

УДК 634.8

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ СТРОЕНИЯ
АНАТОМО-МОРФОЛОГИЧЕСКИХ
СТРУКТУР ЧЕРЕНКОВ
ВИНОГРАДА ПРОГРАММНО-
ТЕХНИЧЕСКИМИ
МЕТОДАМИ**

Никольский Максим Алексеевич
канд. с.-х. наук, доцент
ст. научный сотрудник
лаборатории виноградарства
и виноделия

*Федеральное государственное бюджетное
научное учреждение Анапская зональная
опытная станция виноградарства и
виноделия СКЗНИИСиВ, Анапа, Россия*

Основным способом размножения растений винограда является вегетативное размножение, которое базируется на регенерации тканей и органов растений. Одревесневшие черенки винограда, используемые для вегетативного размножения, должны быть физиологически зрелыми, а все изменения побега, связанные с его вызревaniem, коррелируют с анатомической структурой побега. В связи с этим изучение анатомических структур черенков винограда является актуальным направлением исследований в виноградарстве. В представленной статье показано, что анатомическая структура однолетнего вызревшего побега винограда – один из главных критериев оценки степени вызревания лозы. Отмечено, что на структуру и вызревание побегов винограда оказывают влияние сортовые и видовые особенности растений, почвенно-климатические условия выращивания, питательный режим, применяемая агротехника и способ выращивания растений. В материалах статьи приводится краткий литературный обзор сведений о значении вызревания виноградных черенков для вегетативного размножения винограда. Показана связь между степенью вызревания, физиолого-биохимическими

UDC 634.8

**DETERMINATION
OF ANATOMICAL
AND MORPHOLOGICAL
STRUCTURE OF GRAPES
SHOOTS USING SOFTWARE
TECHNICAL METHODS**

Nikolsky Maxim
Cand. Agr. Sci., Docent
Senior Research Associate
of Laboratory
of Viticulture and Wine-making

*Federal State Budget Scientific
Institution Anapa's Zonal Experimental
Station of Viticulture and Wine-making
of NCRRIH&V, Anapa, Russia*

The main way of grapes plants reproduction is vegetative reproduction which is based on regeneration of plant tissues and organs. The wood's shanks of grapes used for vegetative reproduction have to be physiologically mature, and all changes of shoot connected with its ripening correlate with its anatomical structure. In this regard the study of anatomical structures of grapes shanks is the actual direction of research in wine growing. In this article it is shown that anatomical structure of the one-year ripened grapes shoots is one of the main criterion of an assessment of extent of vine ripening. It is noted that kind and specific features of plants, soil and climatic conditions of cultivation, the nutritious mode, agric-technology and way of plants cultivation impact on structure and ripening process of grapes shoots. The short literary review of data on value of grapes shanks ripening for vegetative reproduction of grapes is presented in the materials of article. The connection between extent of ripening, physiological and biochemical characteristics

характеристиками и анатомическим строением однолетнего одревесневшего побега. Указывается, что предлагаемый нами способ определения процентного отношения тканей флоэмы, ксилемы и сердцевины к общему диаметру черенка и подсчет количества ситовидных трубок довольно прост в освоении, намного точнее и оперативнее ручного подсчета этих показателей. Однако отмечено, что на конечный результат может сильно повлиять качество обрабатываемых фотографий, которое зависит от навыков исследователя. В заключении указывается, что предлагаемый нами способ может дополнить существующие методики гистохимических исследований.

Ключевые слова: ВИНОГРАД, ВЕГЕТАТИВНОЕ РАЗМНОЖЕНИЕ, ОДНОЛЕТНИЕ ПОБЕГИ, ВЫЗРЕВАНИЕ, АНАТОМИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА, НОВЫЙ СПОСОБ

and an anatomic structure of one-year wood's shoot is shown. It is specified that the offered way of determination of percentage of tissues of floema, xylem and core to the general diameter of a shank as well as the calculation of quantity of sieve tubes is quite easy to learn, much more precisely and more operative than manual calculation. However it is noted that the quality of the processed photos which depends from skills of the researcher can strongly affect the end result. It is specified in the conclusion that method offered by us could add the existing techniques of histological and chemical research.

Key words: GRAPES, VEGETATIVE PROPAGATION, ANNUAL SHOOTS, MATURING, ANATOMIC STRUCTURES, NEW METHOD

Введение. Для вегетативного размножения винограда, основного способа размножения виноградных растений, используются однолетние стеблевые побеги (черенки), на которых находится не менее одной нормально развитой почки [1, 2]. Побег является одним из основных органов виноградного растения, который выполняет все его жизненные функции.

Целостность побега, как единого органа, подчеркивается общностью происхождения, единством проводящей системы листьев и стеблей и формированием их в онтогенезе из конуса нарастания [3]. Одревесневшие черенки винограда, используемые для вегетативного размножения, должны быть физиологически зрелыми (вызревшими) [2, 4].

Все изменения побега, связанные с вызреванием, коррелируют с анатомической структурой побега, которая представляет собой сочетание механических и проводящих тканей разного функционального назначения (кора, флоэма, ксилема, сердцевина. У физиологически зрелых побегов четко видна граница между лубом и древесиной (ксилемой); пучки твердо-

го луба равномерно расположены в толще флоэмы, а расстояние между последним пучком твердого луба примерно равно расстояниям между другими пучками твердого луба [5, 6, 7].

В то же время, у невызревших побегов последние пучки твердого луба недоразвиты и прилегают плотно к камбию. Основной запас крахмала сосредоточен в клетках древесины (ксилемы) и сердцевинных лучах, сахар же больше находится в камбиальных, лубяных клетках перидермы [8].

Таким образом, анатомическая структура однолетнего вызревшего побега винограда – это один из главных критериев оценки вызревания лозы. Соотношение структурных компонентов однолетнего побега преимущественно определяет вид и сорт винограда. На его анатомическую структуру и вызревание оказывают влияние. сортовые и видовые особенности; почвенно-климатические условия выращивания; питательный режим; применяемая агротехника и способ выращивания растений.

Изучение анатомической структуры однолетних вызревших побегов винограда проводится при установлении взаимосвязи с морозостойкостью кустов [5, 7], с учетом особенностей развития сортов разных экологогеографических групп [9, 10]. Определяется зависимость между анатомической структурой и плодоносностью побега, его регенерационными свойствами [11], а также накоплением пластических веществ [12, 13].

Основным методом при изучении анатомической структуры является методика гистохимических исследований с использованием микротомных срезов, их микроскопированием и измерением анатомических структур с помощью объект- и окулярмикрометров [7, 14, 15]. Измерение толщины побегов и отношение к ней величины флоэмы, ксилемы и сердцевины производится с помощью штангенциркуля.

Однако в начале наших исследований по данному вопросу возникли определенные трудности, связанные с отсутствием сотрудников, обладающих опытом проведения подобных исследований, а также с отсутстви-

ем микротомы и невозможностью его приобретения из-за значительной стоимости. В связи с этим нами было принято решение применять в нашей работе программы, использующие методы компьютерного зрения с автоматическим подсчетом объектов.

Объекты и методы исследований. Для получения снимков объектов исследования, необходимых для дальнейшей обработки, нами использовался цифровой однообъективный зеркальный фотоаппарат NIKON D5100 с объективом Nikon DX AF-S MicroNikkor 40mm 1:2.8G, штативом и кольцевой макровспышкой MeiKeFC100.

Срезы исследуемых объектов выполнялись с помощью окулировочного ножа, далее они помещались на предметное стекло и фотографировались (рис. 1).



Рис. 1. Фотография среза черенка подвоя винограда сорта Кобер 5ББ

Обсуждение результатов. Наша работа заключалась в определении процентного соотношения тканей флоэмы, ксилемы и сердцевины к общему диаметру черенка. Для этого мы использовали экранную рулетку Universal Desktop Ruler. 3.6.3481. Данная программа является результатом работы отечественной софтверной компании, стоимость составляет 490 рублей, нами использовалась 30-ти дневная trial-версия [16]. Для ее использования необходимо в любом просмотрщике изображений открыть фотографию, после чего левой кнопкой манипулятора «мышь» активировать команду Площадь+Периметр программы Universal Desktop Ruler (рис. 2).

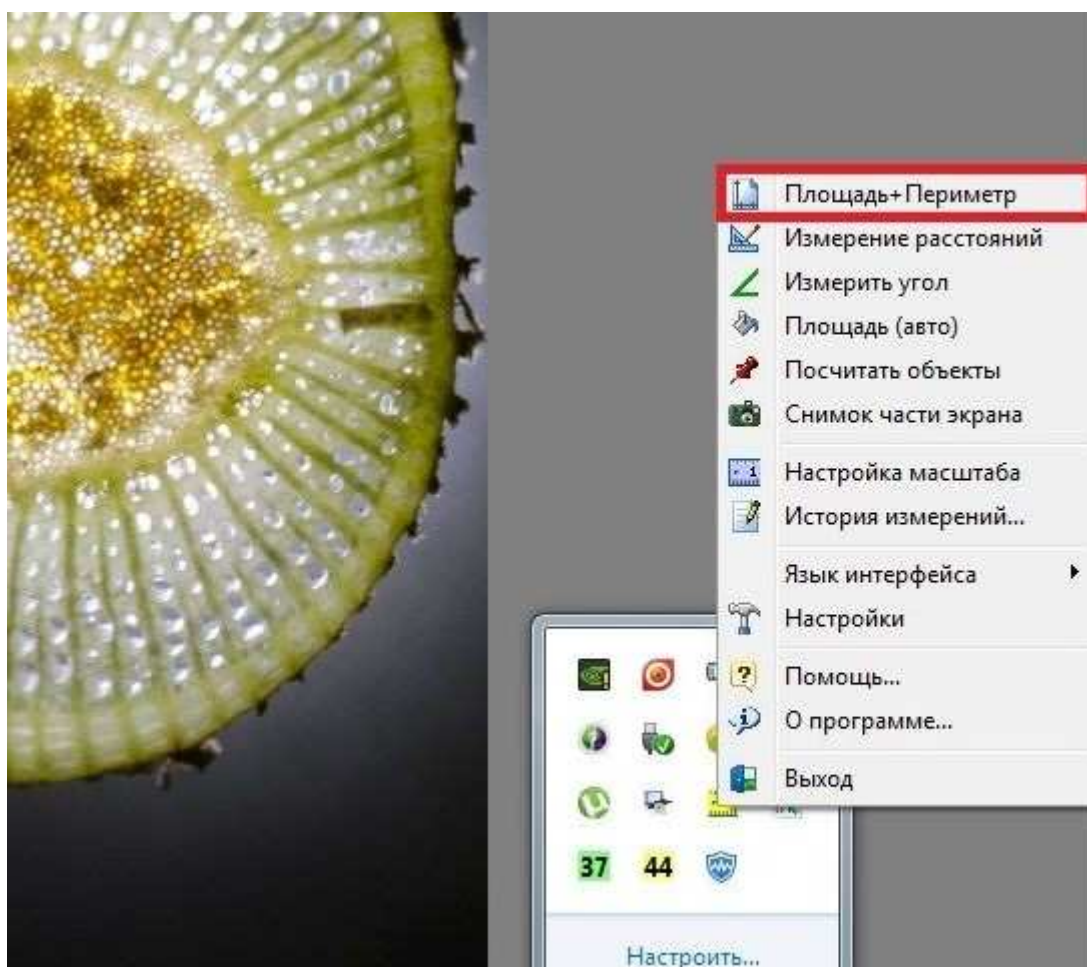


Рис. 2. Активация команды Площадь+Периметр программы UniversalDesktopRuler

Далее, с помощью манипулятора «мышь», последовательно выделяется контур флоэмы, ксилемы и сердцевинны и определяется площадь в пикселях. С использованием полученных данных определяется процентное соотношение тканей к общему диаметру черенка (рис. 3).

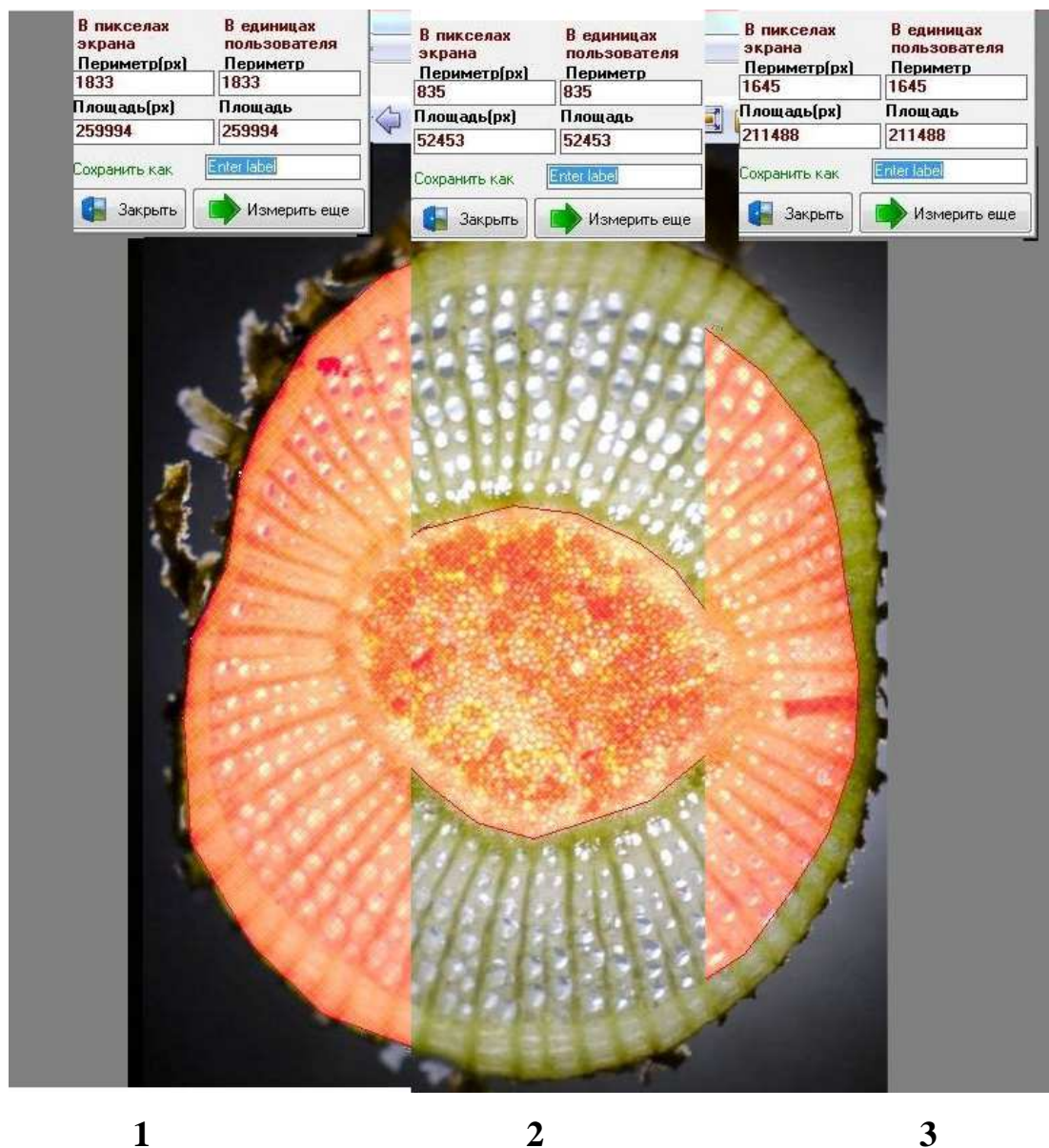


Рис. 3. Вычисление площади среза черенка в пикселях: 1 – общая площадь, 2 – площадь сердцевинны, 3 – площадь ксилемы и сердцевинны

После определения процентного отношения тканей флоэмы, ксилемы и сердцевинны к общему диаметру черенка, мы определяли общее количество ситовидных трубок и сердцевинных лучей.

Количество ситовидных трубок определялось с использованием программы Image Jv.1.49i, это программа с открытым исходным кодом для анализа и обработки изображений. Она написана на языке Java сотрудниками National Institute of Health и распространяется без лицензионных ограничений как общественное достояние [17].

Прежде чем приступить к определению количества ситовидных трубок, необходимо область сердцевины закрасить однотонным цветом или градиентом в любом векторном графическом редакторе. Это делается для того, чтобы исключить вероятность ошибочного учета клеток сердцевины в качестве ситовидных трубок.

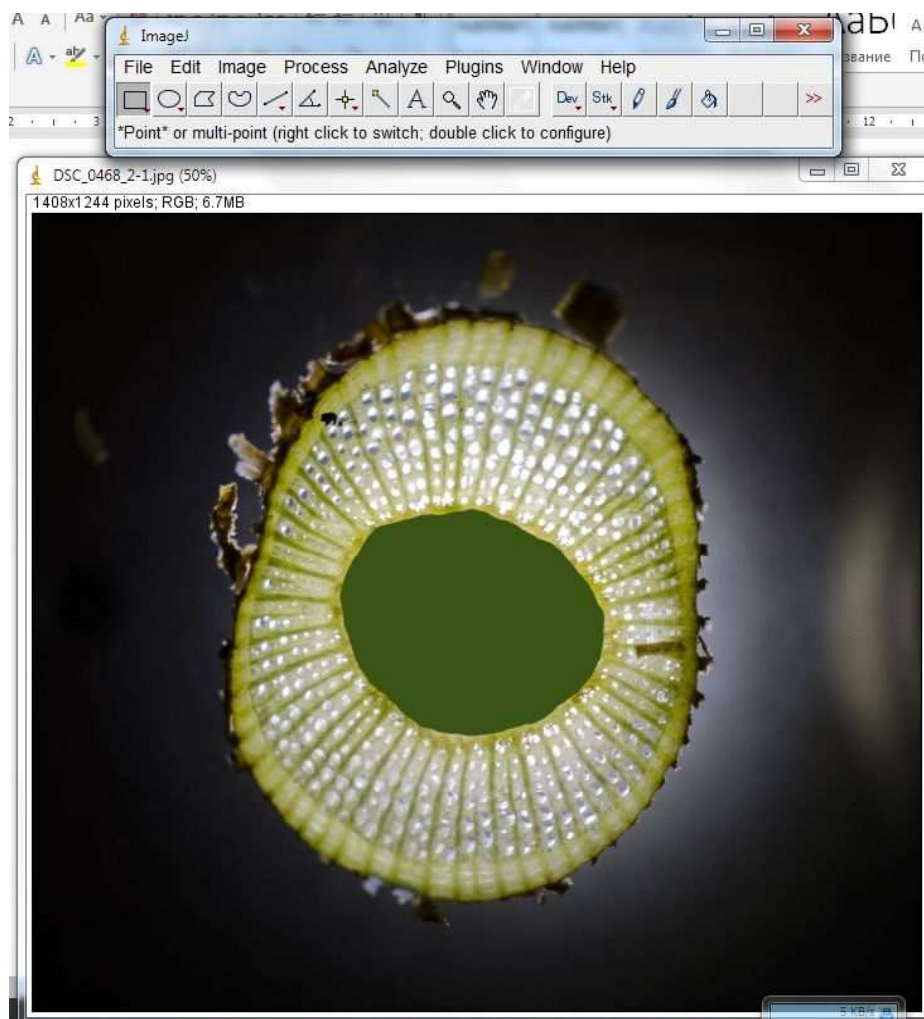


Рис. 4. Открытие изображения для обработки в программе Image J

Image ->Type -> 8 bit (рис. 5).

Затем программой Image J открывается интересующая нас фотография и следующим набором команд производится обработка и подсчет си-
товидных трубок: File- >Open (рис. 4).

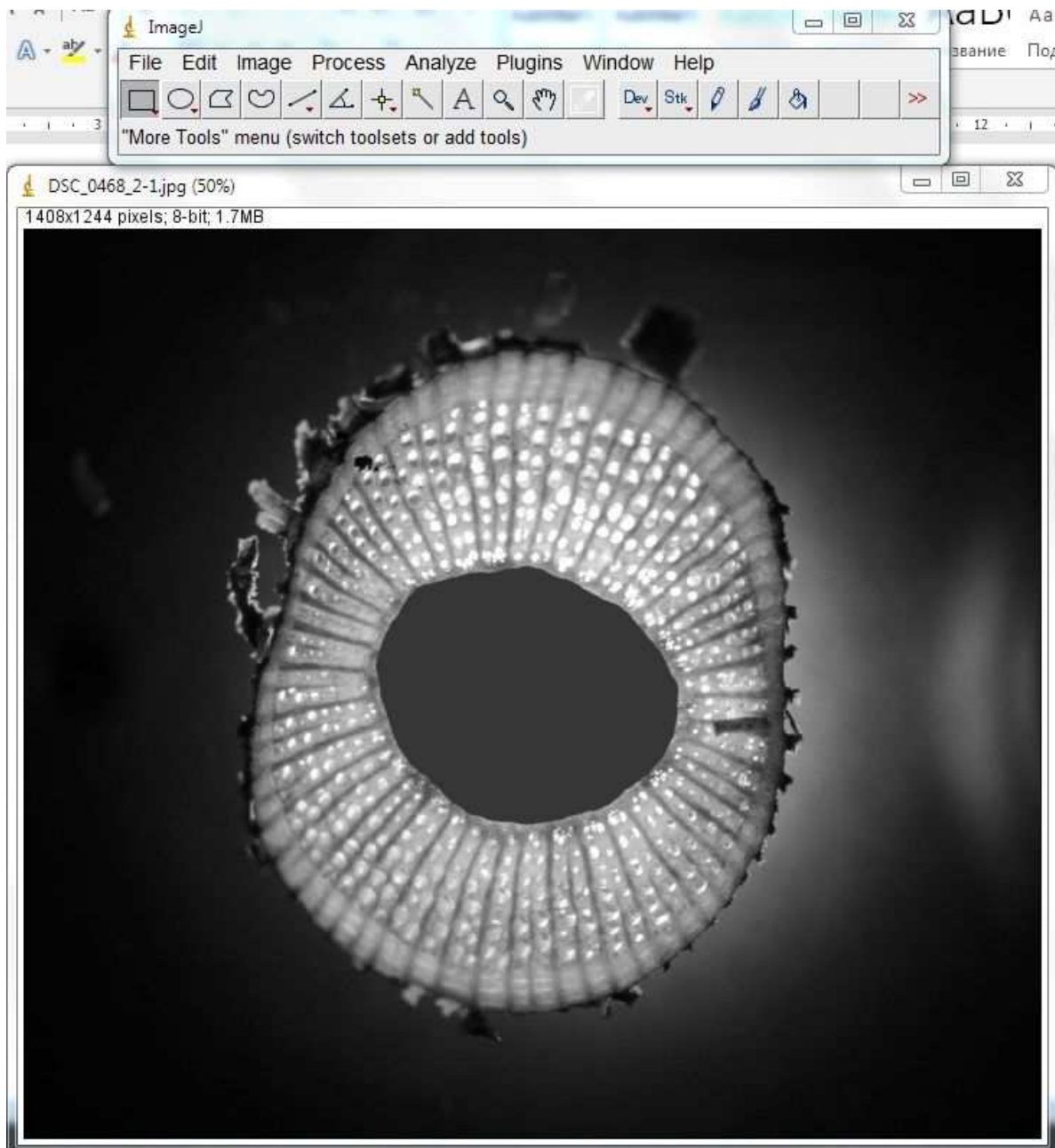


Рис. 5. Преобразование изображения в черно-белое
с глубиной цвета 8 бит

Image - >Adjust - >Threshold (рис. 6, 7).

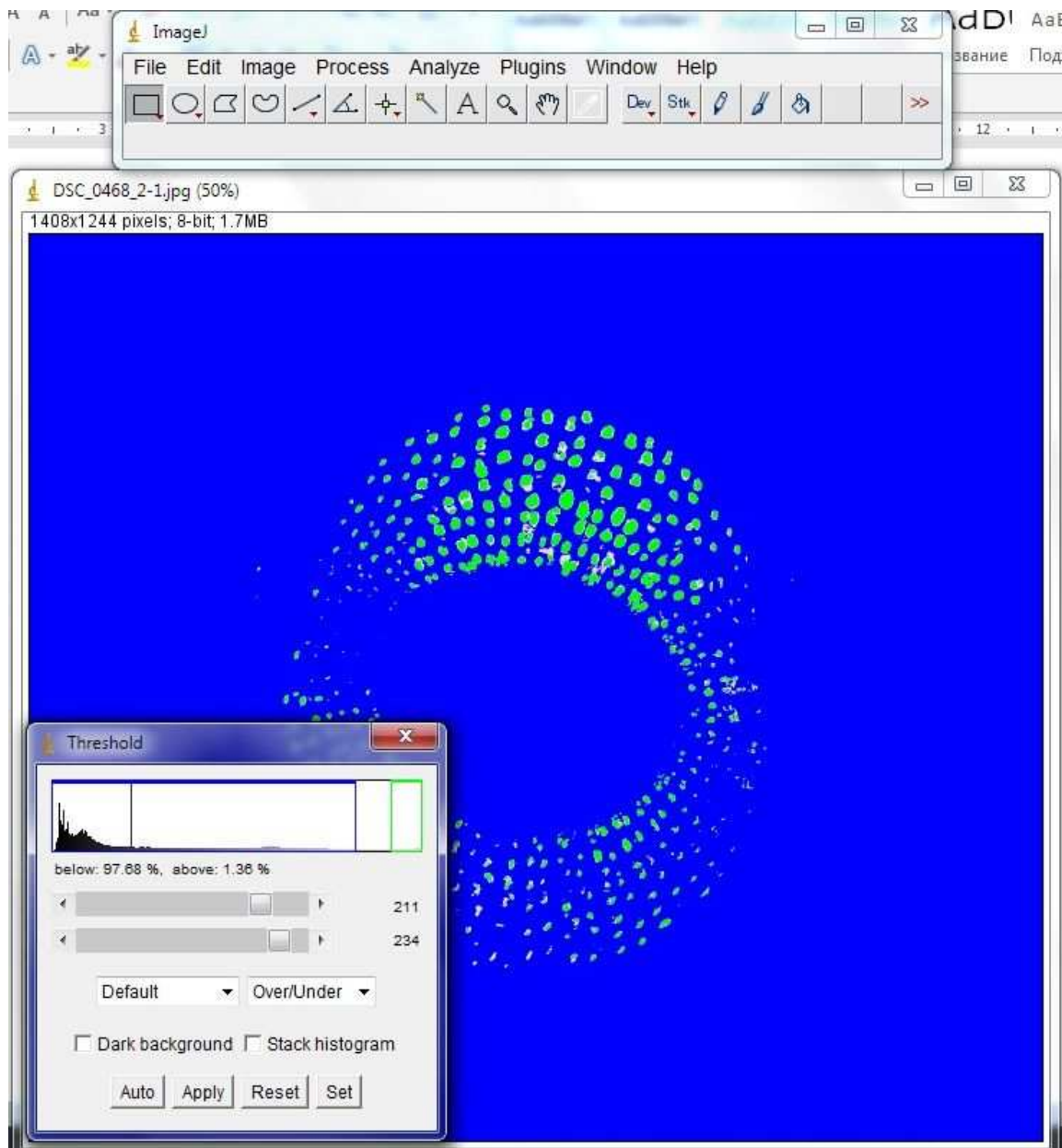


Рис. 6. Выделение диапазона цветов, отвечающих за определение ситовидных трубок

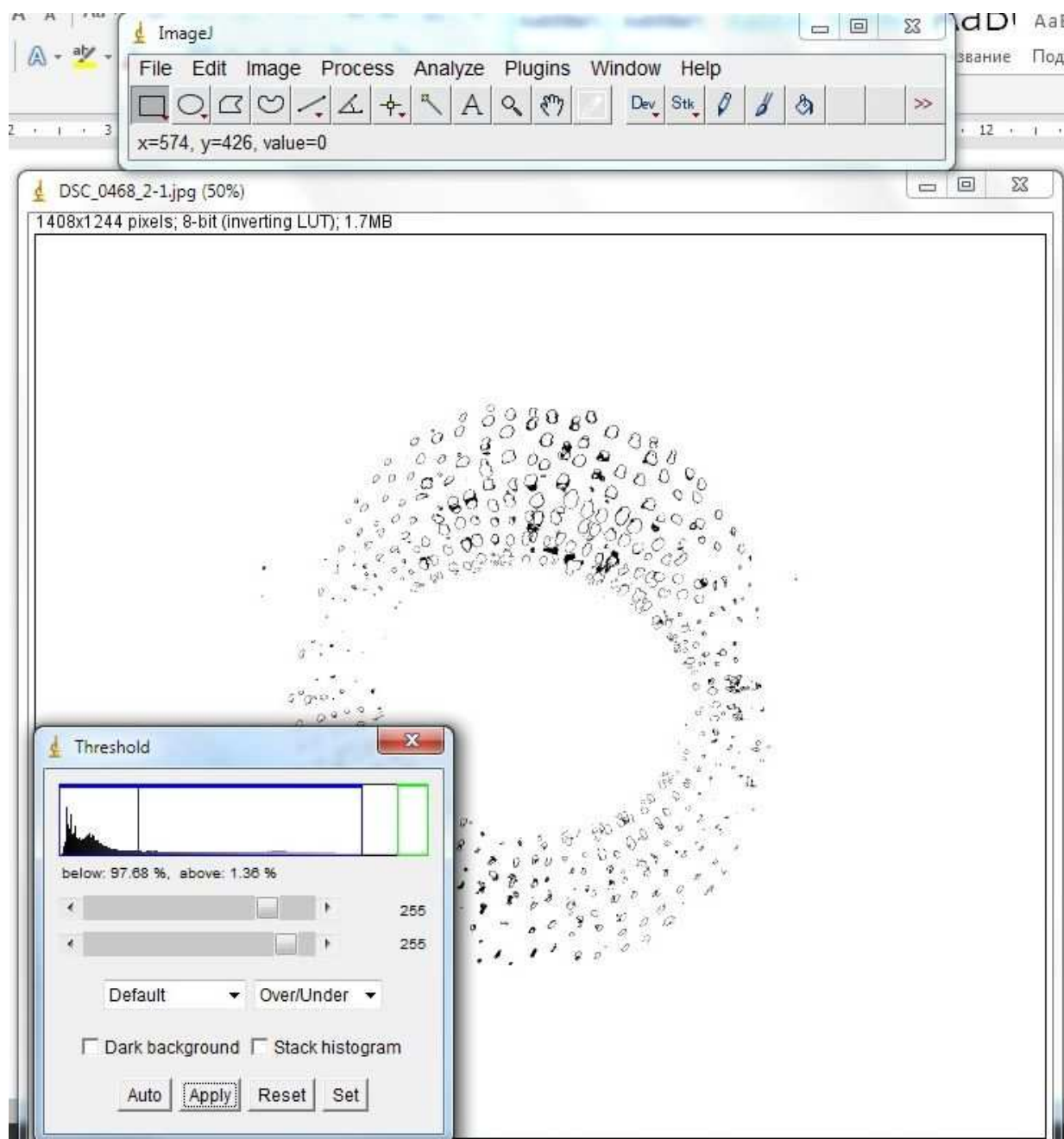


Рис. 7. Контуры, выделенных ситовидных трубок для дальнейшего подсчета

Analyze - >AnalyzeParticles (рис. 8).

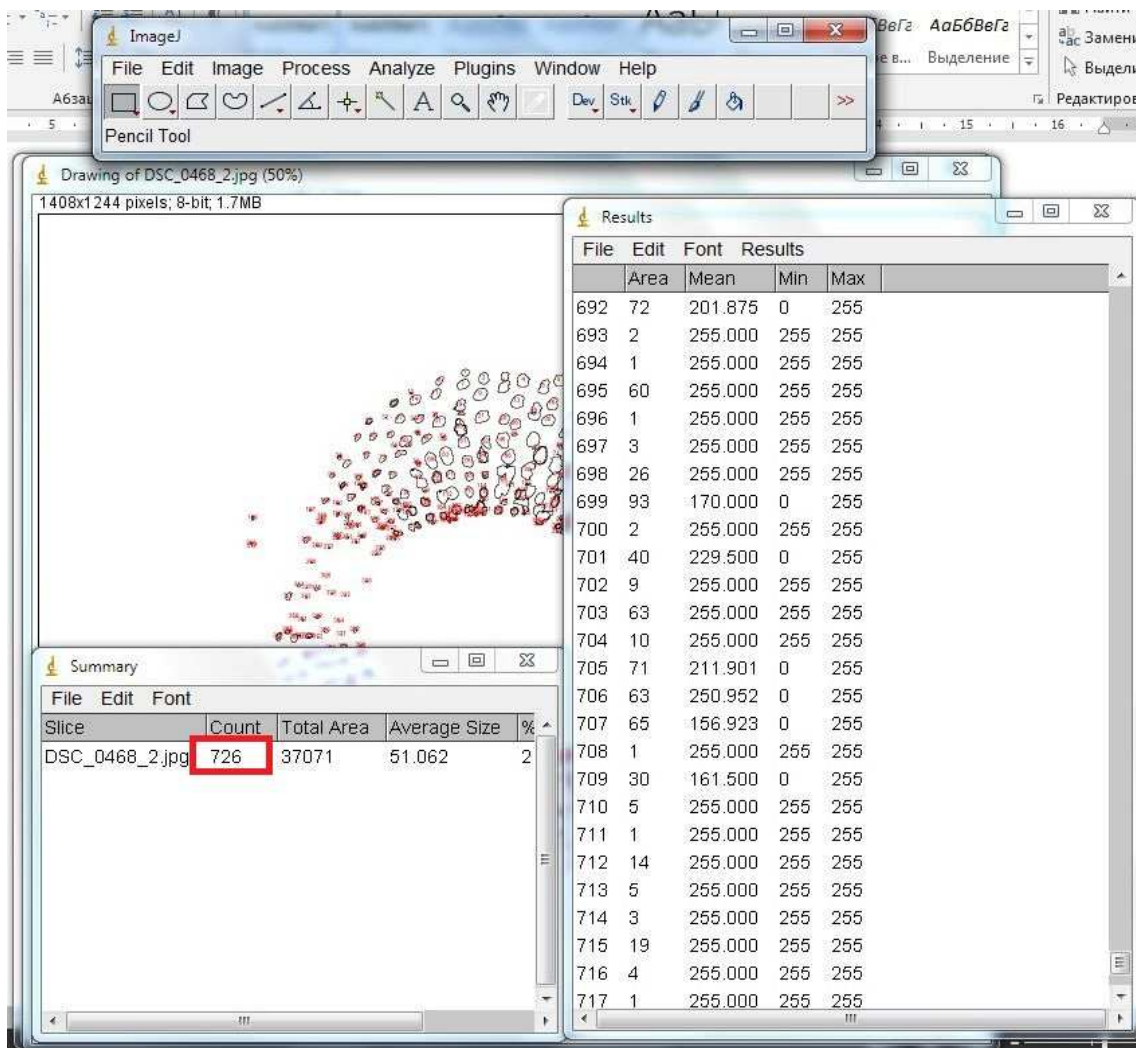


Рис. 8. Окончательный подсчет количества ситовидных трубок

Выводы. Предлагаемый нами способ определения процентного отношения тканей флоэмы, ксилемы и сердцевины к общему диаметру виноградного черенка и подсчет количества ситовидных трубок довольно прост в освоении. Кроме того, этот способ намного точнее и на порядок оперативнее ручного подсчета. Единственным слабым местом, которое может существенно повлиять на конечный результат, является качество обрабатываемых фотографий, но в этом случае все зависит от умения конкретного исследователя.

Несомненным достоинством предлагаемого нами методы является и то, что фотографии срезов можно анализировать в любое удобное для исследователя время, а также есть возможность независимой и непредвзятой их оценки другим исследователем.

Предлагаемый нами способ может в какой-то мере дополнить существующие методики классических гистохимических исследований.

Литература

1. Боровиков, Г.А. Анатомия и физиология прививки у виноградной лозы / Г.А. Боровиков.– Харьков: Держсшгоспвидав, 1935.– 80 с.
2. Мишуренко, А.Г. Виноградный питомник. 4-е изд., перераб. и доп. / А.Г.Мишуренко, М.М.Красюк.– М.: ВО "Агропромиздат", 1987.– 272 с.
3. Баранов, П.А. Строение виноградной лозы / П.А. Баранов // Ампелография СССР.– Т. 1.– М.: Гос. тех. и эконом. изд., Пищепромиздат, 1946. – 495 с.
4. Мельник, С.А. Производство виноградногопосадочного материала / С.А. Мельник. – Кишинев: Госиздат, 1940. – 140 с.
5. Кондо, И.Н. Покой почек и камбия виноградного растения / И.Н. Кондо // Тр. ВНИИВиВ «Магарач». – Кишинев, 1960. – Т.15. – С. 57-94.
6. Oprea D. Lucrari practice de viticultura. Bucuresti: Edit. Didacticasipedagogica, 1965. – 325 p.
7. Вакарь, Б.Г. Анатомио-гистохимическое исследование тканей виноградной лозы в связи с зимостойкостью / Б.Г. Вакарь. – Кишинев: Штиинца, 1987. – 170 с.
8. Николенко, В.Г. О подвойных черенках различной толщины / В.Г. Николенко, А.И. Николенко // Виноградарство и виноделие. – 1990. – Вып. 33.– С. 17-20.
9. Негру, П.В. Эколого-физиологические механизмы устойчивости винограда / П.В. Негру, Т.Н.Медведева, В.А. Кожокару, М.В.Михайлов. – Кишинев: Штинница, 1988. – 176 с.
10. Chnar Najmaddin, Comparative study on the anatomy and palynology of the three variety of *Vitisviniferavarity* (family Vitaceae) / Chnar Najmaddin, Khatijah Hussin, Haja Maideen // African Journal of Biotechnology, 2011. – Vol. 10(74), pp. 16866-16874.
11. Навроцкая, А.А. О связи анатомической структуры однолетних побегов винограда с плодоношением / А.А. Навроцкая // Пути увеличения производства винограда и продуктов переработки: Научн. тр. / Отв.ред. Н.А. Дудник. – Одесса: ОСХИ, 1984. – Вып. 28. – С. 3-10.
12. Ребров, А.Н. Анатомическое строение и накопление пластических веществ в виноградной лозе на песчаных почвах / А.Н. Ребров // Виноделие и виноградарство. – 2013. – №1. – С. 40-42.
13. Brendan Choat, Vascular Function in Grape Berries across Development and Its Relevance to Apparent Hydraulic Isolation / Brendan Choat, Greg A. Gambetta, Kenneth A. Shackel, and Mark A. Matthews // Plant Physiology, 2009 – Vol. 151, pp. 1677–1687.
14. Паламарчук, И.А. Учебное пособие по ботанической гистохимии / И.А. Паламарчук, Т.Д. Веселова.– Москва: МГУ, 1965.– 105 с.

15. Рябчун, О.П. О содержании углеводов и лигнина в побегах винограда при расчете на одну клетку / О.П. Рябчун // Физиология растений, 1965. – Т.12, вып. 3. – С. 479-487.

16. <http://avpsoft.ru>

17. <http://rsb.info.nih.gov/ij/download.html>

References

1. Borovikov, G.A. Anatomija i fiziologija privivki u vinogradnoj lozy / G.A. Borovikov.– Har'kov: Derzhssh'gospvidav, 1935.– 80 s.

2. Mishurenko, A.G. Vinogradnyj pitomnik. 4-e izd., pererab. i dop. / A.G.Mishurenko, M.M.Krasjuk.– M.: VO "Agropromizdat", 1987.– 272 s.

3. Baranov, P.A. Stroenie vinogradnoj lozy / P.A. Baranov // Ampelografija SSSR.– T. 1.– M.: Gos. teh. i jekonom. izd., Pishhepromizdat, 1946. – 495 s.

4. Mel'nik, S.A. Proizvodstvo vinogradnogoposadochnogo materiala / S.A. Mel'nik. – Kishinev: Gosizdat, 1940. – 140 s.

5. Kondo, I.N. Pokoj pochek i kambija vinogradnogo rastenija / I.N.Kondo // Tr. VNIIViV «Magarach». – Kishinev, 1960. – T.15. – S. 57-94.

6. Oprea D. Lucrari practice de viticultura. Bucuresti: Edit. Didacticasipedagogica, 1965. – 325 p.

7. Vakar', B.G. Anatomico-gistohimicheskoe issledovanietkanej vinogradnoj lo-zy v svjazi s zimostojkost'ju / B.G. Vakar'. – Kishinev: Shtiinca, 1987. – 170 s.

8. Nikolenko, V.G. O podvojnyh cherenkah razlichnoj tolshhiny / V.G. Nikolenko, A.I. Nikolenko // Vinogradarstvo i vinodelie. – 1990. – Vyp. 33.– S. 17-20.

9. Negru, P.V. Jekologo-fiziologicheskie mehanizmy ustojchivosti vinograda / P.V. Negru, T.N.Medvedeva, V.A. Kozhokaru, M.V.Mihajlov. – Kishinev: Shtinica, 1988. – 176 s.

10. Chnar Najmaddin, Comparative study on the anatomy and palynology of the three variety of Vitisviniferavarity (family Vitaceae) / Chnar Najmaddin, Khatijah Hussin, Haja Maideen // African Journal of Biotechnology, 2011. – Vol. 10(74), pp. 16866-16874.

11. Navrockaja, A.A. O svjazi anatomicheskoy struktury odnoletnih pobegov vinograda s plodonosheniem / A.A. Navrockaja // Puti uvelichenija proizvodstva vinograda i produktov pe-rerabotki: Nauchn. tr. / Otv.red. N.A. Dudnik. – Odessa: OSHI, 1984. – Vyp. 28. – S. 3-10.

12. Rebrov, A.N. Anatomicheskoe stroenie i nakoplenie plasticheskikh veshhestv v vinogradnoj loze na peschanyh pochvah / A.N. Rebrov // Vinodelie i vinogradarstvo. – 2013. – №1. – S. 40-42.

13. Brendan Choat, Vascular Function in Grape Berries across Development and Its Relevance to Apparent Hydraulic Isolation / Brendan Choat, Greg A. Gambetta, Kenneth A. Shackel, and Mark A. Matthews // Plant Physiology, 2009 - Vol. 151, pp. 1677–1687

14. Palamarchuk, I.A. Uchebnoe posobie po botanicheskoy gistohimii / I.A. Palamarchuk, T.D. Veselova.– Moskva: MGU, 1965.– 105 s.

15. Rjabchun, O.P. O soderzhanii uglevodov i lignina v pobegah vinograda pri raschete na odnu kletku / O.P. Rjabchun // Fiziologija rastenij, 1965. – T.12, vyp. 3. – S. 479-487.

16. <http://avpsoft.ru>

17. <http://rsb.info.nih.gov/ij/download.html>