

УДК 631.147

ОСОБЕННОСТИ МОРФОГЕНЕЗА ЦИТРУСОВЫХ КУЛЬТУР, ВЫРАЩИВАЕМЫХ МЕТОДОМ *IN VITRO* НА РАЗНЫХ ВИДАХ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД, НА ПРИМЕРЕ СОРТОВ *C. UNSHIU* «*MIAGAWA*», *C. LIMON* «*SANBOKAN*», *C. FORTUNELLA CRASSIFOLIA* «*MEIWA*»

В.Е. Скворцов, Ю.Э. Шубина

ФГБОУ ВО «Липецкий государственный педагогический университет имени П.П. Семенова-Тян-Шанского», г. Липецк, Россия

v9871340@gmail.com

Представлены результаты по микроклональному размножению растений рода *Citrus*. На примере сортов *C. unshiu* «*Miagawa*», *C. limon* «*Sanbokan*», *C. fortunella crassifolia* «*Meiwa*» изучены основные особенности микроразмножения цитрусовых культур. Рассмотрены различные аспекты питательных сред для микроклонального размножения цитрусовых культур. Описаны стандартные составы питательных сред, используемые в практике, а также их недостатки и ограничения. Проведена сравнительная характеристика роста лимона, мандарина и кумквата в условиях *in vitro*. Оценена перспектива дальнейшего развития техники микроклонального размножения цитрусовых культур. Оценена перспективность использования метода микроклонального размножения по отношению со стандартными способами.

Ключевые слова: микроклональное размножение, цитрусовые, *in vitro*

FEATURES OF THE MORPHOGENESIS OF CITRUS CROPS GROWN BY THE *IN VITRO* METHOD ON DIFFERENT TYPES OF NUTRIENT MEDIA USING THE EXAMPLE OF THE VARIETIES *C. UNSHIU* “*MIAGAWA*”, *C. LIMON* “*SANBOKAN*”, *C. FORTUNELLA CRASSIFOLIA* “*MEIWA*”

V.E. Skvortsov, Y.E. Shubina

P.P. Semyonov-Tyan-Shansky Lipetsk State Pedagogical University, Lipetsk, Russia.

v9871340@gmail.com

This article presents the results on the microclonal reproduction of plants of the genus *Citrus*. The main features of the reproduction of citrus crops have been studied using the example of the varieties *C. unshiu* “*Miagawa*”, *C. limon* “*Sanbokan*”, *C. fortunella crassifolia* “*Meiwa*”. A comparative characterization of the growth of lemon, tangerine and kumquat *in vitro* was carried out. The prospect of further development of the technique of microclonal reproduction of citrus crops is evaluated. The peculiarities of the microclonal reproduction of citrus fruits have been revealed.

Keywords: microclonal reproduction, citrus fruits, *in vitro*

Цитрусоводство в мире является важной и весьма рентабельной отраслью сельского хозяйства. Цитрусовые занимают одно из первых мест в мире по объемам производства среди других плодовых субтропических культур. Цитрусовые активно используются при изготовлении фруктовых соков, алкогольных напитков, джемов и мармеладов. Площадь посадок цитрусовых растений в мире составляет более 987 тыс. га. В настоящее время выращиванием цитрусовых на промышленной основе занимаются более чем в 70 странах мира. Основными цитрусопроизводящими странами являются Китай, Бразилия, Испания, Италия, Япония, Марокко, Турция и другие, с теплым влажным климатом. Среди них Китай и Бразилия являются

крупнейшими производителями цитрусовых в мире с объемом производства более 50,16% от всего объема.

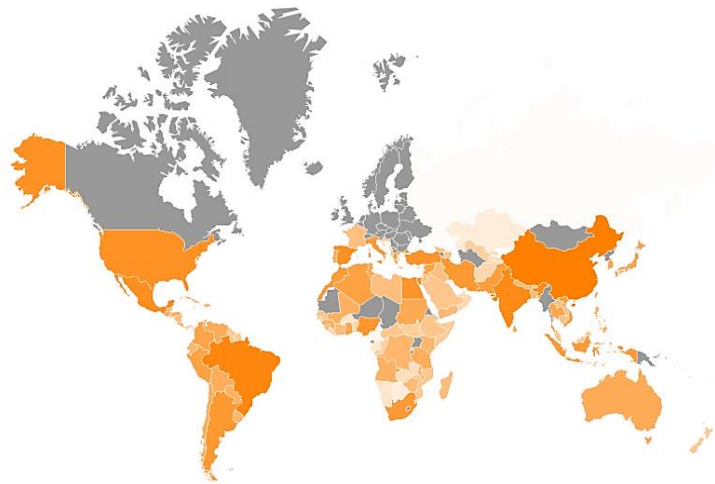


Рисунок 1. Страны по общему объему производства цитрусовых

Всего в мире сейчас выращивается около 25 видов цитрусовых культур: апельсины, грейпфруты, мандарины, лимоны, бергамот, помело, цитроны, лаймы, кумкваты, клементины, танжеринны. За последние 20 лет производство цитрусовых в мире непрерывно увеличивается и в настоящее время составляет около 150 млн. т.

Цитрусовые относятся к трудно размножаемым растениям. Основным методом размножения цитрусовых культур является прививка. Однако в последние десятилетия активно используется метод микроклонального размножения. Данный метод более предпочтителен по сравнению с обычным вегетативным размножением черенками, прививками, отводками. В настоящее время данный метод размножения сельскохозяйственных культур начинает набирать обороты, это актуально при размножении хозяйственно ценных сортов, которые плохо размножаются путем вегетативного размножения.

Исследование современных методов биотехнологии может помочь решить стоящие проблемы. Культивирование растений *in vitro* в состоянии замедленного роста имеет свои преимущества: высокая степень надежности сохранения ценных генотипов, освобождение растений от вирусов за счет использования меристемной культуры, высокий коэффициент размножения, ускорение перехода растений от ювенильной к репродуктивной фазе развития, экономия площади, трудовых ресурсов. Однако по отношению к цитрусовым в данном методе размножения есть ряд особенностей. Культивирование тканей цитрусовых *in vitro* долгое время редко использовалось как объект исследования. Это было связано со специфическими трудностями культивирования тканей, изолированных из растения. При размножении *in vitro* часто используют среды Мурасига и Скуга, Гамборга, Хеллера и другие. Наиболее часто используют среду Мурасига и Скуга, которая содержит много неорганического азота, что стимулирует процессы органогенеза и соматического эмбриогенеза, также данная среда является сбалансированной, богата макро и микроэлементами в силу чего развитие растений в данных средах происходит гораздо быстрее.

От химического состава питательной среды зависит скорость роста растительных эмплантов, особенности морфогенеза.

Основные компоненты питательных сред для растений:

1. Минеральные соли (макро- и микроэлементы).
2. Источник углеводного питания (сахароза).

3. Витаминны.

4. Регуляторы роста (фитогормоны).

Для каждой растительной культуры необходим тщательный подбор питательной среды, которая должна содержать минеральные компоненты в различных концентрациях [7]. Состав питательной среды необходимо подбирать для каждого вида растений. Для citrusовых особенно важно повышенное содержание цитокининов (бензиламинопурина, фуруриламинопурин), а также применение регуляторов роста гетероауксина и этилена которые необходимы для дифференцировки клеток, индукции клеточных делений.

Это позволяет не только увеличить продуктивность размножения данных культур, но и оздоровить посадочный материал. В особенности метод *In vitro* часто применяется для размножения citrusовых культур в промышленных масштабах. Таким методом особенно часто размножаются мандарины, кумкваты, грейпфруты.

Целью данного исследования являлось выявление наиболее благоприятных условий состава питательной среды на уровень регенерации, рост и развитие микропобегов citrusовых *in vitro*. Оценка особенностей морфогенеза на разных питательных средах. Оценка жизнеспособности силы роста и приживаемости образцов, культивируемых на разных средах.

Материалы и методы исследование проведено на 3 видах питательных сред, микропобеги citrusовых культур. Материалом для исследования служили мандарин сорта «Мигава» (*C. unshiu* «*Miagawa*»), лимон сорта «Санбоккан» (*C. limon* «*Sanbokan*»), кумкват сорта «Мейва» (*C. fortunella crassifolia* «*Meiwa*»).

Изучение процессов орфогенеза citrusовых растений на питательных средах оценка жизнеспособности силы роста и приживаемости образцов, культивируемых на разных средах. Для исследования было приготовлено 3 типа питательных сред: Мурасига и Скуга, Гамборга, Хеллера со стандартным составом (рис. 2). На каждую питательную среду было помещено 45 эксплантов по 15 образцов каждого сорта. На протяжении всего эксперимента производились наблюдения за образцами.

Состав разных питательных сред, применяемых при культивировании *in vitro*

Компоненты сред	Концентрация (мг/л) в средах по прописи				
	Мурасига и Скуга	Гамборга и Эвелера	Уайта	Нича, Нич	Кю и Ми-хайлюка
KNO ₃	1900	3000	81	950	1900
NH ₄ NO ₃	1650	–	–	720	600
Ca(NO ₃) ₂	–	–	142	–	–
Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	–	–	–	–	–
(NH ₄) ₂ SO ₄	–	134	–	–	–
MgSO ₄ ·7H ₂ O	370	500	74	185	300
CaCl ₂ ·H ₂ O	–	–	–	166	–
CaCl ₂ ·2H ₂ O	440	150	–	–	–
KCl	–	–	65	–	300
KH ₂ PO ₄	170	–	12	68	170
NaH ₂ PO ₄ ·H ₂ O	–	150	–	–	–
MnSO ₄ ·H ₂ O	–	10	–	–	10
MnSO ₄ ·4H ₂ O	22,3	–	–	25	–
ZnSO ₄ ·4H ₂ O	8,6	–	–	–	2
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	–	2	–	10	–
H ₃ BO ₃	6,2	3	–	10	3,6
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0,025	0,075	–	0,025	0,025
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0,25	0,25	–	0,25	0,25
CoCl ₂ ·6H ₂ O	0,025	0,025	–	–	0,025
FeSO ₄ ·7H ₂ O	27,8	–	–	27,8	5,0
NaEDTA·2H ₂ O	37,3	–	–	37,3	–
Секвестрен 330-Fe	–	28	–	–	–
Мезоинозит	100	–	–	200	100
Аскорбиновая кислота	–	–	–	3	–
Тиамин-HCl	0,5	–	–	3	0,005
Пиридоксин-HCl	0,5	–	–	1	0,005
Никотиновая кислота	0,5	–	–	–	–
Сахароза	30000	20000	20000	60000	125

Рисунок 2. Химический состав наиболее распространенных питательных сред

Сортовые различия проявились как на стадии пролиферации, так и на стадии корнеобразования

Среди эксплантов разных сортов одного и того же вида плодовых растений нередко наблюдается разная степень проявления реакции на включаемые в среду регуляторы роста.

Таблица 1

Выход жизнеспособных эксплантов цитрусовых на разных типах питательных сред

Сорт	Количество жизнеспособных эксплантов, шт		
	Мурасига и Скуга	Гамборга	Хеллера
<i>C. unshiu</i> « <i>Miagawa</i> »	13	11	9
<i>C. limon</i> « <i>Sanbokan</i> »	15	10	12
<i>C. fortunella</i> « <i>Meiwa</i> »	8	6	10

Приживаемость составила 77,8-81,6%. Наименьшая приживаемость наблюдается на среде Хеллера. В течение 4 месяцев в период с 27.09.2024-30.01.2024 мы проводили наблюдения за ростом и развитием высаженных эксплантов. По результатам наблюдений наибольший рост корневой системы и побегов наблюдался на среде Мурасига и Скуга.

Таблица 2

Сила роста цитрусовых на разных типах питательных сред.

Сорт	Сила роста, мм		
	Мурасига и Скуга	Гамборга	Хеллера
<i>C. unshiu</i> « <i>Miagawa</i> »	3,15±0,11	3,07±0,19	2,70±0,18
<i>C. limon</i> « <i>Sanbokan</i> »	3,09±0,13	3,11±0,11	3,05±0,13
<i>C. fortunella</i> « <i>Meiwa</i> »	2,51±0,17	2,14±0,15	3,09±0,11

Таблица 3

Коэффициент размножения цитрусовых культур в разных типах питательных средах

Сорт	Коэффициент размножения цитрусовых культур, %		
	Мурасига и Скуга	Гамборга	Хеллера
<i>C. unshiu</i> « <i>Miagawa</i> »	4,93	4,51	4,19
<i>C. limon</i> « <i>Sanbokan</i> »	5,47	5,17	5,08
<i>C. fortunella</i> « <i>Meiwa</i> »	6,38	6,10	5,26

Таким образом, в результате проведенных исследований выявлен оптимальный гормональный состав питательной среды для введения исследуемых сортов цитрусовых в культуру *in vitro*. По результатам исследования наиболее благоприятной средой для размножения цитрусовых является Мурасига и Скуга на ней у исследуемых эксплантов наблюдалась наибольшая сила роста и высокий коэффициент размножения.

Библиографический список

1. Билалова Э.Г. Размножение цитрусовых в культуре *in vitro* /Биологические аспекты распространения, адаптации и устойчивости растений. (Материалы с международным участием) научной конференции. Изд-во Мордовского ун-та. г. Саранск, 2016 С. 53-55.
2. Бутенко Р.Г. Клональное микроразмножение цитрусовых культурой пазушных почек / Р. Г. Бутенко, Л. Н. Шенгелия // Культура клеток растений биотехнология. - М.: Наука, 1986. - С. 110-113.
3. Бутенко Р.Г. Культура изолированных тканей и физиология морфогенеза растений. М.: Наука, 1964. 272 с.
4. Вехов Н.К. Размножение древесных и кустарниковых пород. М.: Изд. Министерства коммунального хозяйства РСФСР, 1954. 320 с.
5. Высоцкий В. А. Культура изолированных тканей и органов плодовых растений: оздоровление и микрклональное размножение // Сельскохозяйственная биология: Ежемесячный научно-теоретический журнал. М., 1983. № 7. С. 42–47.

6. Глоба-Михайленко И.Д. Использование метода культуры ткани в цитрусоводстве / И.Д. Глоба-Михайленко // Субтропические культуры. -1980. -№3.- С. 32-35.
7. Гродзинсий А.М. Биологические методы исследования ростовых веществ у растений. Ростовые вещества и их роль в процессе роста и развития растений. Ленинград. 1959. 64 с.
8. Деменко В.И. Микрклональное размножение садовых растений: Учебное пособие. -М.: РГАУ -МСХА им. К.А. Тимирязева, 2007. - 55 с.
9. Иванова И. Физиологические основы микрклонального размножения растений. Международный агропромышленный журнал.1990. №3. С.35-
10. Калинин Ф.Л. Методы культуры тканей в физиологии и биохимии растений. Киев, Наукова думка, 1980
11. Моисеева Н.А. Молекулярные и клеточные механизмы морфогенеза в культуре клеток растений. Биология культивируемых клеток и биотехнология растений. -И^Наука, 1991. С. 166-185
12. Муратова С.А. Размножение садовых культур *in vitro* /С.А. Муратова, Д.Г. Шорников, М.Б. Янковская. - Мичуринск-наукоград РФ, ВНИИГиСПР им. И.В. Мичурина, ОАО Тамбовская типография «Пролетарский светоч». 2008. - 68 с
13. Пронина И.Н. Экономические аспекты использования клонального микроразмножения в системе производства посадочного материала плодовых и ягодных культур // Плодоводство и ягодоводство России. 2011. Т. 26. С. 82-88\
14. Расторгуев С.Л. Совершенствование селекционного процесса плодовых и ягодных растений на основе цитологических методов и культуры изолированных тканей. Мичуринск-Наукоград РФ, 2008. 335с.
15. Рахимбаев И.Р. Культура клеток и клеточная инженерия растений. Алматы, КазГУ, 1993.\
16. Чернец А. М. Влияние минерального питания на интенсивность пролиферации сортов вишни *in vitro* // Тезисы докладов Международной конференции «Биология культивируемых клеток и биотехнология 2». Новосибирск, 1988. С. 343.