



БИОМИКА/BIOMICS

<http://biomics.ru>



НАЧАЛЬНЫЕ ЭТАПЫ КЛОНАЛЬНОГО МИКРОРАЗМНОЖЕНИЯ *IN VITRO* ЦИТРУСОВЫХ БАШКИРСКОЙ СЕЛЕКЦИИ

Билалова Э.Г.^{1,2}, Садыкова Ф.В.¹, Ишмуратова М.М.^{2,3}

¹ГБПОУ «Уфимский лесотехнический техникум», 450005, г.Уфа, ул. Мингажева, д. 126

²ФГБОУ ВО «Башкирский государственный университет», 450076, г.Уфа, ул. Заки Валиди, 32

³ФГБОУ ВО «Магнитогорский государственный технический университет им. Г.И. Носова», 455000, г. Магнитогорск, пр. Ленина, 38

E-mail: bilalova77@mail.ru

Резюме

Изучено влияние стерилизующих растворов на жизнеспособность эксплантов лимонов (*Citrus limon* (L.) Burm.) и цитрона (*Citrus medica* L.) в условиях *in vitro*. Проведена сравнительная характеристика роста лимона и цитрона башкирской селекции в условиях *in vitro*.

Ключевые слова: лимоны, цитроны, башкирская селекция, клональное микроразмножение *in vitro*.

Цитирование - Билалова Э.Г., Садыкова Ф.В., Ишмуратова М.М. Начальные этапы клонального микроразмножения *in vitro* цитрусовых башкирской селекции. *Биомика*. 2018. Т.10(2). С. 153-156. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2018-19

INITIAL STAGES OF CLONAL MICROPROPAGATION *IN VITRO* OF CITRUS BASHKIR BREEDING

Bilalova E.G.^{1,2}, Sadykova F.V.¹, Ishmuratova M.M.^{2,3}

¹ "Ufa Forestry Technical College", 126 Mingazheva str., 450005, Ufa, Russia

² "Bashkir State University", 32 Zaki Validi str., 450076, Ufa, Russia

³ «Magnitogorsk State Technical University. G.I. Nosov», 455000, Magnitogorsk, Lenin Ave., 38

E-mail: bilalova77@mail.ru

Resume

The influence of sterilizing solutions on the viability of lemon explants (*Citrus limon* (L.) Burm.) and the citron (*Citrus medica* L.) under *in vitro* conditions was studied. Comparative characteristics of growth of lemon and citron of Bashkir breeding in *in vitro* conditions are given.

Key words: lemons, citrons, Bashkir breeding, clonal micropropagation, *in vitro*.

Citation - Bilalova E.G., Sadykova F.V., Ishmuratova M.M. Initial stages of clonal micropropagation *in vitro* of citrus Bashkir breeding. *Biomics*. 2018. V.10(2). P.153-156. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2018-19 [In Russian]

Введение

В последние годы для сохранения биоразнообразия лимонов успешно используются методы культуры *in vitro* [Самарина и др. (Samarina et al.), 2012; Самарина (Samarina), 2013]. В теплице круглогодичного действия учебно-опытного

хозяйства ГБПОУ «Уфимского лесотехнического техникума» (Уфимском лимонарии) более 20 лет выращиваются лимоны (*Citrus limon* (L.) Burm.) узбекской селекции - сорта Юбилейный и Ташкентский [Садыкова (Sadykova), 2016]. Госсорткомиссией Российской Федерации описаны и

внесены в Госреестр три сорта лимона «Урман», «Салават», «Лейсан» и два сорта цитрона «Уралтау» и «Зиля», описанные в Уфимском лимонарии. Эти сорта являются клонами сорта лимона «Юбилейный», оригинатор сортов - Ф.В. Садыкова. К настоящему времени собран большой фактический материал по особенностям биологии и выращивания в условиях закрытого грунта перечисленных сортов. Начаты исследования по клональному микроразмножению *in vitro* этих сортов [Билалова, Ишмуратова (Bilalova, Ishmuratova), 2016; 2017].

Целью работы является разработка протоколов клонального микроразмножения *in vitro* цитрусовых башкирской селекции.

Материалы и методы исследования

Объектами исследования являлись 27-ми летние растения лимона сортов «Лейсан», «Салават» и цитрона «Уралтау». Для введения в культуру *in vitro* использовали молодые побеги текущего года вегетации. В качестве эксплантов использовали сегменты молодых побегов (узлы) размером 5-6 мм и семена из плодов. Стерилизацию растительного материала проводили по следующей схеме [Билалова, Ишмуратова (Bilalova, Ishmuratova), 2016]:

1. Промывка растительного материала в мыльном растворе;
2. Обработка 1 % раствором «бриллиант» (0,9-1,0% р-р акрилдиметил аммоний хлорида и 0,8-0,9% р-р глутарового альдегида и функциональные компоненты) с экспозицией 5-10 мин.
3. Обработка 0,1% р-ром диацита с экспозицией 25 мин.
4. Обработка 0,05% р-ром хлоргексидина с экспозицией 15 мин.

После каждого этапа стерилизации экспланты трижды промывали стерильной дистиллированной водой. Перед посадкой на питательную среду экспланты обрабатывали 10% стерильным раствором аскорбиновой кислоты в течение 5 мин для снятия эффекта «фенольного облака». В некоторых вариантах опыта использовали для стерилизации эксплантов раствор «доместос» (раствор гипохлорита натрия) и 96% раствор этанола (экспозиция 10–30 сек). Перед высадкой на питательную среду места срезов обновлялись. Проводили подсчет инфицированного и жизнеспособного материала.

В качестве питательной среды использовали модифицированную питательную среду Мурасиге-Скуга [Murashige, Skoog, 1962] с гормональными добавками 6-бензиламинопурин (6-БАП), 1-нафтилуксусная кислота (НУК) в различных концентрациях (0,1 мг/л – 1,0 мг/л), pH 5,5-5,8 с добавлением 10 г/л агар, 25 г/л сахарозы. Через 50

дней культивирования в среде у проросших из семян растений были проведены измерения побеговой и корневой систем, размера и числа листьев.

Результаты и их обсуждение

Результаты стерилизации эксплантов лимонов и цитрона башкирской селекции представлены в табл. 1. Из таблицы видно, что хорошие результаты независимо от сорта продемонстрировала дробная стерилизация эксплантов с использованием раствора «бриллиант», с последующим применением 96% этанола. Стерилизация с использованием «доместоса» оказалась менее эффективной. Стерилизация семян также оказалась эффективной в растворе «бриллианта» с применением этанола.

Результаты морфометрических измерений показаны в табл. 2.

Одновозрастные растения сортов лимона и цитрона при культивировании в условиях *in vitro* различаются по морфологическим характеристикам и сохраняют сортоспецифические признаки. Для лимона сорт Лейсан характерно меньшее число побегов, чем для цитрона сорт Уралтау. Побеги цитрона характеризуются большим числом крупных листьев (рис.1).



Рис.1. Цитрон сорт Уралтау в культуре *in vitro*
Fig. 1. Citron of Uraltau in *in vitro* culture

Таким образом, при стерилизации раствором «бриллиант» с последующей экспозицией в 96 % растворе этанола выход стерильных и жизнеспособных эксплантов выше, чем при использовании для стерилизации раствора «доместос». При культивировании в условиях *in vitro* сорта лимона и цитрона сохраняют сортоспецифические признаки и различаются по темпам развития.

Таблица 1.

Влияние стерилизаторов на жизнеспособность эксплантов лимонов сорта Лейсан и цитрона сорта Уралтау в условиях *in vitro*.

Table 1. Influence of sterilizers on the viability of Leysan lemon explants and Uraltau citron *in vitro*

Объект Object	Условия стерилизации Sterilization conditions			
	«бриллиант» + этанол "brilliant" + ethanol		«доместос» domestos	
	доля стерильных эксплантов, % share of sterile explants,%	доля жизнеспособных эксплантов, % share of viable explants,%	доля стерильных эксплантов, % share of sterile explants,%	доля жизнеспособных эксплантов, % share of viable explants, %
Узлы / Knots				
Лимон сорт Лейсан Lemon variety Leysan	25	65	20	50
Лимон сорт Салават Lemon variety Salavat	25	60	20	54
Семена / Seeds				
Лимон сорт Лейсан Lemon variety Leysan	85	85	-	-
Лимон сорт Салават Lemon variety Salavat	80	75	-	-
Цитрон сорт Уралтау Citron Uraltau	85	70	-	-

Примечания: (-) - вариант эксперимента не был проведен.

Notes: (-) - the experiment was not conducted.

Таблица 2.

Сравнительная характеристика морфологических признаков лимона Лейсан и цитрона Уралтау в условиях культуры *in vitro*.

Table 2. Comparative characteristics of the morphological features of Leysan lemon and Uraltau citron under *in vitro* culture conditions.

Сорт Variety	Число побегов, шт. Number of shoots, pcs.	Длина побега, см Length of shoot, cm	Длина корней, см Root length, cm	Число листьев на побеге, шт. Number of leaves on the shoot, pcs.	Размеры листьев, см Size of leaves, cm	
					Ширина Width	Длина Length
Лейсан Leysan	1,0±0,5	3,0±0,8	3,3±1,7	3,0±1,0	0,6±0,1	1,0±0,2
Уралтау Uraltau	2,0±0,9	1,6±0,3	2,2±1,3	5,0±1,0	0,8±0,1	1,2±0,2

Литература

1. Билалова Э.Г., Ишмуратова М.М. Размножение цитрусовых в культуре *in vitro* // Биологические аспекты распространения, адаптации и устойчивости растений. Материалы всероссийской (с международным участием) научной конференции. Изд-во Мордовского ун-та. г. Саранск, 15-18 мая 2016. С. 53-55.
2. Билалова Э.Г., Ишмуратова М.М. Особенности прорастания семян сортов лимона в культуре *in vitro* // Актуальные вопросы экологии и природопользования: сборник трудов Всероссийской научно-практической конференции, посвященной памяти член-корреспондента АН РБ, доктора биологических наук, профессора Миркина Бориса Михайловича. Ч. I / отв. ред. С.А. Башкатов. – Уфа: РИЦ БашГУ, 2017. С.165-167.
3. Садыкова Ф. В. Тропические и субтропические плодовые растения лимонария Республики Башкортостан. Уфа: Китап, 2016. 128 с.
4. Самарина Л.С., Коломиец Т.М., Горшков В.М. Оценка регенерационной способности эксплантов цитрусовых *in vitro*. *Садоводство и виноградарство*. 2016. №6. С. 27-30.
5. Самарина Л.С. Оптимизация приемов микроразмножения и сохранения лимона *in vitro*. Автореф. дис: ... канд. биол. наук. М., 2013. - 23 с.
6. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // *Physiol. Plant.* 1962. Vol. 15, N 13. P 437-497. DOI:10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x

References

1. Bilalova E.G., Ishmuratova M.M. Reproduction of citrus in culture *in vitro*. *Biological aspects of the spread, adaptation and resistance of plants. Materials of the all-Russian (with international participation) scientific conference*. Publishing House of the Mordovian University. Saransk, May 15-18, 2016. p. 53-55. (Reproduction of citrus in culture *in vitro* - In Russian)
2. Bilalova E.G., Ishmuratova M.M. Features of germination of seeds of lemon varieties in culture *in vitro*. *Actual problems of ecology and nature management: a collection of works of the All-Russian scientific and practical conference dedicated to the memory of Corresponding Member of the Academy of Sciences of the Republic of Belarus, Doctor of Biological Sciences, Professor Mirkin B. M.. Part I* / Ed. S.A. Bashkatov. - Ufa: RIC BashGU, 2017. P.165-167. (In Russian)
3. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // *Physiol. Plant.* 1962. Vol. 15, N 13. P 437-497. DOI:10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x
4. Sadykova F.V. Tropical and subtropical fruit plants of the lemonarium of the Republic of Bashkortostan. Ufa: Kitap, 2016. - 128 p. (In Russian)
5. Samarina L.S., Kolomiets T.M., Gorshkov V.M. Estimation of the regenerative capacity of citrus explants *in vitro*. *Gardening and Viticulture*. 2012. No.6. P. 27-30. (In Russian)
6. Samarina L.S. Optimization of micropropagation and lemon conservation *in vitro*. Author's abstract. dis: ... cand. biol. sciences. M., 2013. 23 p. (In Russian)