сиваш О. О., Тончій Н. М. Фотосинтетичні характеристики кленів *Acer platanoides* L., *A. campestre* L., *A. tataricum* L. у природних умовах за різних світлових режимів // Укр. ботан. журн. – 2006. – **63**, № 3. – С. 411–420.

Інститут ботаніки ім. М. Г. Холодного
НАН України, Київ

Надійшло до редакції 13.02.2008

УДК 634.8:57.085.2:581.145.2

© 2008

И. И. Рыфф, И. А. Павлова, Н. Г. Нилов

Образование ягоды винограда в безгормональной среде *in vitro*

(Представлено академиком НАН Украины Я. Б. Блюмом)

A single-bud explant was excised from a shoot of the grape of interspecific origin Riesling Magaracha (Riesling x Seyve Villard 12309) and germinated on agarized Murashige – Skoog medium supplemented with 6-benzyl aminopurine and α -naphthalene acetic acid. Following the sixth subculture, one of the plants developed was “pruned” to three axillary buds without removing its root system. The pruning treatment seemed to benefit the flowering and the subsequent fruiting as the plant bore a single berry containing four seeds.

Ранее была показана возможность цветения винограда (*Vitis vinifera* L.) *in vitro* с последующим плодоношением. К. Шринивасан и М. Маллинс изучали цветение усиков, обработанных бензиладенином или 6-(бензиламино)-9-(2-тетрагидропиранилом)-9Н-пурином (РВА) [1]. Соцветия, образовавшиеся из усиков, развивали грозди с жизнеспособными семенами у сортов *V. vinifera* L. Мускат александрийский, Катакурган и у гибрида *V. vinifera* × *V. rupestris*. В исследовании А. Мартинес с соавт. [2] проростки винограда сорта Пино белый вступали в цветение и плодоношение *in vitro* после ряда пассажей на модифицированной среде Галзи. Тем не менее для самих исследователей оставалось неясным, было ли сформировано соцветие в почке до введения в культуру *in vitro* или оно развилось на модифицированной среде Галзи.

Цель нашего исследования состояла в определении возможности цветения и плодоношения при формировании соцветия *in vitro*. Микроразмножение сорта Рислинг Магарача (*Vitis vinifera* L.) проводили на безгормональной питательной среде. У нас не возникает сомнений, что цветок образовался в культуре *in vitro*, так как до его образования микрочеренок был проведен через шесть культуральных пассажей.

Материалы и методы. Исследуемый сорт Рислинг Магарача имеет межвидовое происхождение и был получен при скрещивании гибрида СВ 12-309 с сортом Рислинг рейнский.

Взятые для экспериментов зеленые эксплантаты с одной почкой подвергали поверхностной стерилизации и помещали на питательную среду. Первоначально это была агаризованная среда Мурасиге-Скуга с добавлением 6-бензиламинопурина (1 мг/л) и повышенной концентрацией сахарозы (30 г/л). На следующем этапе эксплантаты с одной почкой пересаживали на среду с добавлением α -нафтилуксусной кислоты (0,1 мг/л) и сахарозы (20 г/л) для их укоренения. Выросшие растения черенковали на фрагменты с двумя почками, которые пересаживали на безгормональную питательную среду. Концентрация макро- и микроэлементов в этой среде была значительно ниже, чем в среде Мурасиге-Скуга: нитрата аммония NH_4NO_3 — 308 мг/л, нитрата калия KNO_3 — 922 мг/л, фосфорнокислого калия однозамещенного KH_2PO_4 — 85 мг/л, микроэлементы были разбавлены в четыре раза, из витаминов добавлены пиридоксин — 0,2 мг/л, и никотиновая кислота — 0,5 мг/л. Выросшие растения расчеренковывали и осуществляли их пересадки на такие же безгормональные среды. Всего проведено шесть пассажей, интервал между которыми составлял 21 день. Растения выращивали в фитокамере с контролируруемыми условиями окружающей среды: световым периодом 16 ч, температурой 25 °С в дневной период и 20 °С в ночной период. Интенсивность освещения на уровне верхушек побегов составляла 45 Вт/м².

Морфоструктура корневой системы описывалась при помощи матрицы, разработанной Н. Ниловым и С. Радченко [3], на основе которой рассчитывалась площадь поверхности корневой системы.

Результаты исследования и их обсуждение. После шестого пассажа вырастали растения, имевшие восемь пазушных почек. Верхнюю часть с пятью почками и шестью листочками срезали, нижнюю с тремя почками, двумя листочками и развитой корневой системой оставляли на той же питательной среде. В ходе развития растения образовалось два одиночных цветка. Обоеполые цветы культурного винограда в большинстве случаев являются самоопыляющимися. В процессе самоопыления одного из них появилась ягода (рис. 1, а). После обрезки и образования ягоды растение приостановило свой рост и новые почки на нем больше не появлялись. С учетом отсутствия гормонов в питательной среде образование ягоды нельзя объяснить их экзогенным влиянием. По-видимому, в данном случае обрезка побега стимулировала цветение и последующее плодоношение. Питательные вещества, поступающие из среды в результате проведенной операции, были направлены на формирование ягоды. При обрезке винограда в полевых условиях часто наблюдается аналогичный процесс. Весь цикл развития — начиная от посадки почки и далее образование из нее проростка, обрезка его, образование цветов и их самоопыление, завязывание ягоды и ее рост — занял 108 дней. В полевых условиях продолжительность вегетационного периода сорта Рислинг Магарача от распускания почек до созревания ягод составляет 130–145 дней.

Существовавшая в фитокамере температура была оптимальной для роста ягоды. Наблюдения за динамикой роста продолжалось 72 дня. А. Уинклер [4] разграничивает три периода в росте ягоды винограда. Первый и третий периоды характеризуются интенсивным ростом, а во второй период темп роста снижен. В нашем случае ягода прошла предположительно две первые фазы, а фаза полного созревания отсутствовала.

Первый период начался с оплодотворения и образования из семечки семян, разрастания околоплодника за счет деления клеток и увеличения в них содержания воды. Через 23 дня после появления ягоды ее диаметр увеличился на 1,5 мм и через кожицу просвечивали образовавшиеся семечки, цвет ее продолжал оставаться зеленым из-за наличия хлорофилла (см. рис. 1, б). Последующие 49 дней ягода продолжала расти, диаметр ее увеличился на 2,5 мм, цвет изменился и стал желто-зеленым (см. рис. 1, в). Таким образом, как

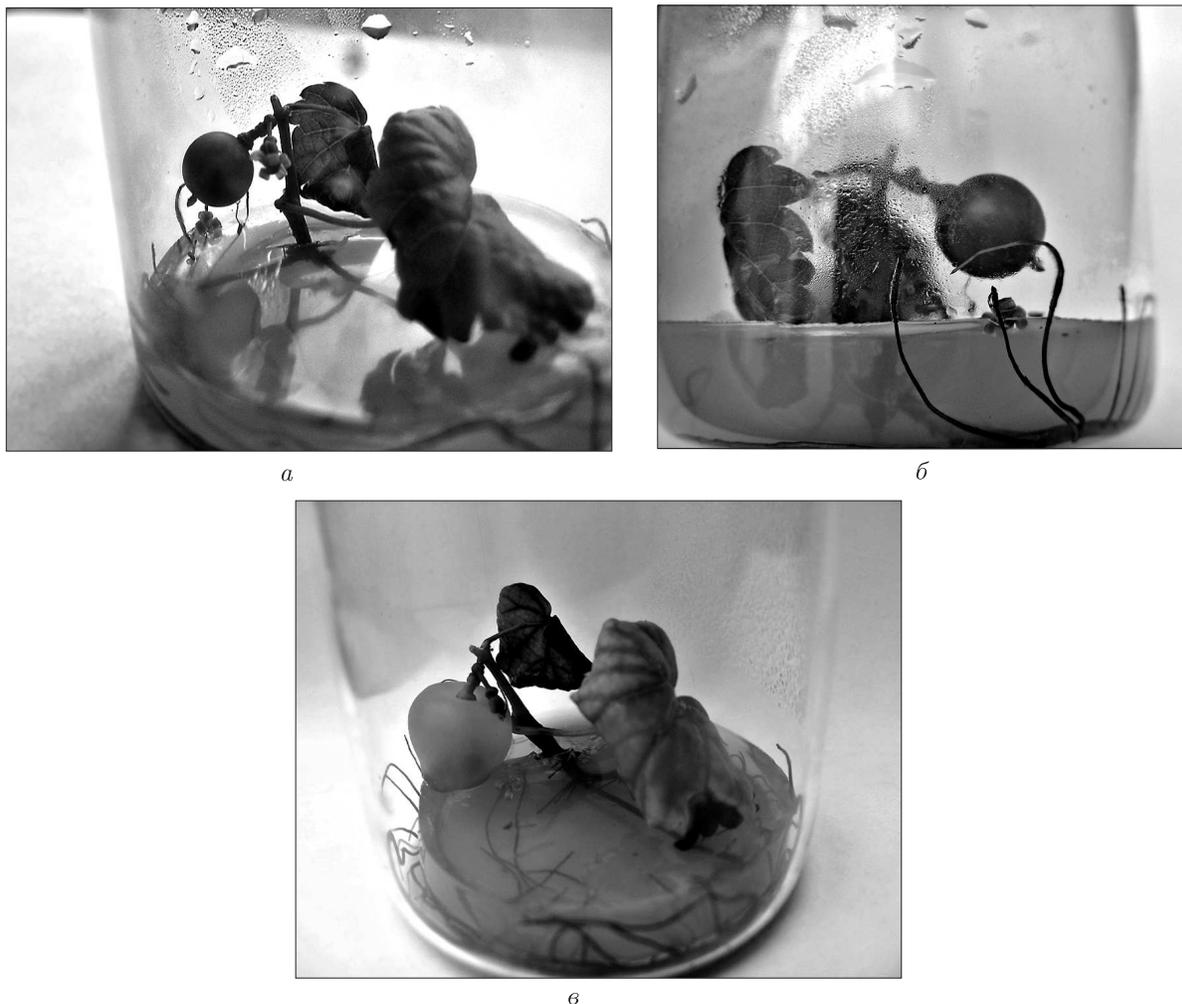


Рис. 1. Фазы развития ягоды:
a — ягода с цветками; *б* — рост ягоды; *в* — ягода на последней стадии развития

и в полевых условиях, при созревании ягода изменила окраску. Низкая концентрация сахаров в ягоде ($5 \text{ г}/100 \text{ см}^3$) обусловлена малой листовой поверхностью, у растения было два листочка с диаметром 17 мм и 12 мм. Образовавшаяся ягода характерна для данного сорта, пруин (восковидное вещество) на кожице ее отсутствовал. Ножка ягоды окрашена в бледно-зеленый цвет, кожица тонкая. На основании отношения длины ягоды к ее ширине она может быть отнесена к категории округлых. М. А. Лазаревский относит форму ягоды к наиболее устойчивым сортовым признакам [5]. Округлая форма ягоды соответствует таковой у основных западно-европейских сортов (рис. 2).

Корневая система эксплантата была достаточно хорошо развита, площадь ее составляла 1507 мм^2 , а плотность корней первого порядка — $0,25 \text{ мм}^{-1}$. Листья не изменяли зеленого цвета, диаметр их равнялся 12 и 17 мм. Вид листьев совпадал с их ампелографическим описанием у данного сорта *in vivo*. Как и в наблюдениях, описанных в работе [2], микрочеренок, на котором появилась ягода, имел пазушный лист. Совпадало снижение концентрации нитрата аммония и уменьшение концентрации микроэлементов в питательной среде.

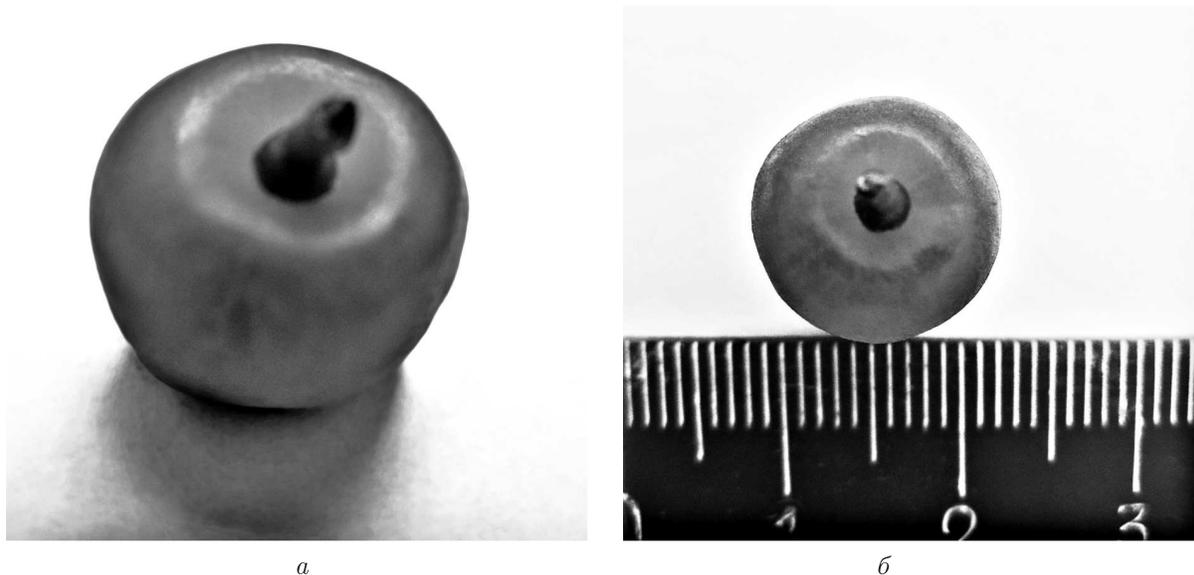


Рис. 2. Общий вид ягоды (а) и ее размер (б)

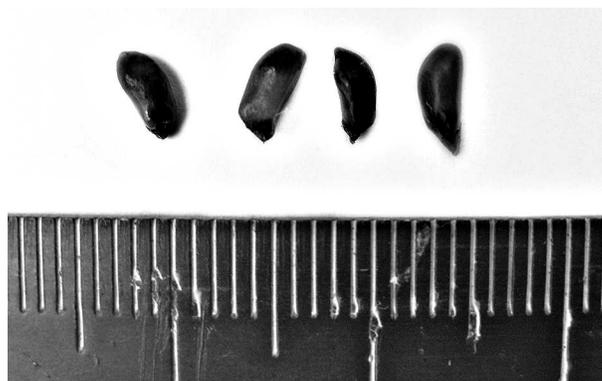


Рис. 3. Размер семян

Цветок винограда имеет двухгнездную завязь с двумя семяпочками в каждом гнезде. При оплодотворении всех четырех семяпочек ягода содержит четыре семени. Обычно ягоды содержат меньшее количество семян, это связано с недоразвитием некоторых семяпочек. В агробиологическом описании данного сорта указано на наличие в ягоде трех семян. В нашем эксперименте *in vitro* в ягоде образовалось четыре семени. Среднее число семян в ягоде зависит от разнообразных причин и не может служить сортовым признаком. В работе [2] было описано образование ягоды винограда в условиях *in vitro* у сорта Пино белый, принадлежащего к виду *Vitis vinifera* L. Однако в ягоде образовалось лишь одно недоразвитое семя, развитие растения происходило на питательной среде Галзи. В нашем случае при отсутствии гормонального фона семяпочки прошли нормальное развитие и количество семян в ягоде было четыре. Однако семена были недоразвиты, зелено-бурого цвета, гораздо меньших размеров (5 × 2 мм), чем у ягод *in vivo*, покровы их не сформированы, по форме напоминали рудименты бессемянных сортов винограда (рис. 3). После отсекания халазы обнаружены остатки полупрозрачного эндосперма только в одном семени. С целью возможного

развития зародыша семена культивировали на модифицированной среде Нич-Нича с добавлением 6-бензиламинопурина (0,5 мг/л). Через два месяца культивирования наблюдалось только развитие каллусной ткани на одном из семян, зародыш не сформировался.

С нашей точки зрения, на образование цветков и ягоды с семенами повлиял ряд факторов: обрезка растения и сохранение при этом развитой корневой системы, особенности модифицированного состава питательной среды, значительную роль сыграл и генотип растения. На зависимость между цветением растения, его плодоношением и происхождением указано в работе [1], авторы которой считают, что растения *V. vinifera* L. с обоеполым цветком в большей степени склонны к образованию соцветий по сравнению с другими видами *Vitis*. Исследуемый нами сорт Рислинг Магарача нельзя отнести к виду *V. vinifera* L., так как он имел межвидовое происхождение, но несмотря на это наблюдался процесс плодоношения. Авторы работы [2] не пришли к определенному выводу по поводу процесса формирования цветка, при этом высказывалось предположение о возможности его образования в почке еще до введения почки *in vitro*. Проведенные нами наблюдения позволяют прийти к определенному мнению относительно того, что цветок сформировался именно *in vitro*, так как эксплантаты прошли шести культуральных пассажей.

Мы предполагаем, что способность к цветению и плодоношению в условиях *in vitro* дает подход к проведению круглогодичного скрещивания с дальнейшим скринингом. Кроме того, появляется возможность диагностики сортовой способности к раннему плодоношению.

1. Srinivasan C., Mullins M. G. Flowering in *Vitis*: Effects of genotype on cytokinin – induced conversion of tendrils into inflorescences // *Vitis*. – 1980. – **19**, No 4. – P. 293–300.
2. Martinez A., Riquelme C., Tizio R. Sur la floraison et la fructification de microboutures de vigne (*Vitis vinifera* L. var Pinot blanc) portant un seul nœud cultivées *in vitro* // *C. r. Soc. biol.* – 1989. – **183**. – P. 203–207.
3. Nilov N., Radchenko S. A matrix for morphological description of the root system in grape (*Vitis* spp) // *Root Ecology and its practical application: Abstracts / ISSR (International Society of Root Research). 3 Symposium (Vienna, Sept. 2–6, 1991).* – Vienna, 1991. – P. 71.
4. Winkler A. I. *General viticulture.* – Berkeley; Los Angeles: University of California Press, 1962. – 633 p.
5. Лазаревский М. А. Методы ботанического описания и агробиологического изучения сортов винограда // *Ампелография СССР. Т. 1 / Под ред. А. М. Фролова-Багреева.* – Москва: Пищепромиздат, 1946. – С. 370–377.

Национальный институт винограда
и вина “Магарач”, Ялта

Поступило в редакцию 08.02.2008