

УДК 581.821 : 581.47 : 582.734.3

НЕКОТОРЫЕ ОСОБЕННОСТИ ГИСТОГЕНЕЗА ПЛОДОВ
MALUS DOMESTICA A BORKH. (*ROSACEAE*) В ЗАВИСИМОСТИ
ОТ ВЫСОТЫ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ В ГОРАХ

Т.Х. КУМАХОВА

(Кафедра ботаники РГАУ - МСХА имени К.А. Тимирязева)

Изучены особенности гистогенеза плодов ранне- и позднеспелых сортов яблони, культивируемых в горах Северного Кавказа на разных высотах над уровнем моря. Показано, что плоды различаются спецификой развития некоторых анатомических структур, что связано с продолжительностью их созревания и высотой произрастания растений над уровнем моря. Отмечено, что у яблонь, культивируемых в равнинных условиях, после процесса оплодотворения деление клеток в развивающихся плодах постепенно прекращается и увеличение их размеров происходит вследствие разрастания, а также интенсивной вакуолизации клеток перикарпия. Этому способствуют образование сети крупных межклетников и процессы сукукулентизации. У растений, культивируемых в горах, значительно раньше прекращается деление клеток, происходит утолщение и интенсивная кутинизация наружных стенок клеток эпидермы, а также образуется мощный восковой налет. Плоды у этих растений мельче, чем у растений, культивируемых в равнинных условиях. Кроме того, у растений, произрастающих на высоте 1200 м над уровнем моря, плоды имеют хорошо развитые чечевички, и в клетках перикарпия интенсивнее накапливаются кристаллы CaC_2O_4 . Степень развития этих признаков коррелирует с высотой произрастания растений и, несомненно, имеют адаптивное значение.

Ключевые слова: адаптация, восковой налет гистогенез, околоплодник, оксалат кальция, стресс, суберинизация, флавоноиды, чечевичка, *Malus*.

Формирование и некоторые особенности строения плодов в роде *Mains Mill.* (*Rosaceae*) довольно хорошо изучены [3-7, 9-15, 17, 18, 21-23, 25, 27, 29, 30]. Однако практически нет данных об анатомии плодов в связи с условиями произрастания яблонь. Не уделено должного внимания гистогенезу плодов. Практически не изучено влияние экологических факторов на анатомическую структуру плодов и их способность противостоять длительным стрессовым воздействиям.

Яблоня (*Malus Mill.*) широко распространена в разных эколого-географических зонах. На Северном Кавказе большинство дикорастущих видов яблонь произрастают на горных склонах (1700-1800 м над уровнем моря) и горных ущельях с довольно суровыми почвенно-климатическими условиями (пониженная температура, резкие суточные перепады температуры, высокая инсоляция, разреженность атмосферы, высокая влажность, бедность почвы и другие микроклиматические особенности). Многие сорта яблони интродуцированы и успешно культивируются на больших высотах (900-1750 м над уровнем моря). В горной зоне яблоневые насаждения распо-

ложены в межсклонных долинах и пологих южных склонах, которые пересекаются горными реками, что создает наряду с макроклиматическими специфические микроклиматические условия [2, 12, 28]. В связи с этим особенности формирования плодов горных представителей *Mains domesticct* представляют большой интерес в качестве перспективной модели для изучения адаптации растений к условиям произрастания. На наш взгляд, материалы таких исследований имеют немаловажное практическое значение и представляют интерес для фундаментальной науки.

Как один из существенных факторов стресса, оказывающих значительное влияние на развитие генеративных и вегетативных органов горных растений, давно исследуется УФ-радиация. Установлено, что у растений в условиях повышенного фона УФ-радиации замедляется рост, развивается густое опущение листьев, возрастает число соцветий и т. д. [8]. Изучены также некоторые защитные механизмы, выработанные в ходе эволюции у растений как анатомические приспособления, значительно снижающие воздействие УФ-радиации. По данным литературы, в отличие от других факторов стресса УФ действует, прежде всего, на поверхностный слой клеток, а их защиту обеспечивают кутикула и вторичные метаболиты, особенно флавоноиды, ослабляющие поток УФ более чем на 90% [8, 20]. Однако действие УФ стимулирует не только биохимические, но и некоторые структурные изменения приспособительного характера. В частности, активизируется деятельность гваяколовых пероксидаз клеточных стенок и вакуолей, которые катализируют образование перекрестных сшивок между фенольными компонентами с помощью H_2O_2 , которая используется для окисления фенольных соединений, участвующих в биосинтезе лигнина [20, 31].

Цель настоящей работы состояла в изучении не только общих особенностей гистогенеза плодов яблони, но и влияния высоты произрастания растений на специфику формирования анатомических структур, а также поиск адаптивных механизмов, необходимых для завершения процесса созревания плодов в горных условиях.

Материал и методика исследования

Объектами исследования были плоды двух сортов яблони домашней (*Mains domestica* Borkh.): раннеспелого — Белый Налив и позднеспелого — Ренет Симиренко, возделываемых в равнинных (300 м над уровнем моря) и горных (1200 м) условиях Северного Кавказа, в частности, Кабардино-Балкарии.

Степная (равнинная) и горная экологические зоны на территории Северного Кавказа различаются не только высотой над уровнем моря, но и продолжительностью солнечного освещения, тепло- и влагообеспеченностью. Поэтому при повышении местности над уровнем моря начало вегетации и цветения у растений задерживается в среднем на 2-3 дня. Разница между сроками наступления весеннего развития почек у яблони составляет в среднем 6-8 дней. В связи с этим при сборе материала учитывались особенности условий произрастания растений.

Материал (цветочные почки и плоды) собирали с 3 модельных деревьев каждого сорта, начиная со стадии бутонизации до созревания плодов. У растений, произрастающих на равнине, материал собирали в апреле-октябре, а в горах в мае-августе. Образцы для анатомических исследований фиксировали в 70%-м этиловом спирте. Изучение свежесобранного и фиксированного материала проводили на препаратах, приготовленных по общепринятой методике [19, 26]. Срезы толщиной от 15 до 20 мкм для временных препаратов делали на микротоме. Воск на ранних этапах формирования плодов выявляли по методу Визнера [1]. Кусочек эпидермы помещали на предметное стекло в каплю эфира и после его испарения материал окрашивали 50%-м спиртовым раствором аляканина. При этом капельки воска окрашивались

в красный цвет. Наличие суберина и кутина выявляли 0,2%-м раствором Судана III в смеси глицерина и спирта в соотношении 1:1. При обработке срезов Суданом III стенки клеток приобретали желтоватый и светло-коричневый цвет. Лигнин выявляли обычной флороглюциновой реакцией [19]. Состав оболочек клеток околоплодника выявляли по методике Пианзе (комбинацией малахитового зеленого, кислого фуксина, желтого мартиуса в водном спиртовом растворе). При этом в розово-красный цвет окрашивались целлюлозные оболочки клеток.

Серийные полутонкие срезы образцов, фиксированных для исследований на трансмиссионном электронном микроскопе по модифицированной нами методике [10], делали с помощью ультрамикротомы LKB-III. Срезы окрашивали 1%-м раствором толудинового синего и из них готовили постоянные анатомические препараты. Анализировали и фотографировали срезы в световом микроскопе LATIMET, сопряженного с цифровой камерой Digital Still Camera DSC-P20 (фирма Sony).

Флуоресценцию кутикулы, суберина, лигнина выявляли и регистрировали с помощью эпифлуоресцентного микроскопа AxioVert 200m (Carl Zeiss), оснащенного цифровой камерой AxioCam HR. Для возбуждения флуоресценции воска, кутикулы суберина и лигнина использовали набор фильтров; для наблюдения флуоресценции — краситель DAPI (поглощение: 359 нм, испускание: 440 нм). Для регистрации использовали объектив 20x (эквивалентный размер пиксела 3,4 мкм). В качестве контроля регистрировали флуоресценцию в каналах 489/509 нм (FITC/EGFP) и 558/568 нм (Cy3). Вторичную флуоресценцию наблюдали на препаратах, окрашенных нейтральным красным и нильским голубым.

Ультраскульптуру поверхности плодов исследовали с помощью сканирующего электронного микроскопа (СЭМ) JEOL JSM-35. Кусочек плода закрепляли на специальном столике и напыляли сплавом платины и палладия в камере вакуумной ионно-распылительной установки.

Редактирование полученных материалов производили в программах *Adobe Photoshop* и *CorelDraw*. Цифровые данные обрабатывали методом дисперсионного анализа. В таблицах представлены средние арифметические значения и ошибки для 95%-го уровня значимости 25-30 повторностей.

Результаты исследования

Последовательные картины структурных изменений, происходящие в процессе формирования плодов яблонь, культивируемых в предгорной зоне (600 м над уровнем моря) нами подробно описаны ранее [12]. В данной работе приведены материалы дополнительных, более детальных исследований стадий формирования анатомических структур плодов, культивируемых в равнинных (300 м) и горных (1200 м) условиях.

Стадии развития гипантия и плода яблонь, 300 м над уровнем моря. У ранне-спелого сорта Белый Налив в бутоне гипантий на продольном срезе имеет вид кувшинчатого образования (бокала). Завязь вместе со столбиком можно легко выделить из гипантия, не нарушая его целостности, так как он полностью не срастается с плодолистиками, но довольно плотно охватывает завязь вплоть до ее вершины. Гинецей синкарпный состоит из пяти плодолистиков, в каждом гнезде обычно по 2 семязачатка. Срастание членов гинецея не полное, верхние части остаются свободными.

На поперечном срезе гипантий состоит из эпидермы и основной паренхимы с погруженными в нее проводящими пучками (рис. 1 а). Изнутри к нему прилегают клетки завязи с дорзальными и вентральными проводящими пучками плодолистиков.

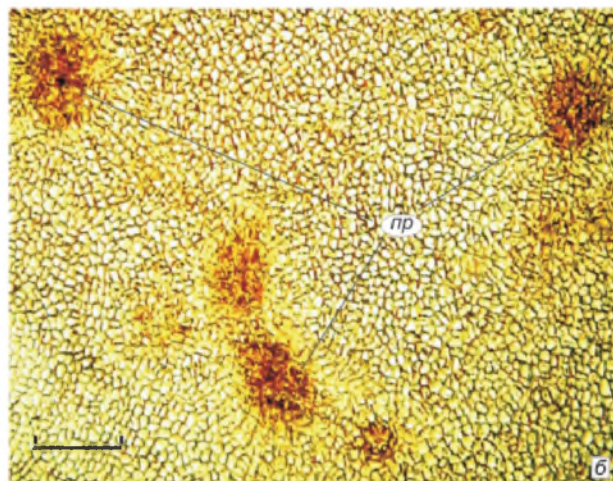
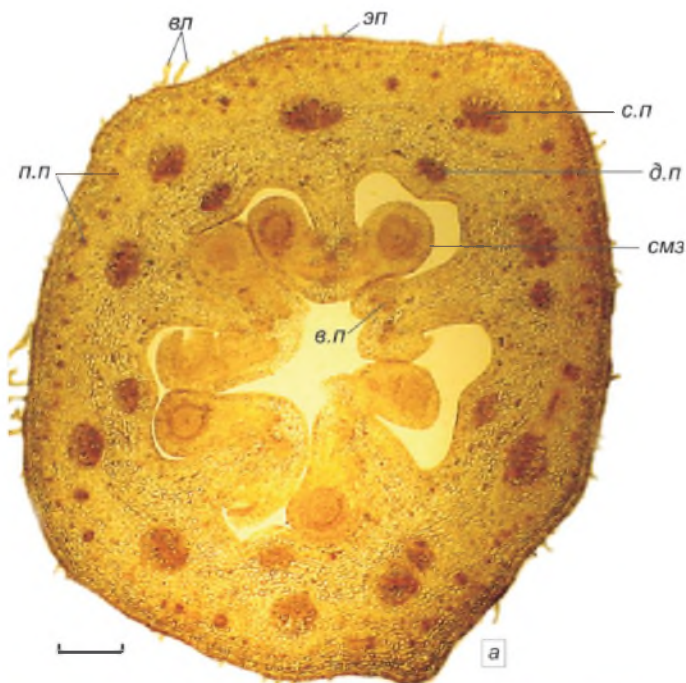


Рис. 1. Анатомическое строение (а) гипантия и (б) молодого плода ранне- и позднеспелого сортов *Malus domestica*, возделываемых на разных высотах над ур. м: а — поперечный срез гипантия перед раскрытием бутона (сорт Белый Налив — 300 м); б — поверхность молодого плода (сорт Ренет Симиренко — 1200 м). Обозначение: в.п — ventральный пучок плодолостика, вл — волосок, в.эп — внутренняя эпидерма, д.п — дорзальный пучок, п.п — петальный проводящий пучок, пр — пробка, с.п — сепальный проводящий пучок, эп — эпидерма, смз — семязачаток. Масштабная линейка: а — 200 мкм; б — 100 мкм

Эпидерма имеет типичное для этой ткани строение, она состоит из клеток трех типов: основных (покровных), замыкающих клеток устьиц и клеток, образующих длинные, извилистые, простые волоски. В плане эпидермальные клетки многоугольные, разных размеров. Основание волосков обычно окружено 5-7 клетками, расположенными кольцом. Устьица редкие, их замыкающие клетки значительно крупнее основных эпидермальных, они также окружены однорядным кольцом из 6-7 покровных клеток.

На поперечных срезах эпидермальные клетки плотно сомкнутые, почти квадратные, слегка вытянуты в радиальном направлении (рис. 2 а). Оболочка клеток эпидермы очень тонкая, в т.ч. и наружная стенка, хотя она несколько толще, чем остальные стенки. В поперечном сечении они имеют ровные антиклинальные и тангенциальные стенки. Деления клеток наружной эпидермы периклинальные, а субэпидермальных (4-5 слоев) антиклинальные (рис. 2 а, в).

Кутикула на наружных стенках эпидермальных клеток становится слегка заметной только перед раскрытием бутона (рис. 2 в; табл. 1). Об этом свидетельствует положительная реакция на кутин срезов оболочки.

Паренхима, пронизанная проводящими пуч-

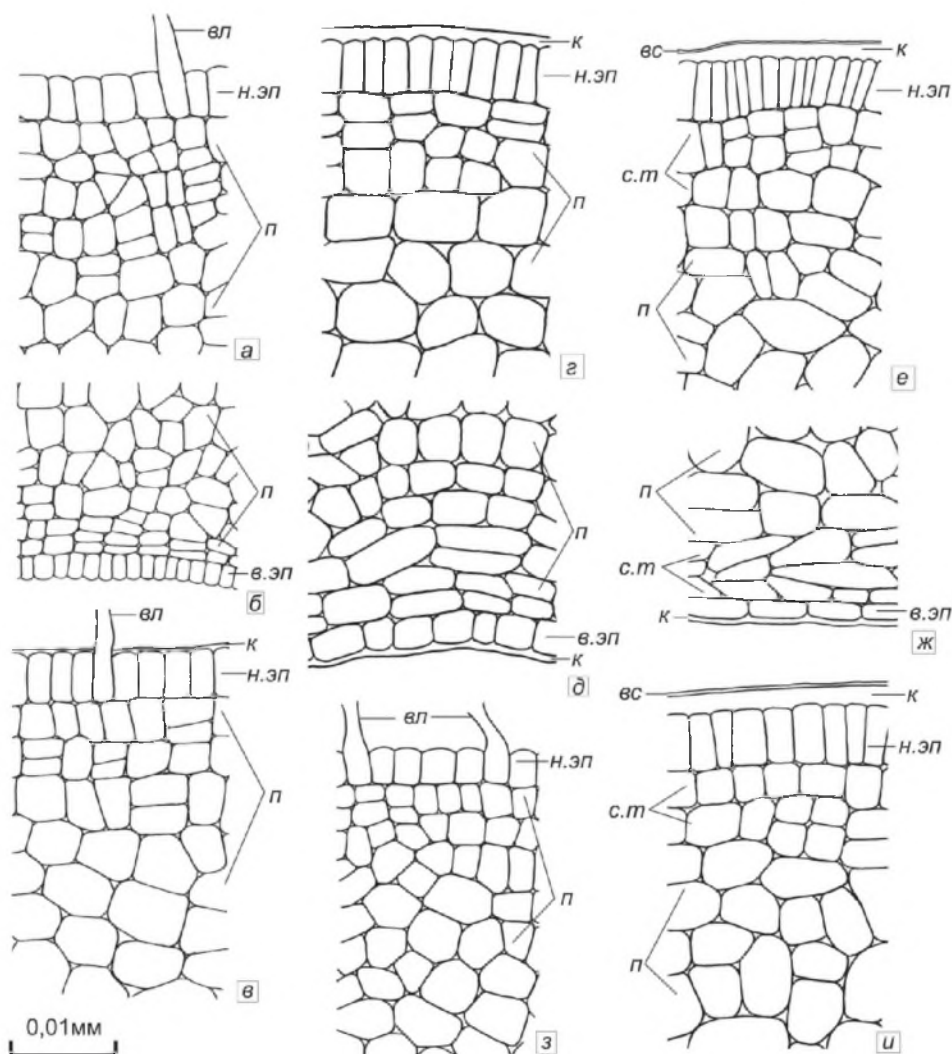


Рис. 2. Анатомическое строение гипантия и молодых плодов ранне- и позднеспелого сортов *Malus domestica*, возделываемых на высоте 300 м над ур. м: (а — ж) сорт Белый Налив: а, е — наружная эпидерма (гипантия), паренхима бутона и перед его раскрытием соответственно; з — наружная эпидерма, паренхима раскрывшегося цветка; б, д — внутренняя эпидерма, выстилающая гнезда завязи бутона и раскрывшегося цветка соответственно; е, ж — наружная и внутренняя эпидермы, субэпидермальная ткань, паренхима молодого плода, (з, и) сорт Ренет Симиренко: з — наружная эпидерма, паренхима бутона; и — наружная эпидерма, субэпидермальная ткань, паренхима молодого плода. Обозначения: вл — волосок, в.с — воск, в.эп — внутренняя эпидерма, к — кутикула, н.эп — наружная эпидерма, п — паренхима, с.т — субэпидермальная ткань. Масштабная линейка: а — и — 800 мкм

**Количественно-анатомические особенности структуры гипантия
и плода сорта Белый Налив, возделываемого на разных высотах над уровнем моря**

Время сбора образцов	Стадия развития гипантия и плода (мм)	Толщина кутикулы (мкм)	Эпидерма гипантия		Гиподерма		Внутренняя эпидерма	
			радиальный размер (мкм)	тангенциальный размер (мкм)	толщина (мкм)	число слоёв клеток	радиальный размер (мкм)	тангенциальный размер (мкм)
<i>300 м над уровнем моря</i>								
Апрель	Бутон	1,3±0,2	12,0±0,2	5,8±0,2	–	–	7,3±0,1	5,3±0,1
	Раскрывшийся цветок	1,6±0,1	13,0±0,1	5,2±0,8	–	–	8,3±0,5	7,9±0,2
Май	5–6	1,9±0,3	14,6±0,4	5,4±0,2	–	–	9,4±0,4	10,9±0,4
	12–13	2,8±0,2	15,0±0,2	5,6±0,1	–	–	9,8±0,1	11,2±0,3
Июнь	16–20	3,6±0,4	16,8±0,2	5,7±0,2	13,1±0,2	1–2	10,7±0,3	12,2±0,5
	34–35	5,5±0,1	14,3±0,4	11,0±0,4	15,0±0,7	1–2	–	–
Июль	38–40	6,3±0,2	11,2±0,4	10,3±0,5	15,9±0,3	1–2	–	–
	Зрелый плод 55–56	10,1±0,5	8,3±0,2	16,0±0,6	16,7±0,8	2–3	–	–
<i>1200 м над уровнем моря</i>								
Апрель	Бутон	1,2±0,2	9,9±0,5	5,9±0,5	–	–	6,7±0,3	5,8±0,3
Май	Раскрывшийся цветок	1,5±0,2	10,0±0,2	6,1±0,3	–	–	7,6±0,8	9,6±0,5
Июнь	5–6	2,0±0,3	11,7±0,1	6,0±0,1	–	–	8,6±0,4	10,2±0,2
	9–10	3,1±0,1	13,0±0,5	5,8±0,5	16,2±0,4	1–2	–	–
Июль	30–31	5,0±0,2	13,8±0,3	8,6±0,5	18,3±0,5	2–3	–	–
	36–38	6,9±0,5	13,0±0,4	11,9±0,9	21,2±0,1	2–3	–	–
Август	40–42	7,9±0,2	12,0±0,2	14,5±0,5	22,1±0,2	2–3	–	–
	Зрелый плод 49–50	9,1±0,2	10,8±0,4	15,8±0,8	23,7±0,8	3–4	–	–

ками чашелистиков, лепестков и тычинок, имеющих тенденцию к круговому расположению, составлена из плотно сомкнутых тонкостенных почти округлых в очертании клеток, с многочисленными кристаллами оксалата кальция (рис. 1 а, 3 а).

Внутренняя эпидерма, т.е. клетки, выстилающие гнезда завязи, также плотно сомкнутые, почти квадратные, вытянутые в радиальном направлении (рис. 2 б).

В *раскрывшемся цветке* гипантий в анатомическом плане не отличается от предыдущей стадии. В течение всего периода цветения продолжают активные деления клеток, прилегающих к наружной и внутренней эпидермам (рис. 2 г, д). Наиболее заметные изменения обнаруживаются в размерах и форме наружных эпидермальных клеток (рис. 2 г). Они антиклинально делятся и интенсивно вытягиваются в радиальном направлении (см. табл. 1).

Клетки, выстилающие гнезда завязи постепенно вытягиваются в тангенциальном направлении (рис. 2 д, табл. 1).

В плодах диаметром 5-6 мм деление клеток формирующегося перикарпия менее активное. Дальнейшее увеличение их размеров происходит в результате интенсивного роста клеток за счет образования крупных вакуолей и формирования межклетников в паренхимной зоне перикарпия (см. табл. 1).

Поверхность молодых плодов покрыта многочисленными длинными, извилистыми, простыми волосками и тонким слоем воска. Устьица немногочисленные.

На срезах клетки наружной эпидермы сильно вытянулись в радиальном направлении и приобрели характер столбчатой ткани (рис. 2 е). Их радиальные размеры (14,6 мкм) почти в три раза превышают тангенциальные (5,4 мкм). Толщина кутикулы достигает 1,9 мкм.

В субэпидермальных слоях (4-5) продолжают деления клеток в разных направлениях. Глубже лежащие клетки основной паренхимы с небольшими межклетниками, в них наблюдаются признаки интенсивной вакуолизации.

Клетки, выстилающие гнезда завязи, продолжают растягиваться в тангенциальном направлении и уплощаться (рис. 2 ж, табл. 1).

Одна из интересных особенностей молодых плодов состоит в том, что в их клетках содержатся многочисленные кристаллы оксалата кальция (рис. 3 а). Кристаллоносные клетки преимущественно локализованы в паренхимной части перикарпия, прилегающей к гнездам завязи и крупным проводящим пучкам. Под световым микроскопом CaC_2O_4 представляет собой образование, состоящее из мелких сросшихся кристаллов, или кристаллических агрегатов — друз или одиночных кристаллов призматической формы, находящихся на разных стадиях формирования (рис. 3 б, в). Некоторые кристаллы с хорошо выраженными центрами кристаллизации, крупные и занимают почти всю полость клетки, а иногда находятся даже в межклетниках.

Наиболее заметное увеличение размеров всех клеток перикарпия, происходящее вследствие разрастания и сильной вакуолизации, отмечаются в плодах диаметром от 16 до 35 мм (см. табл. 1). Этому способствуют процессы суккулентизации и образование крупных межклетников в паренхимной части перикарпия.

При рассмотрении поверхности молодых плодов в сканирующем электронном микроскопе (СЭМ) обнаруживаются восковые отложения в виде мелких зернышек и небольших пластин, а также устьица и формирующиеся чечевички, состоящие из рыхлой массы клеток выполняющей ткани, поверхность которых покрыта мощными восковыми кристаллами (рис. 4 а). Кроме этого, на солнечной стороне поверхности видны множественные разрывы эпидермы, образующие сетчатые рисунки (рис. 5 а).

На срезах эпидермальные клетки постепенно вытягиваются в длину (табл. 1). Кутикула на наружных стенках толстая (5,5 мкм). Под эпидермой выявляется более плотная зона — гиподерма, клетки которой имеют утолщенные стенки.

У более крупных плодов (диаметр 35 мм) основная паренхима крупно клеточная, довольно рыхлая, в ней хорошо развиты межклетники и воздухоносные полости. Примерно 50-70% объема этой ткани приходится на межклеточные воздухоносные полости. По своей морфологии паренхиму можно сопоставить с аэренхимой. Тенденции накопления и локализации кристаллов CaC_2O_4 те же, что на предыдущих стадиях, но их количество заметно уменьшилось.

В плоде диаметром 38-40 мм клетки эпидермы продолжают вытягиваться в тангенциальном направлении, постепенно приобретая характерную им таблитчатую форму (см. табл. 1). Толщина гиподермы достигает 15,9 мкм. Кристаллов оксалата

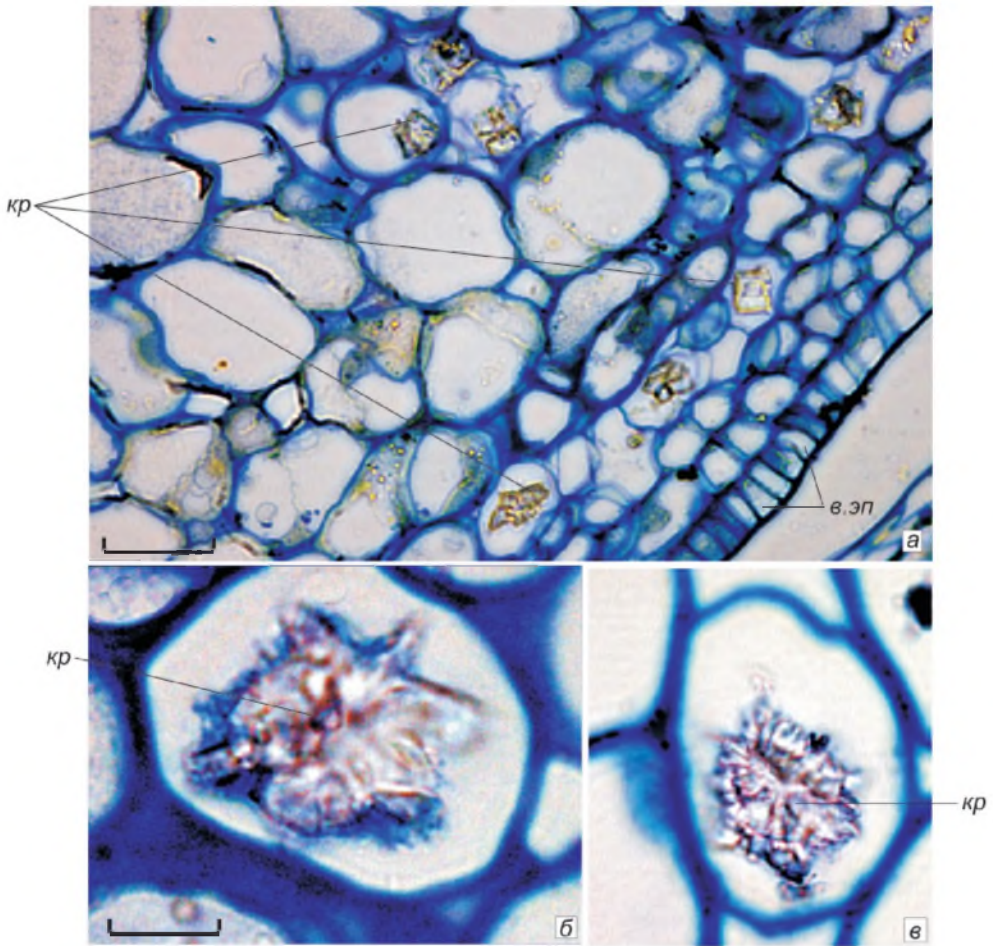


Рис. 3. Кристаллоносные клетки перикарпия молодого плода яблони сорта Белый Налив, возделываемого на высоте 300 м над ур. м: а — фрагмент перикарпия; б, в — друзы оксалата кальция. Обозначения: в.эп — внутренняя эпидерма, кр — кристалл. Масштабная линейка: а — 200 мкм, б, в — 400 мкм

кальция в паренхимной части перикарпия значительно меньше. В процессе созревания плодов стенки клеток внутренней эпидермы подвергаются склерификации.

На стадии созревания размер плодов достигает *в диаметре 55-56 мм*. Перикарпий зрелых плодов полностью сформирован, в нем можно выделить эпидерму, гиподерму, паренхиму и хряще видную ткань, окружающую гнезда завязи, т.е. внутреннюю эпидерму плодолистиков. На продольных срезах хорошо видна граница между разросшимися тканями гипантия и завязи, которая легко устанавливается по полосе удлинённых и толстостенных клеток.

На поперечных срезах эпидерма состоит из основных (покровных) плотно прилегающих одна к другой клеток прямоугольной формы и замыкающих клеток

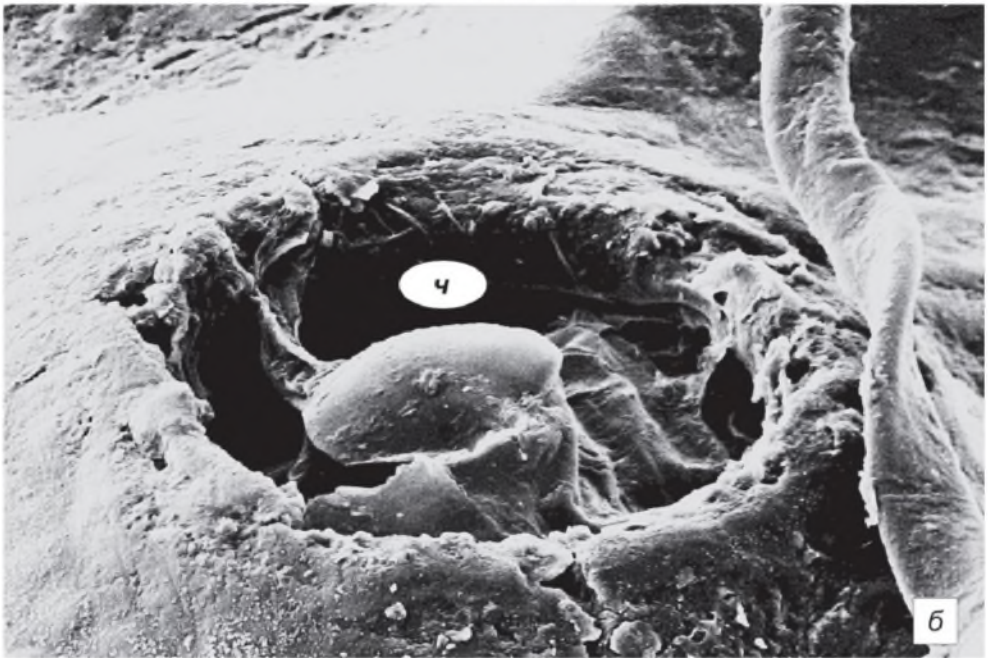
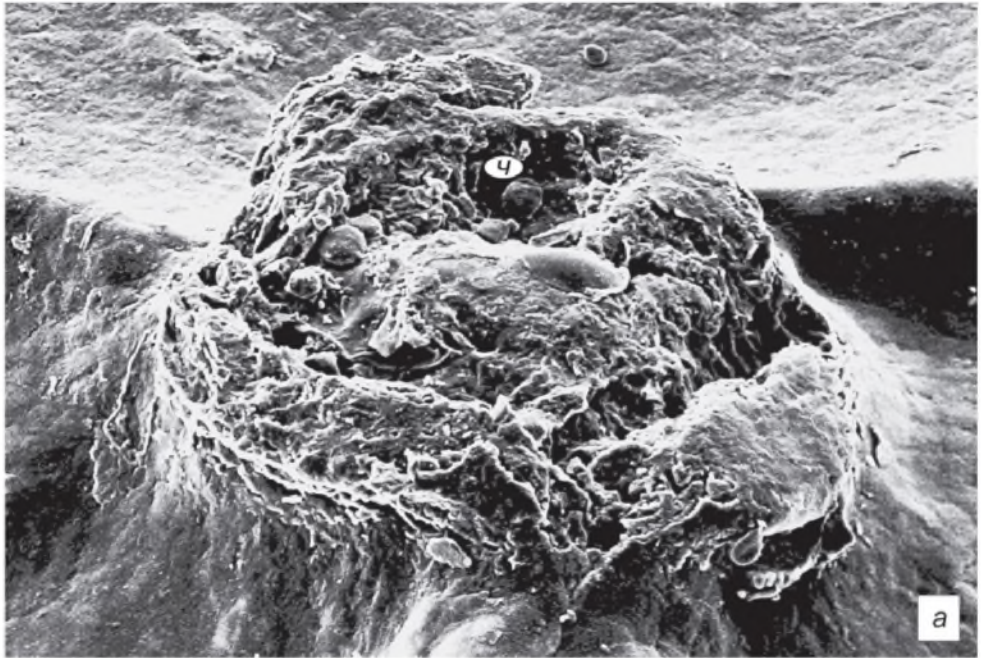


Рис. 4. Чечевички на поверхности молодых плодов ранне- и позднеспелого сортов *Malus domestica*, возделываемых на высоте 300 м над ур. м: *а* — формирующаяся чечевичка (сорт Белый Налив); *б* — зрелая чечевичка (сорт Ренет Симиренко). Увеличение *а, б* — 600 мкм

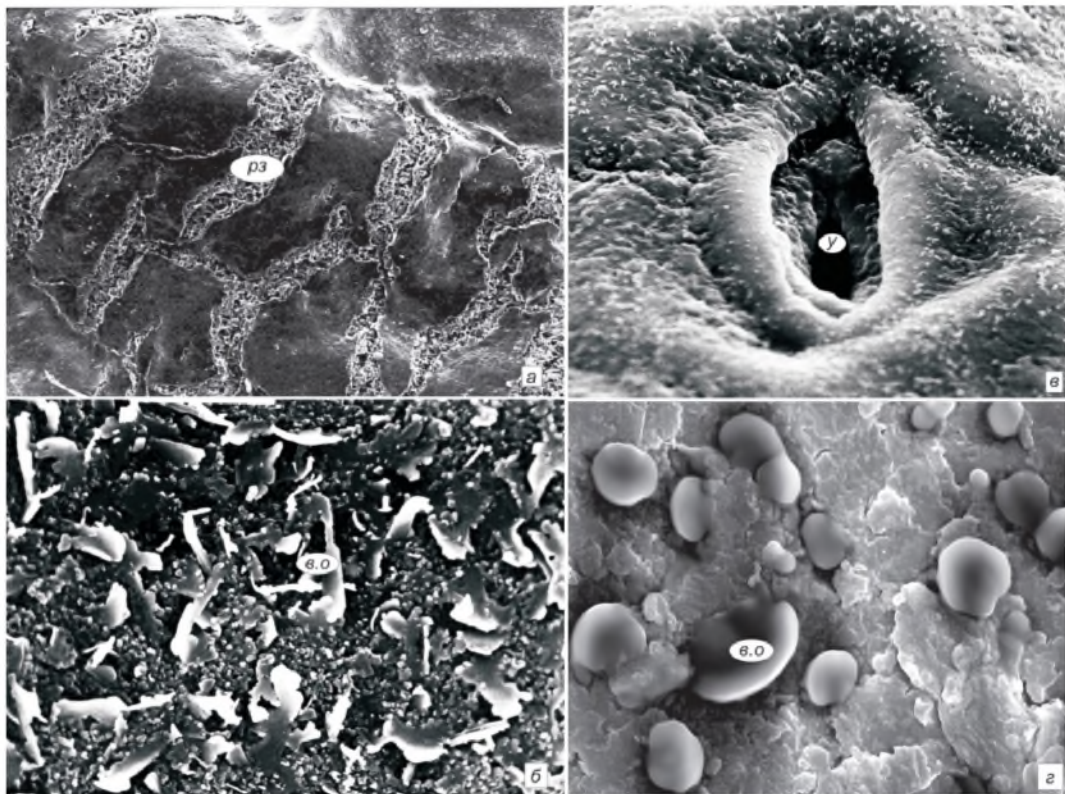


Рис. 5. Поверхность плодов ранне- и позднеспелого сортов *Malus domestica*, возделываемых на разных высотах над ур. м: а — разрывы эпидермы (сорт Белый Налив, 300 м). (б, в, г) сорт Ренет Симиренко (1200 м): б, г — восковые отложения на поверхности молодого и зрелого плодов соответственно; в — устьице. Обозначения: во — восковые отложения, pz — разрывы эпидермы, у — устьице. Увеличение: а — 60, б — 3000, в — 2400, г — 4000

устьиц, которых довольно трудно обнаружить, так как они сильно погружены и забиты мощными наплывами кутикулы и воска. Чечевички немногочисленные.

Наружные стенки эпидермальных клеток толще, чем радиальные и внутренние тангенциальные. Толщина кутикулы значительно превышает радиальный размер клеток эпидермы (см. табл. 1).

Гиподерма многослойная, ее клетки с утолщенными стенками (см. табл. 1). Внутренний слой гиподермы постепенно переходит в основную паренхиму, поэтому четкой границы между этими тканями нет.

Основная паренхима составляет большую часть плода. Она тонкостенная, крупноклеточная, рыхлая, пронизана воздухоносными полостями и крупными межклетниками. Кристаллоносные клетки единичные.

Хрящевидная ткань, окружающая гнезда завязи, представлена 2-3 слоями мертвых склеренхимных клеток с утолщенными одревесневшими стенками, о чем свидетельствует положительная реакция на лигнин. Из всех топографических зон перикарпия четко выявляется лишь хрящевидный эндокарпий.

Позднеспелый сорт Ренет Симиренко отличается от раннеспелого сорта Белый Налив относительно слабой, но более продолжительной меристематической активностью эпидермальных и субэпидермальных клеток гипантия (рис. 2 з). Тенденции изменения размеров клеток на всех стадиях развития плодов такие же, что описано выше. Однако кутикула и гиподерма у позднеспелых плодов толще (рис. 2 и, 6 а). При этом рост кутикулы значительно опережает как таковой эпидермы (табл. 2). В ходе развития на поверхности молодых плодов (диаметром 24 мм) формируются чечевички. В СЭМ чечевички имеют вид слегка приподнятого массива, выступающего над поверхностью плода в виде «усеченного конуса», вершина которого представляет собой «жерло», проходящее в глубже лежащие ткани (рис. 4 б). На стадии со-

Т а б л и ц а 2

Количественно-анатомические особенности структуры гипантия и плода сорта Ренет Симиренко, возделываемого на разных высотах над уровнем моря

Время сбора образцов	Стадия развития гипантия и плода (мм)	Толщина кутикулы (мкм)	Эпидерма гипантия		Гиподерма		Внутренняя эпидерма	
			радиальный размер (мкм)	тангенциальный размер (мкм)	толщина (мкм)	число слоёв клеток	радиальный размер (мкм)	тангенциальный размер (мкм)
<i>300 м над уровнем моря</i>								
Апрель	Бутон	1,4±0,5	8,8±0,2	6,0±0,5	–	–	6,8±0,2	8,6±0,4
	Раскрывшийся цветок	1,8±0,3	9,2±0,3	6,4±0,3	–	–	8,8±0,4	10,2±0,3
Май	5–6	2,9±0,4	12,5±0,1	6,5±0,5	–	–	8,0±0,2	11,9±0,4
	10–11	4,0±0,1	13,8±0,2	7,2±0,1	35,5±1,8	2–3	6,9±0,1	13,2±0,2
Июнь	15–16	7,2±0,3	13,0±0,4	8,0±0,6	38,6±1,6	2–3	–	–
	29–30	9,1±0,2	11,6±0,3	10,9±0,7	48,1±0,8	3–4	–	–
Июль	38–39	17,5±0,2	8,9±0,2	13,4±0,8	49,4±1,4	3–4	–	–
Август	48–49	17,6±0,3	10,2±0,2	15,3±0,6	56,6±1,1	5–6	–	–
Сентябрь	Зрелый плод 60–75	18,0±0,2	10,6±0,5	17,9±0,7	61,5±1,3	5–6	–	–
<i>1200 м над уровнем моря</i>								
Апрель	Бутон	1,6±0,1	11,2±0,3	7,7±0,6	–	–	6,0±0,5	7,8±0,5
Май	Раскрывшийся цветок	1,9±0,1	9,7±0,5	5,3±0,2	–	–	6,5±0,4	8,9±0,1
Июнь	5–6	2,6±0,2	12,4±0,3	5,6±0,2	–	–	5,2±0,3	10,0±0,3
	16–17	4,0±0,5	14,8±0,5	5,7±0,5	24,8±0,3	1–2	–	–
Июль	29–30	7,4±0,5	12,9±0,3	7,9±0,6	25,6±0,7	2–3	–	–
	28–30	9,6±0,6	11,5±0,5	12,8±0,6	27,2±0,3	2–3	–	–
Август	39–40	9,6±0,6	9,3±0,5	15,2±0,5	35,2±0,5	3–4	–	–
Сентябрь	Зрелый плод 50–54	17,0±0,3	10,6±0,5	14,2±0,7	54,0±1,3	4–5	–	–

зрелания плоды этого сорта крупнее, их размеры составляют в диаметре 60-75 мм. Анатомическое строение зрелых плодов позднеспелых сортов нами подробно описано ранее [12].

Стадии развития гипантия и плода яблонь, 1200 м над ур. м. У раннеспелого сорта Белый Налив тенденции формирования анатомических структур плода на данной высоте аналогичны описанным в равнинных условиях (300 м) растениям. Однако отмечаются количественные различия в размерах клеток формирующихся и зрелых плодов (см. табл. 1-2).

Позднеспелый сорт Ренет Симиренко в отличие от сорта Белый Налив характеризуется более слабой меристематической активностью эпидермальных и субэпидермальных клеток гипантия. После оплодотворения деление клеток прекращается значительно раньше. Происходит интенсивное утолщение и кутинизация наружных стенок клеток эпидермы.

Для молодых плодов диаметром 5-6 мм характерно густое опушение из простых волосков и хорошо выраженный восковой налет в виде пластинок (рис. 5 б). На поперечных срезах эпидермальные клетки имеют вид столбчатой ткани, их радиальные размеры (12,4 мкм) почти в два раза превышают тангенциальные (5,6 мкм). В паренхимной части перикарпия сравнительно больше кристаллоносных клеток.

Рост клеток перикарпия в процессе развития плодов (диаметр 22-38 мм) сильно замедляется (рис. 6 б; табл. 2). Стенки клеток гиподермы утолщаются и подвергаются суберинизации. Оболочку этих клеток можно сопоставить с оболочкой клеток колленхимы. О химических изменениях в клеточных стенках гиподермы свидетельствует положительная реакция на суберин (рис. 6 б). Кроме того, клетки гиподермы с плотным коричневатым содержимым, в их вакуолях аккумулируются вторичные метаболиты (рис. 6 в).

Главная особенность плодов (диаметр 28-30 мм) — заложение перидермы и формирование на их поверхности многочисленных бородавкоподобных образований — чечевичек (рис. 4 б). Феллоген чаще закладывается на солнечной стороне поверхности плода (рис. 1 б). Активные деления клеток феллогена приподнимают эпидерму, и на поверхности плодов образуются небольшие бугорки, которые в этих местах впоследствии и разрываются.

На поперечных срезах чечевички имеют вид двояковыпуклой линзы, в этих участках эпидерма почти разорвана, а под заполняющей тканью различимы феллоген и феллема (рис. 7 а). Излучение во флуоресцентном микроскопе диффузного синеватого света в области чечевичек (рис. 7 б), свидетельствует о химических изменениях в стенках клеток заполняющей ткани.

У более крупных плодов (диаметр 39-40 мм) наружные стенки эпидермальных клеток сильно кутинизированы. При этом кутинизация часто распространяется на ее радиальные и тангенциальные стенки, а иногда и на оболочки клеток гиподермы. Кутинизированная эпидерма с толстостенной гиподермой формируют у горных плодов довольно жесткую «кожицу».

Зрелые плоды (диаметр 50-54 мм) имеют такой же план анатомического строения. Однако клетки перикарпия по сравнению с плодами, выросшими на равнине, значительно мельче (см. табл. 1-2). На их поверхности находятся мощные восковые гранулы и единичные устьица (рис. 5 в, г). Из топографических зон выявляется также эндокарпий (рис. 7 в).

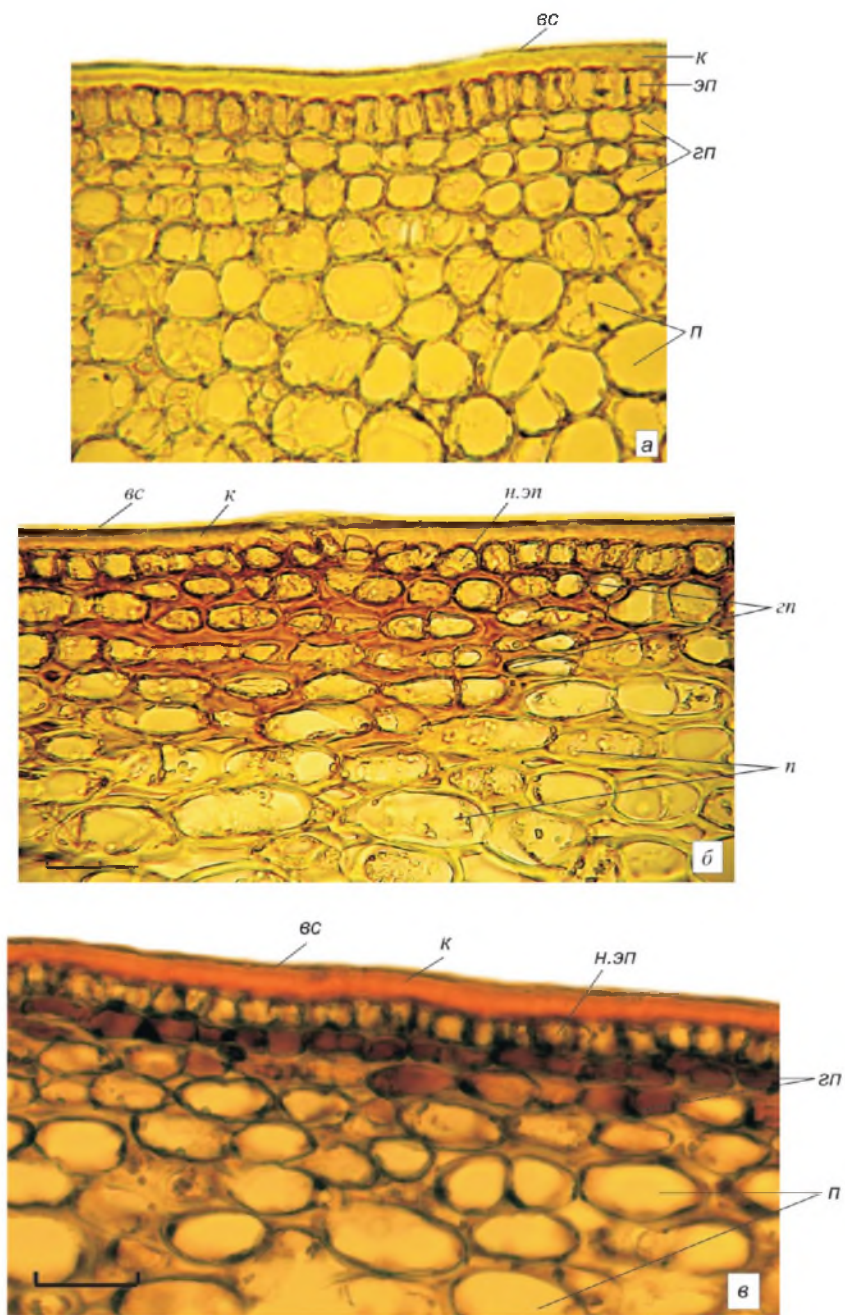


Рис. 6. Анатомическое строение молодого плода позднеспелого сорта Ренет Симиренко, возделываемого на разных высотах над ур. м: а — эпидерма, паренхима молодого плода (300 м); б, в — эпидерма, гиподерма, паренхима (1200 м). Обозначения: в.с — воск, гп — гиподерма, к — кутикула, н.эп — наружная эпидерма, п — паренхима. Масштабная линейка: а, б, в — 25 мкм

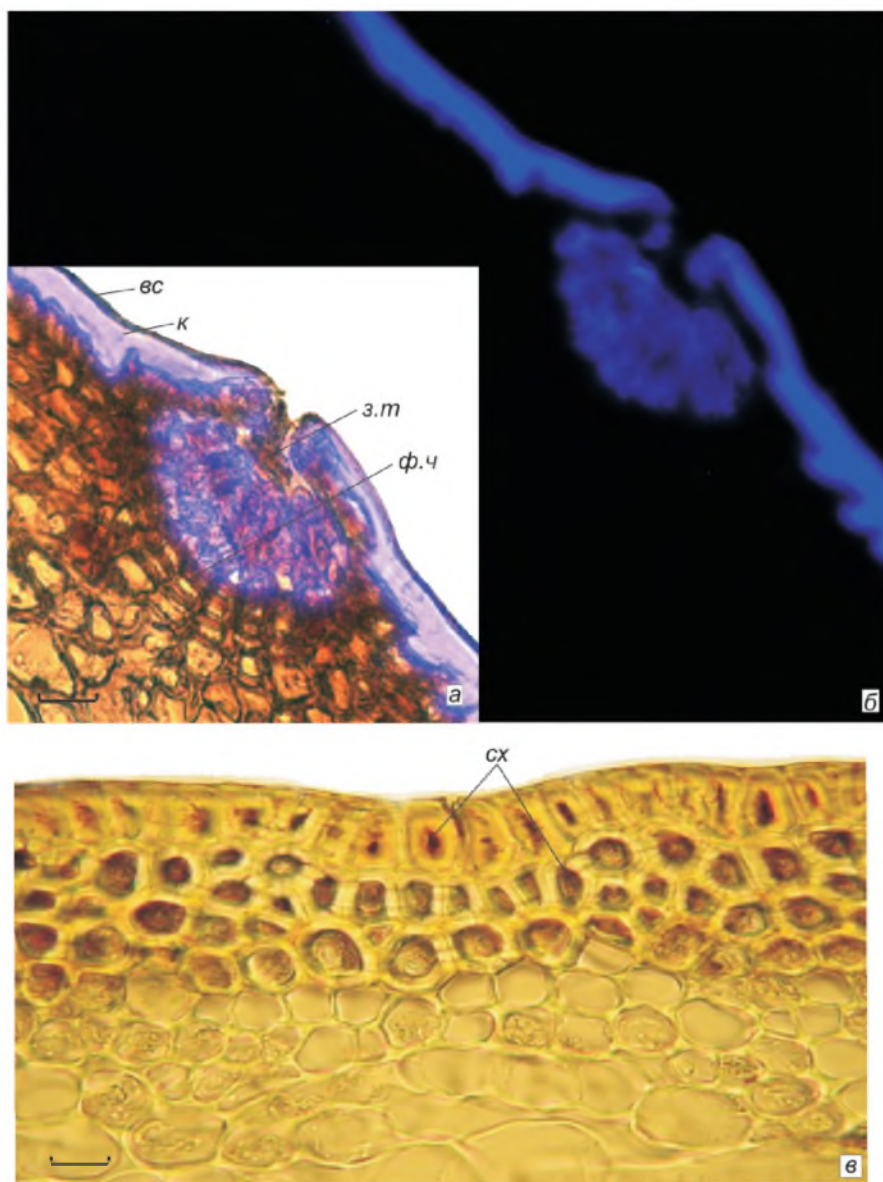


Рис. 7. Анатомическое строение плода позднеспелого сорта Ренет Симиренко, возделываемого на высоте 1200 м над ур. м: а, б — чечевички на поперечном срезе в флуоресцентном микроскопе; в — хрящевидная ткань. Обозначения: вс — воск, з.т — заполняющая ткань, к — кутикула, сх — склеренхима, ф.ч — феллоген чечевички. Масштабная линейка: а, б, в — 25 мкм

Обсуждение результатов

Исследования, проведенные в течение вегетационного периода, показали, что плоды изученных сортов яблонь, независимо от высоты произрастания развиваются по единому принципу, но различаются спецификой формирования и развития некоторых анатомических структур.

Согласно полученным данным начальное разрастание формирующихся плодов происходит за счет активных делений клеток гипантия, которое начинается в бутоне и продолжается до конца цветения. После оплодотворения этот этап постепенно сменяется стадией растяжения клеток, который является самой продолжительной. Увеличение размеров клеток формирующихся плодов происходит вследствие разрастания и интенсивной вакуолизации. Этому способствуют интенсивное образование крупных межклетников и процессы суккулентизации. Поэтому в зрелых плодах большая часть перикарпия составляет рыхлая, сильно вакуолированная паренхима гипантия, с крупными межклетниками и воздухоносными полостями. Нередко воздухоносные полости занимают больше половины объема этой ткани. По мере развития плодов наружные клетки стенки завязи тоже разрастаются, становятся сочными и довольно плотно примыкают к тканям гипантия. А клетки внутренней стенки плодолистиков становятся хрящеватыми, и на стадии созревания плодов гнезда завязи окружены 2-3 слоями мертвых склеренхимных клеток с сильно утолщенными одревесневшими оболочками. Поэтому из всех топографических зон в перикарпии выявляется только эндокарпий.

Наряду с этими особенностями для клеток плодов с ранних этапов развития характерно интенсивное накопление кристаллов оксалата кальция, количество которых, по мере их созревания, постепенно уменьшается. Кроме того, на поверхности молодых плодов формируются устьица и вторичные анатомические структуры — чечевички. Как известно, чечевички характерны для осевых органов древесных растений и их формирование генетически детерминировано. Причины и механизм образования чечевичек на поверхности яблок в литературе не описаны. По нашему мнению, раннее заложение перидермы и формирование чечевичек, когда клетки плодов еще активно растут, индуцировано условиями произрастания растений. В частности, свет играет важную роль в заложении и развитии перидермы, а повышенная температура значительно ускоряет этот процесс.

Хотя плоды развиваются по единому принципу и имеют одинаковый план анатомического строения, они различаются по количественно-анатомическим показателям. У раннеспелого сорта на ранних этапах развития отмечается относительно высокая меристематическая активность клеток эпидермы и субэпидермального слоя, что приводит к более интенсивному увеличению размеров плода. У позднеспелого сорта сравнительно слабая меристематическая активность клеток гипантия и формирующегося плода коррелирует с более медленным ростом и развитием плодов, созревающих в течение более продолжительного времени. Плоды также различаются по толщине кутикулы и степени кутинизации клеточных стенок наружной зоны. Более толстая кутикула и сильная кутинизация клеточных стенок эпидермы и гиподермы характерна для позднеспелого сорта. Для плодов этого сорта характерна также толстая гиподерма, состоящая из нескольких слоев толстостенных клеток. Радиальные и тангенциальные размеры эпидермальных клеток являются относительно специфическими признаками для каждого сорта, что показано нами и ранее [12].

Анализ полученных материалов показывает, что наибольшее влияние высота возделывания растений оказывает на специфику формирования и развития анатоми-

ческих структур позднеспелых плодов. Прежде всего, у растений в горных условиях значительно раньше прекращается деление клеток, происходит утолщение и интенсивная кутинизация стенок клеток наружной зоны и образование мощного воскового налета на поверхности плодов. Кроме того, интенсивное воздействие УФ, наблюдаемое в горах, инициирует упрочнение клеточной стенки, которое осуществляется в результате окислительной сшивки структурных белков и фенольных соединений [20, 31]. Известно, что суберинизированные оболочки, в отличие от целлюлозных стенок, способны поглощать до половины всех УФ-лучей. Защитная роль «кожицы» у горных плодов дополняется накоплением в вакуолях субэпидермальных клеток флавоноидов. По мнению некоторых авторов, именно вакуолярным флавоноидам кожицы принадлежит основная роль в адаптации плодов яблони к действию УФ излучения [24]. При этом защитная роль полифенолов не ограничивается только функцией поверхностных экранов, она также связана с их участием в метаболизме клеток растений в экстремальных условиях.

Кроме того, рост плодов позднеспелого сорта в горных условиях в какой-то мере угнетен. Они значительно мельче, их перикарпий составлен из мелких, толстостенных компактно расположенных клеток [12]. Наряду с укороченным вегетационным периодом в связи с ранним снижением сезонных температур, укрепление клеточных стенок за счет суберинизации на ранних стадиях развития затрудняет растяжение клеток, что, возможно, является причиной мелкоклеточности и мелкоплодности. Это и следует рассматривать как биохимическую и анатомическую адаптивную реакцию на действие суровых горных условий.

Более активное формирование чечевичек на поверхности горных плодов, на наш взгляд, индуцировано интенсивным воздействием УФ. Вместе с тем увеличение числа чечевичек, как и устьиц, с высотой произрастания можно рассматривать и как приспособление к недостатку CO_2 так как для высокогорных растений наряду с недостатком тепла и высокой инсоляцией немаловажную роль играет разреженность атмосферы [12].

Адаптивной реакцией на стрессовые воздействия горных условий можно считать также более интенсивное накопление кристаллов оксалата кальция в клетках плодов, поскольку Ca^{2+} как вторичные мессенджеры принимают активное участие в регуляции метаболических процессов, связанных с ростом и развитием [16].

Таким образом, наши материалы в комплексе с ранее полученными позволяют полагать, что и на равнине, и в горах развитие плодов происходит в условиях постоянного стресса. На равнине стресс инициирован высокой температурой и низкой влажностью воздуха, а в горах — интенсивным воздействием УФ, разреженностью атмосферы, а также пониженной температурой воздуха, сопровождающейся резкими суточными колебаниями и микроклиматическими факторами. По нашему мнению, выявленные неспецифические особенности в гистогенезе яблок, прежде всего, связаны с необходимостью модификации метаболизма, направленного на завершение программы созревания плодов и имеют адаптивное значение.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 08-04-01749).

Библиографический список

1. Барыкина Р.М., Веселова Т.Д., Девятое А.Г., и др. Справочник по ботанической микротехнике. М.: Изд-во МГУ 2004.
2. Газиев М.Л. и др. Перспективы улучшения видового и сортового разнообразия плодовых и ягодных пород в Дагестане // Матер. Межд. науч. конф., посвящ. 60-летию ГБС

- им. Н.В. Цицына РАН. «Ботанические сады как центры сохранения биоразнообразия и рационального использования растительных ресурсов». М., 2005. С. 106-107.
3. *Диттерихс П.М.* Анатомия Шампанского Ренета // Тр. Кубанской окружной помологической комиссии, 1928. Вып. 1.
 4. *Плмса*. Морфология цветковых растений. М., 1964.
 5. *Каден Н.Н.* Генетическая классификация плодов // Вест. Моск. ун-та. Сер. Биология, 1947. №12. С. 31-42.
 6. *Каден Н.Н.* Эволюция плодов розоцветных // Бюлл. М. Об-ва исп. природы. Отд. Биология, 1968. Т. LXXIII. № 2. С. 127-131.
 7. *Коновалов П.Н.* О присутствии каменных клеток в плодах некоторых видов *Malus Mill* // Сов. Бот., 1946. Т. 16. № 4. С. 262-269.
 8. *Кузнецов В.В., Дмитриева Г.А.* Физиология растений, 2005.
 9. *Кум ахова Т.Х.* Анатомия и ультраструктура наружных слоев плодов разных сортов яблони // Биологические науки, 1987. № 2. С. 59-64.
 10. *Кумахова Т.Х., Меликян А.П.* Ультраструктура кутикулы плодов разных сортов *Malus domestica (Rosaceae)* // Бот. журн., 1989. Т. 74. № 3. С. 328-332.
 11. *Кумахова Т.Х.* Особенности формирования анатомических структур плодов у разных сортов яблони, различающихся временем созревания // Биол. Науки, 1990. № 11. С. 100-106.
 12. *Кумахова Т.Х.* Некоторые особенности анатомии плодов *Malus domestica (Rosaceae)* в зависимости от высоты культивирования в горах // Бот. Журн., 2003. Т. 88. № 6. С. 75-84.
 13. *Левина Р.Е.* Морфология и экология плодов. JL, 1987. С. 56-59.
 14. *Матиенко Б. Т.* я др. Динамика изменений наружных тканей в процессе развития плодов яблони в условиях интенсивного сада // Эколого-анатомические особенности изменчивости культурных растений. Кишинев, 1984. С. 105-112.
 15. *Матиенко Б.Т., Ротару Г.Н.* Особенности возникновения и строение пробкового слоя на плодах яблони // Изв. АН МССР. Сер. Биол., 1987. № 1. С. 3-8.
 16. *Медведев С.С.* Кальциевая сигнальная система растений // Физиология растений, 2005. Т. 52. № 2. С. 282-306.
 17. *Меликян А.П., Девятое А.Г.* Основные карпологические термины. М., 2001.
 18. *Никитина Н.Б.* Анатомическое строение плода некоторых сортов яблони // Сб. науч. Работ Ленингр. ин-та сов. торговли им. Ф. Энгельса М. 1959. Вып. 15 С. 94-100.
 19. *Прозина М.П.* Ботаническая микротехника. М., 1960.
 20. *Полесская О.Г.* Растительная клетка и активные формы кислорода. М. 2007.
 21. *Ротару Г.Н.* Анатомические особенности зрелых плодов некоторых сортов яблони, груши и айвы, районированных в Молдавии // Анатомия и ультраструктура плодов. Кишинев, 1966. С. 26-32.
 22. *Ротару Г.Н.* Гистологическая зональность и морфологическая природа различных частей околоплодника яблоневых // Гистологическая зональность суккулентных плодов. Кишинев, 1973. С. 22-27.
 23. *Рыбин В.А.* Анатомические особенности в строении плода различных сортов яблони // Зап. Ленингр. с.-х. ин-та, 1925. Т. 2. С. 298-309.
 24. *Соловченко А.Л., Мерзляк М.Н.* Роль фенольных соединений в адаптации к действию видимого света и УФ // Тез. Докл. IV Симпозиума по фенольным соединениям, 2004.
 25. *Туманян С.А.* К анатомической характеристике армянских представителей родов *Pyrus nMalus* // Докл. АН Арм. ССР, 1947. Т. 6. № 1.
 26. *Фурст Г.Н.* Методы анатомо-гистохимического исследования растительных тканей. М., 1979.
 27. *Чернеки Н.М.* Развитие плодов и семян яблони // Тезисы докл. и сообщ. к XVIII науч. конф. Сер. Биол. Ужгород, ун-т, 1964.
 28. *Шидиков Р.С.* Сортимент яблони и его совершенствование путем селекции в предгорьях Северного Кавказа. Нальчик, 1991.
 29. *leopold A.C.* Plant growth and development // New York, McGraw-Hill, 1964.

30. \ I ever A study of the skin structure of the Golden Delicious apples // Proc. Soc. Hort. Sci. 1940. №45. P. 105-110'

31. Takahama U., Oniki T. Flavonoids and some other phenolics as substrates of peroxidase: physiological significance of the redox reactions // J. Plant Res., 2000. Vol. 113. P. 301-309.

Рецензенты: д. б. н. А.А. Соловьев, д. б. н. Л.И. Хрусталева

SUMMARY

Peculiarities of fruit histogenesis in early- and late maturing varieties of *Malus domestica*, cultivated in Ciscaucasia at various altitudes above-sea level, have been studied. It has been revealed that fruits differ in development specificity of some anatomical structures depending on both maturation duration and growth altitude above-sea level. Thus, in apple trees cultivated in lowlands, after fertilization process, cell divisions in growing fruits cease gradually, and fruits enlarge due to both extensive growth and intensive vacuolization of pericarp cells. This process is facilitated by formation of large inter cellular spaces forming a network, and succulentization. In plants cultivated in the mountains cell divisions cease much earlier, both thickening and intensive cutinization of outer epidermal cell walls occurs, thick wax layer forms besides. These plants have much smaller fruits than those cultivated in lowlands. Moreover, apple trees growing at 1200 metres above-sea level have fruits with well-developed lenticels, and are shown to have more intense CaC_2O_4 crystals accumulation than those of lowlands. The degree of these characteristics correlates with plants growth altitude, and, undoubtedly, they are of adaptive importance.

Key words: adaptive, wax layer, histogenesis, pericarp, CaC_2O_4 crystals, suberization, flavonoids, lenticel, *Malus*.

Кумахова Тамара Хабаловна — к. б. н. Тел./факс (495) 976-04-20.
Эл. почта: kumachova@aport.ru