

БОТАНИКА

УДК 581.821.1:582.688.4

DOI: 10.26456/vtbio349

ИЗМЕНЕНИЕ МИКРОМЕТРИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ УСТЫЧНОГО АППАРАТА ВИДОВ РОДА АКТИНИДИЯ (*ACTINIDIA ARGUTA*, *A. KOLOMIKTA*, *A. POLYGAMA*) ПРИ КУЛЬТИВИРОВАНИИ *IN VITRO* И АДАПТАЦИИ *EX VITRO* *

И.Л. Крахмалева, О.И. Молканова, Ю.К. Виноградова

Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина РАН, Москва

Исследовали строение устьичного аппарата у перспективных форм и сортов трех видов рода *Actinidia* селекции ФНЦ Садоводства: *A. arguta* (14 образцов), *A. kolomikta* (14 образцов) и *A. polygama* (13 образцов). Сравнивали листья, собранные с интактных растений – источников первичных эксплантов, с микропобегов из коллекции *in vitro* и с адаптированных регенерантов *ex vitro*. На лаковых репликах листьев, полученных по методу Полаччи, с помощью цифрового микроскопа Keyence VHX-1000E измеряли следующие микрометрические признаки: длину полярной оси, экваториальный диаметр и число устьиц в поле зрения микроскопа. Листья у всех образцов гипостоматические, устьичный аппарат аномоцитный. *A. kolomikta* имеет индекс относительной площади транспирации в полтора раза более низкий, чем *A. arguta* и *A. polygama*. Более высокий индекс относительной площади транспирации у *A. arguta* и *A. polygama* достигается различными способами: *A. arguta* имеет самые крупные устьица, но наименьшее их число, тогда как *A. polygama* имеет самые мелкие устьица при значительном их числе. Данные видовые особенности не изменяются в зависимости от условий культивирования. У всех представителей рода *Actinidia* наибольший индекс относительной площади транспирации наблюдался в условиях *in vitro* и наименьший – при адаптации в условиях *ex vitro*. У всех видов средняя площадь одного устьица убывала в ряду: микропобеги *in vitro* (100%) → адаптирующиеся растения *ex vitro* (68-82%) → взрослые интактные растения (41-64%). В этом же ряду форма устьиц меняется от округлой до эллиптической.

Ключевые слова: *Actinidia*, *in vivo*, *in vitro*, *ex vitro*, устьичный аппарат.

* Исследование выполнено в рамках госзадания ГБС РАН № 122042700002-6

Введение. *Actinidia* Lindl. — крупный род семейства Actinidiaceae Engl. & Gilg, включающий около 55 видов, большинство которых произрастает в Восточной Азии (POWO; Камелин, 2022). Более десяти видов рода *Actinidia* характеризуются ценными плодами, в которых содержится большое количество биологически активных веществ с антиоксидантными свойствами. Плоды актинидии являются источниками витаминов (С, Е, К и фолиевая кислота), алкалоидов, флавоноидов, каротиноидов, некрахмальных полисахаридов, минералов и органических кислот (Ma et al., 2021; Wang et al., 2022). В России особый интерес представляют наиболее зимостойкие виды, произрастающие на Дальнем Востоке: *A. arguta* (Siebold et Zucc.) Planch. ex Miq., *A. kolomikta* (Maxim) Maxim. и *A. polygama* (Sieb. et Zucc.) Planch. ex Miq. По строению плодов и листьев данные виды относят к секции *Leiocarpae* Dunn: плоды пятнистые, стебли и черешки голые, листовые пластинки без опушения (Chat et al., 2004; Колбасина и др., 2007). Плоды вышеуказанных видов созревают в разное время (у *A. kolomikta* в августе, у *A. arguta* и *A. polygama* в сентябре) и различаются по химическому составу: *A. kolomikta* содержит рекордное количество витамина С (1000-2200 мг/100 г сырой массы плодов) в сочетании с низкой кислотностью (до 3%), у *A. arguta* в плодах содержится много веществ Р – активности (до 55 мг/ 100 г), а *A. polygama* отличается высоким содержанием β – каротина (провитамина А, до 4,47 мг/100 г) и каротиноидов (до 6,4 мг/ 100 г) (Колбасина и др., 2007).

Большой интерес актинидия представляет не только как плодово-ягодная культура, но и как декоративное растение, применяемое в вертикальном озеленении. В период цветения у лиан появляется декоративная окраска листьев: у *A. polygama* верхняя поверхность листьев постепенно приобретает серебристо-белый оттенок, у *A. kolomikta* обесцвечиваются небольшие участки листа, которые в дальнейшем становятся бледно-розовыми (Колбасина и др., 2007; Тутберидзе, Гребенюков, 2008).

В настоящее время актинидия завоевывает все большую популярность (Latocha et al., 2021; Wang et al., 2022). В связи с этим увеличиваются площади ее культивирования и растет потребность в посадочном материале. Использование биотехнологических методов является наиболее эффективным для производства большого количества генетически однородных растений (Муратова, и др., 2011; Молканова и др., 2018). В культуре *in vitro* для реализации регенерационной способности эксплантов создаются определенные условия (освещение, температура, влажность воздуха и особые питательные среды), которые отличаются от условий в открытом

грунте. Под действием данных факторов у растений происходит изменение морфологических и физиологических признаков. В связи с этим критическим этапом в биотехнологическом цикле культивирования является адаптация регенерантов к условиям *ex vitro*, на котором могут происходить большие потери растительного материала (Werner et al., 2018; Jagiełło et al., 2021; Mitrofanova et al., 2021; Raeva, Bogoslovskaya et al., 2023).

Успешность адаптации растений к различным стрессовым факторам во многом зависит от строения устьичного аппарата, основной функцией которого является газообмен и транспирация (Кузнецова и др., 2015; Плугатарь и др., 2020). Устьичный аппарат достаточно пластичен и изменяется как в процессе онтогенеза, так и под действием абиотических факторов. В исследованиях отмечается, что устьица значительно различаются по размерам и численности в пределах отдельных представителей одного таксона. В связи с этим характерные особенности строения устьичного аппарата могут использоваться в качестве дополнительных диагностических признаков видов (Немирова, Гаврилова, 2011; Паутов и др., 2015; Vinogradova et al., 2019; Mitrofanova et al., 2021; Bogoslovskaya et al., 2023).

Анатомо-морфологическое строение листьев актинидии отражено в немногочисленных статьях (Olah et al., 1997; Skripchenko, Moroz, 2009; Liu et al., 2012; Motyleva et al., 2017; Вдовенко-Мартынова и др., 2021; Motyleva et al., 2022; Piescu, Stănică 2022), причем изучались листовые пластинки, собранные у растений из открытого грунта. Особенности строения устьичного аппарата актинидии в *in vitro* и *ex vitro* исследованы только у *A. deliciosa* (A. Chev.) C.F. Liang et A.R. Ferguson (Moncaleán et al., 2007). Таким образом, на данный момент строение листовых пластинок у представителей рода *Actinidia* изучено недостаточно, особенно в условиях *in vitro* и при адаптации *ex vitro*, что делает актуальным исследование в этом направлении. Цель данной работы – определение характеристик устьичного аппарата наиболее зимостойких видов рода *Actinidia* и установление закономерностей их изменения при культивировании *in vitro* и адаптации *ex vitro*.

Методика. Исследования проводили в лаборатории биотехнологии растений ФГБУН Главного ботанического сада им. Н.В. Цицина Российской академии наук (ГБС РАН). Объектами исследования были перспективные формы и сорта *A. arguta* (14 образцов), *A. kolomikta* (14 образцов) и *A. polygama* (13 образцов) селекции Федерального научного селекционно-технологического центра садоводства и питомниководства (ФНЦ Садоводства).

В исследовании использовали образцы листовых пластинок, собранные: 1) с интактных растений (источников первичных эксплантов) из коллекции ФНЦ Садоводства, 2) с микропобегов из коллекции *in vitro* и 3) с адаптированных регенерантов на фитотроне в ГБС РАН. В ФНЦ Садоводства листья отбирали из средней части однолетних побегов в середине лета, в ГБС РАН – через 2 месяца культивирования *in vitro* и через 2 месяца после высадки регенерантов на адаптацию в *ex vitro*.

Строение устьичного аппарата листовых пластинок изучали методом отпечатков устьиц по Полаччи (Воробьев и др., 2013). Морфометрические показатели устьичного аппарата измеряли с помощью цифрового микроскопа Keyence VHX-1000E (Keyence Corporation, USA) при увеличении 1500×. На временных препаратах с абаксиальной стороны листовых пластинок учитывали число эпидермальных клеток в шт./мм², число устьиц и измеряли длину полярной оси и экваториальный диаметр устьиц. Объем выборки для измерения показателей составил 50-100 шт. На основе полученных данных рассчитывали среднюю площадь устьиц (S) по формуле площади эллипса ($S = \frac{\pi LD}{4}$, где L – длина полярной оси, D – экваториальный диаметр) и относительную площадь транспирации ($I_{от} = \frac{\sum nS}{\sum S_f} 100\%$, где n – число устьиц в поле зрения, S – площадь одного устьица, S_f – площадь одного поля зрения (39466,79 мкм²)).

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием пакета программ PAST 4.0, SPSS Statistics 23 и Microsoft Office Excel 2016. Достоверность различий между вариантами рассчитывали по дисперсионному анализу (ANOVA) и множественному ранговому критерию Дункана при P ≤ 0,05. В таблицах представлены средние значения и их стандартные ошибки (±).

Результаты и обсуждение. Морфо-анатомические исследования разных видов актинидии позволяют выявить особенности строения устьичного комплекса, а также установить его функциональные возможности и закономерности изменения при разных условиях культивирования (открытый грунт, *in vitro* и *ex vitro*).

Взрослые интактные растения. Установлено, что для *A. arguta*, *A. kolomikta* и *A. polygama* характерен гипостоматический тип листьев, т.е. устьица расположены только на абаксиальной стороне листа. Устьица у всех образцов аномоцитные, расположены на уровне эпидермальных клеток или немного погружены в них. Устьица распределены неравномерно и неодинаковые по величине. Нижняя и верхняя эпидермы состоят из удлинённых клеток неправильной

формы. Наиболее извилистую антиклинальную стенку клеток наблюдали на нижней эпидерме (рис. 1).

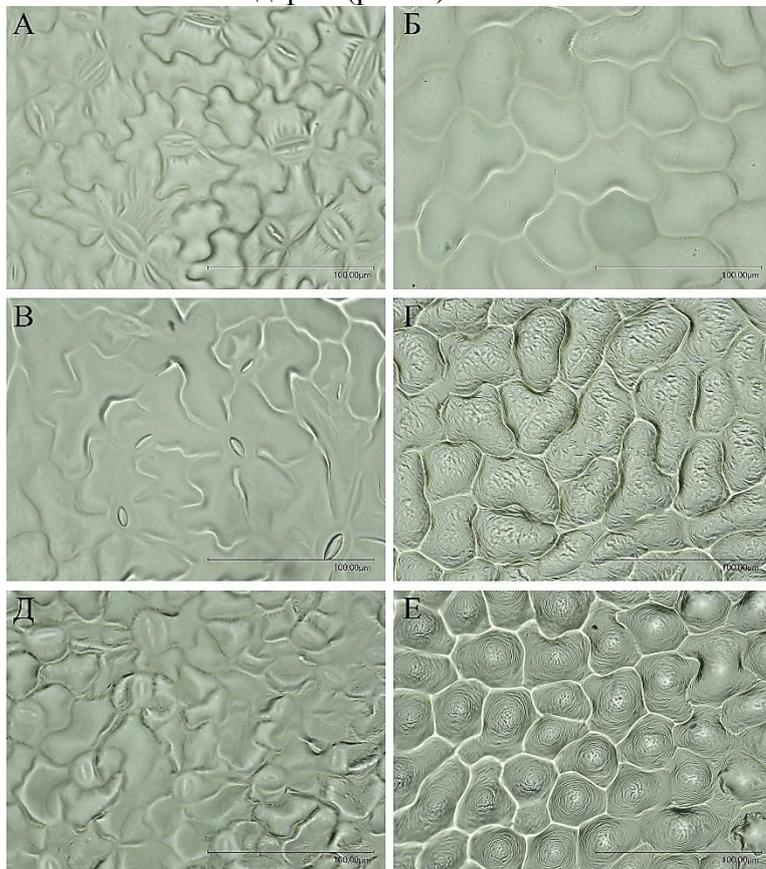


Рис. 1. Слепки абаксиальной (слева) и адаксиальной (справа) сторон листовых пластинок *A. arguta* сорта Золотая Коса (А, Б), *A. kolomikta* сорта Чемпион (В, Г) и *A. polygama* отборной женской формы № 172-4 (Д, Е)

Выявлено, что число устьиц на единицу площади (1 мм^2), их размеры и форма зависели от видовой принадлежности образца (табл. 1).

Таблица 1

Морфометрические показатели устьиц интактных растений
A. arguta, *A. kolomikta* и *A. polygama*

Вид	Число устьиц, шт./мм ²	Полярная ось (L), мкм	Экваториальный диаметр (D), мкм	Средняя площадь одного устьица, мкм ²	Форма устьиц (L/D)
<i>A. arguta</i>	187,9±10,6 b*	28,0±0,9 a	17,6±0,3 a	391,9±18,2 a	1,6±0,0 a
<i>A. kolomikta</i>	201,0±18,9 ab	20,9±0,6 b	14,4±0,3 c	241,5±10,9 c	1,5±0,0 b
<i>A. polygama</i>	241,6±15,9 a	22,2±0,4 b	16,5±0,2 b	290,4±7,3 b	1,4±0,0 c

Примечание. *Разные буквы указывают на достоверные различия между видами актинидии по критерию Дункана ($P \leq 0,05$)

По числу устьиц исследуемые виды располагались в следующем порядке: *A. polygama* ($241,6 \pm 15,9$ шт.), *A. kolomikta* ($201,0 \pm 18,9$ шт.) и *A. arguta* ($187,9 \pm 10,6$ шт.), однако достоверные различия по числу устьиц между *A. polygama* и *A. kolomikta*, а также между *A. kolomikta* и *A. arguta* не выявлены. Наиболее крупные устьица наблюдали у *A. arguta* (площадь $391,9 \pm 18,2$ мкм²), наименьшего размера – у *A. kolomikta* ($241,5 \pm 10,9$ мкм²). При этом у *A. kolomikta* устьица отличались наименьшим размером экваториального диаметра ($14,4 \pm 0,3$ мкм), а по полярной оси достоверных различий по сравнению с *A. polygama* не обнаружено.

Форма устьиц варьирует от округлой ($L/D = 1,0$) до эллиптической ($L/D = 2,3$), коэффициент вариации составил 6,2-19,2 % (средний уровень значимости). В основном для *A. arguta* и *A. kolomikta* характерны устьица эллиптической формы ($1,6 \pm 0,0$ и $1,5 \pm 0,0$), для *A. polygama* – более округлой ($1,4 \pm 0,0$).

Наименьшие значения относительной площади транспирации установлены у *A. kolomikta* (4,7%), а *A. arguta* и *A. polygama* отличались большими значениями (7,2% и 6,9%).

У исследуемых видов также установлены различия в размере и форме клеток верхней эпидермы. У *A. arguta* клетки более крупного размера ($404,7 \pm 36,8$ шт./мм²). У *A. kolomikta* чаще отмечали более извилистую антиклинальную стенку клеток, чем у других видов. Для *A. polygama* характерен эпидермис, состоящий из мелких клеток ($1121,0 \pm 137,5$ шт./мм²).

Микропобеги *in vitro*. Способность растений адаптироваться к условиям окружающей среды определяется их анатомическими, морфологическими, физиологическими и биохимическими особенностями. В свою очередь, ткани листовой пластинки и устьичный аппарат достаточно пластичны и изменяются под действием абиотических факторов. Между условиями открытого грунта и *in vitro* имеется ряд существенных различий в уровне освещения, относительной влажности воздуха и доступности питательных веществ. При культивировании *in vitro* эти факторы могут вызывать изменения морфологии и физиологии растений (Werner et al., 2018; Jagieћo et al., 2021; Mitrofanova et al., 2021; Raeva, Bogoslovskaya et al., 2023).

Нами выявлено, что в условиях *in vitro* у *A. arguta*, *A. kolomikta* и *A. polygama* сохранялся характерный интактным растениям гипостоматический тип листьев с аномоцитными устьицами. Установлено, что при культивировании *in vitro* у *A. kolomikta* и *A. polygama* плотность устьиц не изменяется, тогда как у *A. arguta* она ниже в 1,5 раза. Однако у всех видов устьица, образовавшиеся в условиях *in vitro*, отличались большим размером и более округлой

формой, чем сформированные в открытом грунте. Наибольшее изменение размера устьиц отмечали у *A. kolomikta* (площадь устьиц выше в 2,5 раза), чем у *A. polygama* и *A. arguta* (в 1,8 и 1,6 раза) (табл. 2, рис. 2).

Таблица 2

Морфометрические показатели устьиц представителей
рода *Actinidia* в культуре *in vitro*

Вид	Число устьиц, шт./мм ²	Полярная ось (L), мкм	Экваториальный диаметр (D), мкм	Средняя площадь одного устьица, мкм ²	Форма устьиц (L/D)
<i>A. arguta</i>	125,9±7,5 с*	34,2±0,2 а	22,4±0,1 с	609,3±7,1 а	1,5±0,0 а
<i>A. kolomikta</i>	199,9±13,9 б	31,9±0,2 б	23,3±0,1 б	593,7±6,3 а	1,4±0,0 б
<i>A. polygama</i>	226,6±3,8 а	27,7±0,2 с	24,3±0,2 а	534,8±6,7 б	1,2±0,0 с

Примечание. *Разные буквы указывают на достоверные различия между видами актинидии по критерию Дункана (P ≤ 0,05)

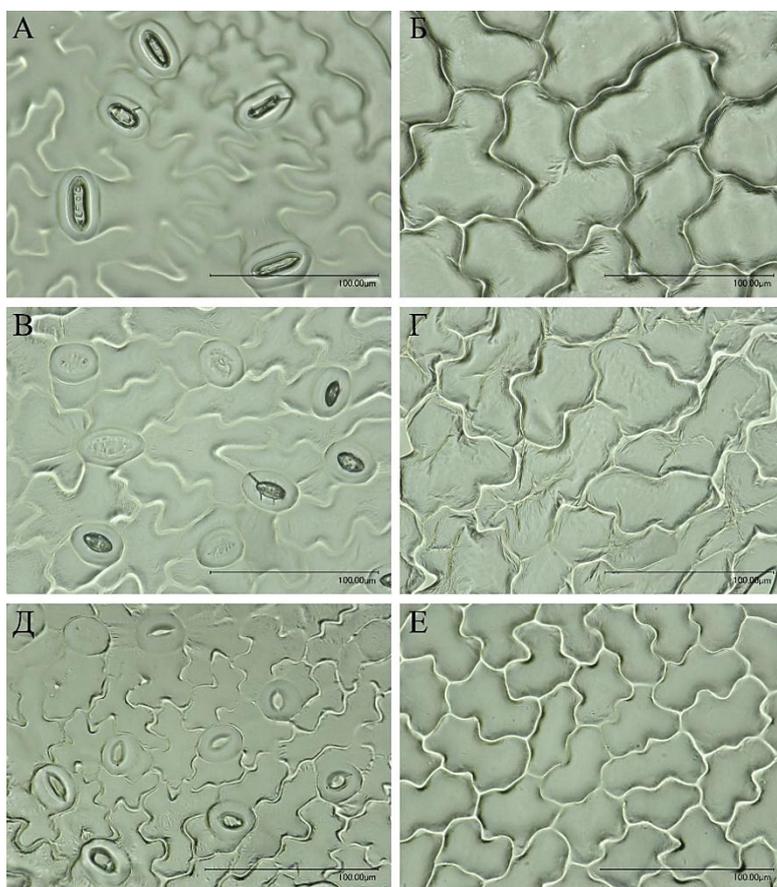


Рис. 2. Слпки абаксиальной (слева) и адаксиальной (справа) сторон листовых пластинок *A. arguta* сорта Таежный Дар (А, Б), *A. kolomikta* сорта Командир (В, Г) и *A. polygama* сорта Осенняя (Д, Е) в культуре *in vitro*

Стоит отметить, что в условиях повышенной влажности, которые оказали влияние на степень открытия устьичной щели, размер экваториального диаметра некоторых устьиц *A. polygama* был больше их полярной оси.

Выявлено, что у *A. kolomikta* и *A. polygama* больший размер устьиц в условиях *in vitro* оказал влияние на повышение относительной площади транспирации в 2,4 и 1,8 раза, что составило, соответственно, 11,5% и 12,1%. У *A. arguta* также увеличился средний размер устьиц, но уменьшилось их число. В связи с этим относительная площадь транспирации в разных условиях у *A. arguta* существенно не различалась (7,2% в открытом грунте, 7,9% в *in vitro*). Таким образом, по относительной площади транспирации исследуемые виды располагались в следующем порядке: *A. arguta* 7,9%, *A. kolomikta* 11,5% и *A. polygama* 12,1%.

В условиях *in vitro* клетки нижней и верхней эпидермы отличались крупными размерами и более извилистыми антиклинальными стенками. Как и в открытом грунте, у *A. arguta* клетки верхней эпидермы были более крупного размера ($139,9 \pm 6,9$ шт./мм²), а у *A. polygama* эпидерма состояла из мелких клеток ($545,9 \pm 62,3$ шт./мм²).

Установлено, что различия исследуемых видов по числу устьиц, их размеру и форме сохранялись в условиях *in vitro*. Так *A. arguta* характеризовалась меньшим числом устьиц ($125,9 \pm 7,5$ шт.), но более крупным размером (площадь $609,3 \pm 7,1$ мкм²). *A. polygama* отличалась большим числом устьиц ($226,6 \pm 3,8$ шт.) с меньшей площадью ($534,8 \pm 6,7$ мкм²). У *A. kolomikta*, как и в открытом грунте, отмечали средние значения числа устьиц ($199,9 \pm 13,9$ шт.), а площадь устьиц существенно выше и не отличается по сравнению с *A. arguta*. У *A. polygama* отмечена характерная округлая форма устьиц ($L/D = 1,2$), а у *A. arguta* и *A. kolomikta* – овальная ($L/D = 1,5$ и $1,4$, соответственно).

Регенеранты *ex vitro*. Критическим этапом клонального микроразмножения является адаптация регенерантов к условиям *ex vitro*. Это связано с неполноценным функционированием устьичного аппарата, корневой системы и слабым развитием кутикулы в условиях *in vitro*. По мере адаптации к изменившимся условиям культивирования у регенерантов происходит изменение структурных элементов листовой пластинки (Mitrofanova et al., 2021; Tsiupka et al., 2022).

Исследуемые виды актинидии характеризовались разным числом и размером устьиц, но на их адаптацию при переносе из условий *in vitro* в *ex vitro* это не повлияло – приживаемость регенерантов составила более 90%. Установлено, что в условиях *ex vitro* листья у представителей рода *Actinidia* гипостоматические с

аномоцитными устьицами. Выявлено, что при смене условий культивирования плотность устьиц и их размер уменьшались. Наибольшее снижение плотности устьиц наблюдали у *A. kolomikta* и *A. polygama* (в 1,6 и 1,4 раза), тогда как у *A. arguta* существенных различий не установлено. Отмечено, что размер устьиц изменился за счет уменьшения длины экваториального диаметра, что связано с закрытием устьичной щели при смене уровня относительной влажности. Устьица становились эллиптической формы (1,5-1,7) (табл.3, рис. 3).

Таблица 3
Морфометрические показатели устьиц представителей рода *Actinidia* после адаптации в условиях *ex vitro*

Вид	Число устьиц, шт./мм ²	Полярная ось (L), мкм	Экваториальный диаметр (D), мкм	Средняя площадь одного устьица, мкм ²	Форма устьиц (L/D)
<i>A. arguta</i>	111,8±24,8 с*	33,1±0,4 а	19,2±0,2 а	502,4±9,1 а	1,7±0,0 а
<i>A. kolomikta</i>	126,1±20,1 b	29,1±0,3 b	17,4±0,2 b	404,7±8,5 b	1,7±0,0 а
<i>A. polygama</i>	159,0±33,9 а	26,0±0,2 с	17,6±0,1 b	361,8±5,5 с	1,5±0,0 b

Примечание. *Разные буквы указывают на достоверные различия между видами актинидии по критерию Дункана ($P \leq 0,05$)

Наименьшее изменение относительной площади транспирации, при адаптации к условиям *ex vitro*, отмечали у *A. arguta* (в 1,4 раза), в то время как у *A. kolomikta* и *A. polygama* значения уменьшились в 2,1-2,2 раза. При этом существенных различий в относительной площади транспирации у данных видов не установлено: *A. arguta* 5,5%, *A. kolomikta* 5,3% и *A. polygama* 5,9%.

Клетки нижней и верхней эпидермы, как и в условиях *in vitro*, отличались крупными размерами и более извилистыми антиклинальными стенками, чем в открытом грунте. Также установлены различия в размере клеток верхней эпидермы *A. arguta* и *A. polygama* (253,4±6,2 шт./мм² и 367,4±24,7 шт./мм²).

В *ex vitro* у исследуемых видов сохранялись характерные различия в морфометрических показателях устьиц. *A. arguta* отличалась наименьшим числом устьиц (111,8±24,8 шт.) наибольшего размера (площадь 502,4±9,1 мкм²). *A. polygama* характеризовалась противоположными значениями данных показателей: наибольшим числом устьиц (159,0±33,9 шт.) меньшего размера (361,8±5,5 мкм²). Тогда как, *A. kolomikta*, по морфометрическим показателям устьиц, занимала среднее положение между *A. arguta* и *A. polygama*. Устьица *A. arguta* и *A. kolomikta* были более вытянутой формы (L/D=1,7), по сравнению с *A. polygama* (L/D=1,5).

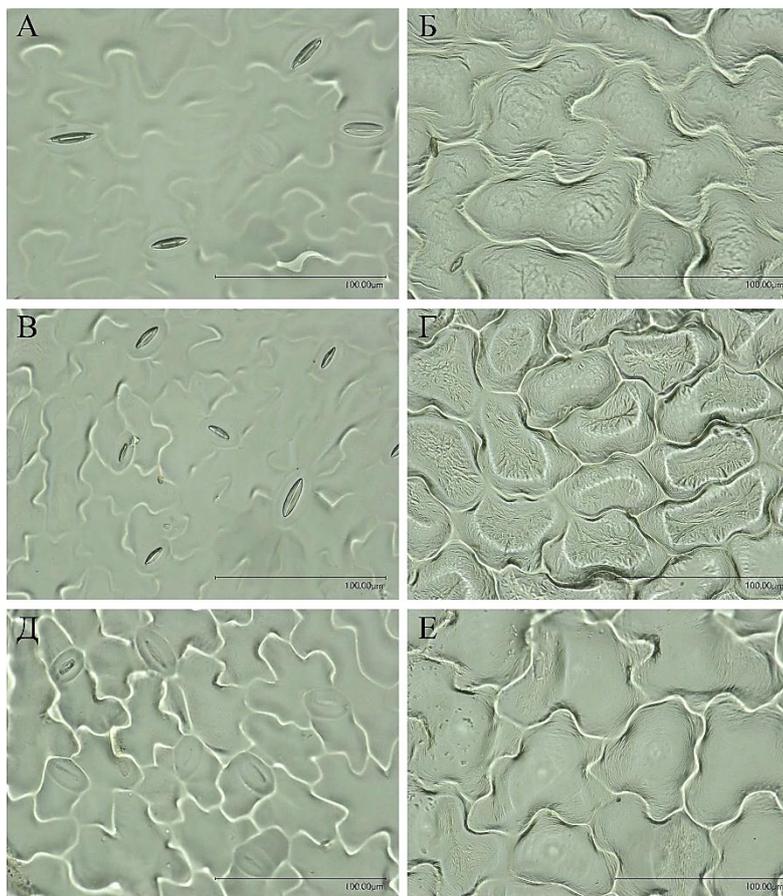


Рис. 3. Слелки абаксиальной (слева) и адаксиальной (справа) сторон листовых пластинок *A. arguta* сорта Золотая Коса (А, Б), *A. kolomikta* сорта Надежда (В, Г) и *A. polygama* сорта Добрый Молодец (Д, Е) после адаптации в условиях *ex vitro*

Заключение. У всех изученных видов рода *Actinidia* листья гипостоматические, устьичный аппарат аномоцитный – с несколькими околоустьичными клетками, не отличающимися формой от основных клеток эпидермы. По численности, форме и размерам устьиц виды различаются: *A. kolomikta* имеет индекс относительной площади транспирации в полтора раза более низкий, чем *A. arguta* и *A. polygama*. Стратегия достижения *A. arguta* и *A. polygama* более высокого индекса относительной площади транспирации различна: *A. arguta* имеет самые крупные устьица, но наименьшее их число, тогда как *A. polygama* имеет самые мелкие устьица при значительном их числе. При смене условий культивирования данные видовые особенности сохранялись и у эксплантов как *in vitro*, так и *ex vitro*.

У всех представителей рода *Actinidia* наибольший индекс относительной площади транспирации наблюдался в условиях *in vitro*

и наименьший – при адаптации в условиях *ex vitro*. У всех видов средняя площадь одного устьица убывала в ряду: экспланты *in vitro* (100%) → адаптирующиеся растения *ex vitro* (68-82%) → взрослые интактные растения (41-64%). В этом же ряду форма устьиц меняется от округлой до эллиптической.

Список литературы

- Вдовенко-Мартынова Н.Н., Аджиахметова С.Л., Безроднова Е.И., Поздняков Д.И. 2021. Исследования по выявлению показателей подлинности растительного сырья - *Actinidia arguta folia* и содержанию основных групп биологически активных веществ // Бюллетень ГНБС. № 138. С. 101-109.
- Воробьев В.Н., Невмержицкая Ю.Ю., Хуснетдинова Л.З., Якушенкова Т.П. 2013. Практикум по физиологии растений: учебно-методическое пособие. Казань: Казан. ун-т. 80 с.
- Камелин Р.В. 2022. Флора Восточной Азии и ее генезис // *Turczaninowia*. Т. 25. Вып. 3. С. 5-16.
- Колбасина Э.И., Соловьева Л.В., Тульнова Н.Н., Козак Н.В., Скрипченко Н.В., Мороз П.А., Корчемная Н.А., Гвоздецкая А.И. Культурная флора России: Актинидия. Лимонник. М.: Россельхозакадемия, 2007. 327 с.
- Кузнецова Т.А., Сорокопудов В.Н., Юшин Ю.В. 2015. Особенности адаптации растений *Radix racemosa* L. в различных климатических условиях // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Естественные науки. № 3(11). С. 23-31.
- Мартыненко Е.В., Круглова Н.Н., Дубровная О.В. 2011. Адаптация растений-регенерантов пшеницы к условиям *ex vitro*: работа устьиц // Известия самарского научного центра Российской академии наук. Т. 13. № 5-3. С. 164-166.
- Молканова О.И., Королева О.В., Стахеева Т.С., Крахмалева И.Л., Мелешук Е.А. 2018. Совершенствование технологии клонального микроразмножения ценных плодовых и ягодных культур для производственных условий // Достижения науки и техники АПК. Т. 32. № 9. С. 66-69.
- Муратова С.А., Соловых Н.В., Терехов В.И. 2011. Индукция морфогенеза из изолированных соматических тканей растений. Мичуринск: Изд-во МичГАУ. 107 с.
- Немирова Е.С., Гаврилова С.Е. 2011. Строение устьичного аппарата листа видов рода *Viola* L. флоры Московской области // Научное мнение. № 2. С. 165-168.
- Паутов А.А., Васильева В.А., Крылова Е.Г. 2015. Полиморфизм устьиц в эпидерме листа *Exbucklandia populnea* (Hamamelidaceae) и его возможное значение // Ботанический журнал. Т. 100. № 6. С. 540-549.
- Плугатарь Ю.В., Корсакова С.П., Ковалев М.С. 2020. Сравнительная оценка CO₂/H₂O-газообмена вечнозеленых древесно-кустарниковых растений в благоприятных и стрессовых условиях внешней среды // Бюллетень ГНБС. № 135. С. 9-23.

- Гутберидзе Ц.В., Гребенюков С.Н.* 2008. Перспективы использования некоторых видов актинидии в вертикальном озеленении // Субтропическое и декоративное садоводство. № 41. С. 410-414.
- Raeva-Bogoslovskaya E., Vinogradova Y., Molkanova O., Hussien M.* 2023. Anatomical structures of Saskatoon berry (*Amelanchier* Medik.) leaves under different cultivation conditions // Bangladesh Journal of Plant Taxonomy. V. 30(2). P. 185-193.
- Chat J., Jauregui B., Petit R.J., Nadot S.* 2004. Reticulate evolution in kiwifruit (*Actinidia*, Actinidiaceae) identified by comparing their maternal and paternal phylogenies // American Journal of Botany. V. 91. No 5. P. 736-747.
- Iliescu L.M., Stănică F.* 2022. *Actinidia* species under microscope // Acta Horticulturae. V. 1332. P. 71-78
- Jagiello-Kubiec K., Nowakowska K., Łukaszewska A.J., Pacholczak A.* 2021. Acclimation to *ex vitro* conditions in ninebark // Agronomy. V. 11. No 4. P. 612.
- Latocha P., Debersaques F., Hale I.* 2021. *Actinidia arguta* (Kiwiberry): Botany, production, genetics, nutritional value, and postharvest handling / ed Warrington I. // Horticultural Reviews. V. 48. Hoboken: John Wiley & Sons. P. 37-152.
- Liu W., Yang M., Liang H.* 2012. Observations on leaf morphology of male and female *Actinidia chinensis* plants // Journal of Applied Horticulture. V. 14. No 1. P. 25-28.
- Ma J.T., Li D.W., Liu J.K., He J.* 2021. Advances in research on chemical constituents and their biological activities of the genus *Actinidia* // Nat Prod Bioprospect. V. 11. P. 573-609.
- Mitrofanova I., Lesnikova-Sedoshenko N., Tsiupka V., Smykov A., Mitrofanova O.* 2021. Use of biotechnological methods to support the production of new peach hybrids // Horticulturae. V. 7(12). P. 533.
- Moncaleán P., Fernández B., Rodríguez A.* 2007. *Actinidia deliciosa* leaf stomatal characteristics in relation to benzyladenine incubation periods in micropropagated explants // New Zealand journal of crop and horticultural science. V. 35(1). P. 159-169.
- Motyleva S., Kozak N., Kulikov I., Medvedev S., Imamkulova Z.* 2017. The Peculiarities of *Actinidia* species leaves micromorphology // Agrobiodiversity for Improving Nutrition, Health and Life Quality. No 1. P. 342-346.
- Motyleva S., Vlasova E., Kozak N., Gins M., Gins V.* 2022. Morphological and anatomical characterization of *Actinidia kolomikta* (Rupr. & Maxim.) Maxim. (C3) and *Amaranthus tricolor* L. (C4) leaves // Agronomy Research. V. 20. No 2. P. 341-356.
- Olah R., Masarovičová E., Ovečka M., Bobák M., Krištín J., Egedová V.* 1997. Anatomical and morphological parameters of leaves and leaf petioles of *Actinidia deliciosa* // Biologia plantarum. V. 39(2). P. 271-280.
- POWO. 2024. Plants of the World Online. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew / Published on the Internet; <https://powo.science.kew.org/> Accessed 25.03.2024.

- Raeva-Bogoslovskaya E., Vinogradova Y., Molkanova O., Hussien M.* 2023. Anatomical structures of Saskatoon berry (*Amelanchier Medik.*) leaves under different cultivation conditions // *Bangladesh Journal of Plant Taxonomy*. V. 30(2). P. 185-193.
- Skripchenko N., Moroz P.* 2009. Sexual dimorphism of *Actinidia Lindl.* species // *Plant Introduction*. V. 42. P. 50-58.
- Tsiupka V., Zhdanova I.V., Bulavin I.V., Tsiupka S., Mitrofanova I.V.* 2022. *Ex vitro* acclimatization of *Lavandula angustifolia Mill.* plants // *Acta Horticulturae*. V. 1339. P. 363-370.
- Skripchenko N., Moroz P.* 2009. Sexual dimorphism of *Actinidia Lindl.* species // *Plant Introduction*. V. 42. P. 50-58.
- Vinogradova, Y., Grygorieva, O., Vergun, O.* 2019. Stomatal structure in *Solidago L.* species as the index of their adaptation opportunities. *Agrobiodiversity for improving nutrition, health and life quality*, (3).
- Wang S., Qiu Y., Zhu F.* 2021. Kiwifruit (*Actinidia spp.*): A review of chemical diversity and biological activities // *Food chemistry*. V. 350. P. 128469.
- Werner E.T., Milanez C.R.D., Gontijo A.B.P.L., Soares T.C.B. do Amaral J.A.T.* 2018. Leaf anatomy changes related to cultivate *in vivo* and *in vitro* and during pre-acclimatization of *Crambe abyssinica Hochst* // *Plant Cell Culture & Micropropagation*. V. 14. № 1. P. 10-17.

VARIABILITY IN MICROMETRIC FEATURES OF THE STOMATAL APPARATUS OF ACTINIDIA SPECIES (*ACTINIDIA ARGUTA*, *A. KOLOMIKTA*, *A. POLYGAMA*) DURING *IN VITRO* CULTIVATION AND *EX VITRO* ADAPTATION

I.L. Krakhmaleva, O.I. Molkanova, Yu.K. Vinogradova

Tsitsin Main Botanical Garden RAS, Moscow

The structure of the stomatal apparatus of promising forms and varieties of three *Actinidia* species from the selection of the Federal Research Center for Horticulture: *A. arguta* (14 specimens), *A. kolomikta* (14 specimens) and *A. polygama* (13 specimens) was studied. Leaves collected: 1) from intact plants - sources of primary explants, 2) from microshoots *in vitro* and 3) from adapted regenerants *ex vitro* were compared. The following micrometric features were measured on leaf lacquer replicates using a Keyence VHX-1000E digital microscope: polar axis length, equatorial diameter, and number of stomata in the field of view of the microscope. Leaves of all specimens are hypostomatic and the stomatal apparatus is anomocytic. *A. kolomikta* has a transpiration relative area index in 1.5 times lower than *A. arguta* and *A. polygama*. The higher relative transpiration area index in *A. arguta* and *A. polygama* is achieved in different ways: *A. arguta*

has the largest stomata but the smallest number of stomata, whereas *A. polygama* has the smallest stomata with a significant its number. These species peculiarities do not change depending on cultivation conditions. In all *Actinidia* species, the largest index of relative transpiration area was observed under *in vitro* conditions and the smallest - under *ex vitro* conditions. In all species, the average area of stoma decreased in the follower: microshoots *in vitro* (100%) → adapted plants *ex vitro* (68-82%) → adult intact plants (41-64%). In the same row, the shape of stomata changed from rounded to elliptical.

Keywords: *Actinidia*, *in vivo*, *in vitro*, *ex vitro*, stoma.

Об авторах:

КРАХМАЛЕВА Ирина Леонидовна – младший научный сотрудник лаборатории биотехнологии растений, ФГБУН Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина РАН, 127276, Москва, ул. Ботаническая, д. 4; e-mail: seglory@bk.ru.

МОЛКАНОВА Ольга Ивановна – кандидат сельскохозяйственных наук, ведущий научный сотрудник, заведующий лабораторией биотехнологии растений, ФГБУН Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина РАН, 127276, Москва, ул. Ботаническая, д. 4; e-mail: molkanova@mail.ru.

ВИНОГРАДОВА Юлия Константиновна – доктор биологических наук, главный научный сотрудник, ФГБУН Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина РАН, 127276, Москва, ул. Ботаническая, д. 4; e-mail: gbsad@mail.ru.

Крахмалева И.Л. Изменение микрометрических признаков устьичного аппарата видов рода актинидия (*Actinidia arguta*, *A. kolomikta*, *A. polygama*) при культивировании *in vitro* и адаптации *ex vitro* / Крахмалева И.Л., Молканова О.И., Виноградова Ю.К. // Вестн. ТвГУ. Сер. Биология и экология. 2024. № 1(73). С. 123-136.

Дата поступления рукописи в редакцию: 11.11.23
Дата подписания рукописи в печать: 01.03.24