5. Полулях А.А., Волынкин В.А., Лиховской В.В. Продуктивность местных сортов винограда Крыма // Магарач. Виноградарство и виноделие. 2022;24(3):227-234.
6. Захарьин В.А. Автохтоны Крыма. Симферополь, ИТ «АРИАЛ», 2019. 235 стр.

УДК 581.143.6

РАЗРАБОТКА ПРОТОКОЛА КЛОНАЛЬНОГО МИКРОРАЗМНОЖЕНИЯ *DACTYLORHIZA FUCHSII* (DRUCE)

Хуссиен Мусаб, *аспирант кафедры декоративного садоводства и газоноведения ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, muthab.hussien95@gmail.com*
Орлова Елена Евгеньевна, *К.с.-х.н., доцент кафедры декоративного садоводства и газоноведения ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, elena.orlova@rgau-msha.ru*

Аннотация: *Представленная статья посвящена оптимизации методики клонального микроразмножения и сохранения Dactylorhiza fuchsii. Установлены оптимальные составы питательных сред для максимального эффекта размножения, роста и развития проростков D. fuchsii. Определена гистологическая дифференциация корней D. fuchsii. в условиях in vitro и ex vitro.*

Ключевые слова: *Наземные орхидеи, регуляторы роста, органические добавки, анатомия, корни*

Род *Dactylorhiza* Nevski, относится к семейству Orchidaceae Juss., насчитывает около 40 видов травянистых многолетников, распространенных, в основном, в зоне умеренного климата в Евразии и Северной Америке [1]. *Dactylorhiza fuchsii* (Druce) Soó является одним из редких видов этого рода. Он произрастает в лесной зоне Европы, Западной Сибири, северном Казахстане и Монголии, обитая на полянах и опушках лесов. Размножение этого вида в природе затруднено из-за медленной вегетативной репродукции и низкой всхожести семян (от 0,2% до 0,3%) [2], что подталкивает к поиску альтернативных методов размножения и сохранения. Асимбиотический посев семян в стерильных условиях и последующее микроклональное размножение сеянцев *in vitro* становятся эффективным решением данной проблемы [3]. Целью настоящего исследования является разработка и усовершенствование методов размножения и сохранения *D. fuchsii ex-situ* и выявление особенностей анатомического строения корней этого вида при культивировании *in vitro* и *ex vitro*.

Объекты и методы исследования

В качестве объектов использовали протокормы первого года. Протокормы пересаживали на питательную среду Murashige and Skoog (1962) (½MS).

Проведено сравнение различных сочетаний концентраций 6-Бензиламинопурина и (6-БАП) Индолил-3-масляной кислоты (ИМК) на размножение и рост протокормов при различных условиях освещения (темнота и свет). Далее, регенеранты были рекультивированы на той же питательной среде с добавлением различных органических добавок и разных концентраций 6-БАП. В качестве контроля использовались питательную среду без добавления регуляторов роста. Дочерные тубероиды, сформировавшиеся на предыдущих этапах, были перенесены на питательную среду ½ MS, дополненную различными типами цитокининов (6-БАП, кинетин (КИН)) и картофельным пюре для формирования протокормо-подобных тел и сохранения *in vitro.* Срезы фиксированных корней делали с помощью микротома МС-2 с подключенным замораживающим столиком ОМТ-2802Е. Толщина срезов составила 40-60мкм. Для выявления лигнификации клеточных стенок корней срезы окрашивали альциановым синим и сафранином. Фотографирование анатомических срезов корней осуществлено при помощи светового микроскопа Olympus CX41.

Результаты исследования

Состав питательной среды является одним из важных факторов, влияющих на размножение и развитие протокормов и образование хороших проростков у представителей рода *Dactylorhiza*. Результаты показали, что при культивировании протокормов в условиях освещения на ½ MS питательной среде с добавлением 1,5 мг/л 6-БАП:1,5 мг/л ИМК, образовывался наибольший процент дочерних тубероидов 73,33 % и наибольшее количество дочерних тубероидов (4,92 ±0,22 шт.). На этой стадии видовая особенность и комбинация цитокинина и ауксина оказали значительное влияние на образование зачатков корней и удлинение побегов. У *D. fuchsii* наибольшая длина побегов (2,04 ±0,11 см) наблюдалась на среде с добавлением 1,5 мг/л 6-БАП:2,0 мг/л ИМК в условиях темноты. При пересадке регенерантов *D. fuchsii* на питательную среду ½ MS, содержащую различные органические добавки и 6-БАП в разных концентрациях, наблюдался интенсивный рост и развитие. Регенеранты характеризовались наибольшей длиной побегов, процентом укоренения и длиной корней на питательной среде ½ MS с добавлением 100 мл/л кокосовой воды и 1,0 мг/л 6-БАП по сравнению с остальными вариантами. Для сохранения в условиях *in vitro* было обнаружено, что наибольший процент образования протокормо-подобных тел (96%) и их количество (14,5± 0,50шт) наблюдали при культивировании на питательной среде ½ MS с добавлением 20 г/л картофельного пюре и 2 мг/л КИН. В нашем исследовании было выявлено, что хранение регенераторов *D. fuchsii* в холодильнике при температуре +5°C в течении трёх месяцев, а затем высадка их в субстрат, состоящий из коры, перлита, песка и торфа в соотношении 1:1:½:1, приводит к успешной адаптации при 70% выживаемости. Характерной особенностью культивирования *D. fuchsii in vitro* является образование развитой корневой системы и отсутствие настоящих зеленых листьев. Дальнейший рост и развитие надземных вегетативных органов регенерантов обеспечивает формирование корневища.

Проведенные исследования выявили особенности строения корней изучаемого вида как *in vitro*, так и *ex vitro.* Корень *D. fuchsii* дифференцирован на эпидерму, экзодерму, кортекс, эндодерму и центральный цилиндр. Эпидерма состоит из одного слоя клеток прямоугольной формы, имеющую слегка вогнутую внутреннюю сторону. Толщина этого слоя варьируется незначительно между *in vitro* и *ex vitro* и составляет около 2% площади корня (на поперечном срезе). Экзодерма также состоит из одного слоя клеток овальной формы, при этом в условиях *ex vitro* она имеет меньшую толщину, чем в условиях *in vitro*. Кортекс состоит из тонкостенных, паренхимных клеток, заполненных крахмалом. В лабораторных условиях 5-6 слоев кортекса, занимает около 60% площади корня, в то время как в условиях *ex vitro*, слоев кортекса больше (6-7), занимая около 67% от площади корня. Эндодерма представлена одним слоем клеток, в которых формируются пояски Каспари. Стела представляет собой полиархный пучок с паренхимной сердцевиной. Площадь этого слоя больше в условиях *ex vitro* (26%) по сравнению с растениями, культивируемыми *in vitro* (23%). Диаметр ксилемы также больше у корней, растущих *ex vitro*, по сравнению с растениями, культивируемыми *in vitro.*

Обсуждение

Эксперименты с различными комбинациями концентраций цитокининов и ауксинов при различных условиях освещения помогли определить оптимальные условия для образования дочерних тубероидов и развития побегов. Наибольший процент дочерних тубероидов и наибольшее количество дочерних тубероидов были получены на питательной среде ½MS с добавлением 1,5 мг/л 6-БАП:1,5 мг/л ИМК в условиях освещения. Эти результаты отличаются от других исследований на других видах орхидей, где высокая концентрация 6-БАП и низкая концентрация ИМК избирательно благоприятствуют индукции размножения протокоромов [4]. Формирование зачатков корней и наибольший рост побега были обнаружены в условиях темноты на среде ½MS с добавлением 1,5 мг/л 6-БАП:2,0 мг/л ИМК. Это согласуется с результатами других исследований [5], поскольку образование корней наземных орхидей на ранних стадиях должно происходить в темноте, но не указана оптимальная среда для роста и развития *D. fuchsii*. Формирование протокормо-подобных тел является эффективным способом для сохранения редких видов и увеличения их популяций. В нашем исследовании наибольший процент образования протокормо-подобных тел и их количество достигается на питательной среде ½MS с добавлением 2 мг/л КИН. Это связано со способностью КИН к образованию соматических эмбрионов у видов *Dactylorhiza* [6]. Сравнительный анализ анатомии корней в условиях *in vitro* и *ex vitro* выявил изменения в структуре корневой системы при переходе из условий *in vitro* к условиям. *ex vitro* .Корни, образовавшиеся в условиях *in vitro* имеют центральный цилиндр меньшего диаметра и менее развитые элементы ксилемы из-за условий повышенной влажности, тогда как в условиях *ex vitro* размер центрального цилиндра начал увеличиваться в размерах за счет вторичного роста, а также происходит увеличение диаметра ксилемы и формирование новых элементов

проводящих пучков из-за необходимости поглощения большего количества питательного раствора из субстрата.

Заключение

Результаты нашего исследования не только расширяют наше понимание адаптивных стратегий растений, но и имеют практическое значение для сохранения биоразнообразия и разработки эффективных методов восстановления исчезающих популяций редких видов растений.

Библиографический список

1. Сумбембаев А. А., Матвеева Е. В., Абдешова А. Б. Primary introduction results of the genus *Dactylorhiza* Necker ex Nevski in the altai botanical garden // Вестник КазНУ. Серия биологическая. – 2021. – Т. 87. – №. 2. – С. 58-68. DOI: https://doi.org/10.26577/eb.2021.v87.i2.06

2. Sumbembayev A. A., Abugalieva, S. I., Danilova, A. N., Matveyeva, E. V., & Szlachetko, D. L. A flower morphometry of members of the genus *Dactylorhiza* Necker ex Nevski (Orchidaceae) from the Altai Mountains of Kazakhstan // Biodiversitas. – 2021. – Т. 22. – №. 8. DOI:10.13057/biodiv/d220855

3. Nabieva A. Y. Asymbiotic seed germination and in vitro seedling development of *Orchis militaris*, an endangered orchid in Siberia // Journal of Genetic Engineering and Biotechnology. – 2021. – Т. 19. – №. 1. – С. 122.

4. Riva S. S., Islam A., Hoque M. E. *In vitro* regeneration and rapid multiplication of *Dendrobium bensoniae*, an indigenous ornamental orchid // The Agriculturists. – 2016. – 14. – №. 2. – С. 24-31.

5. BEKTAŞ E., SÖKMEN A. *In vitro* seed germination, plantlet growth, tuberization, and synthetic seed production of *Serapias vomeracea* (Burm. f.) Briq // Turkish Journal of Botany. – 2016. – Т. 40. – №. 6. – С. 584-594.

6. Naderi Boldaji H., Dianati Daylami S., Vahdati K. Use of Light Spectra for Efficient Production of PLBs in Temperate Terrestrial Orchids // Horticulturae. – 2023. Т. 9. №. 9. С. 1007. DOI: https://doi.org/10.3390/horticulturae9091007

УДК 632:631–527

ИЗУЧЕНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ К ФУЗАРИОЗНОМУ УВЯДАНИЮ КОЛЛЕКЦИИ КУЛЬТУР РОДА *BRASSICA*

Вишнякова Анастасия Васильевна, *доцент кафедры ботаники, селекции и семеноводства садовых растений ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, a.vishnyakova@rgau-msha.ru*

Никитин Михаил Алексеевич, *магистрант 2-го года обучения института садоводства и ландшафтной архитектуры ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, ser-mixail-nikitin@yandex.ru*

Александрова Анастасия Алексеевна, *аспирант кафедры ботаники, селекции и семеноводства садовых растений ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, a.alexandrova@rgau-msha.ru*