

ОПТИМИЗАЦИЯ ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ ПРИ РАЗМНОЖЕНИИ НОВЫХ СОРТОВ ВИНОГРАДА *IN VITRO*

М.С. Батукаев^{1,2}, М.Г. Шишхаева², А.А. Батукаев^{1,2}

¹Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Чеченский государственный университет», Грозный, Россия

²Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Чеченский научно-исследовательский институт сельского хозяйства», Грозный, Россия, batukaevmalik@mail.ru

Аннотация. Основная цель исследований заключалась в совершенствовании технологий клонального микроразмножения с использованием регуляторов роста. В эксперимент были включены следующие сорта: Августин, Молдова, Восторг, Мускат итальянский, Ранний Магарача, Подарок Магарача, Виорика. В качестве регуляторов роста в питательную среду добавляли ауксины и цитокинины в различных концентрациях и сочетаниях. Проведенные эксперименты показали, что регенерация побегов из изолированных апексов происходила при всех концентрациях 6-БАП, кроме добавки препарата в количестве 5,0 мг/л, когда верхушки сразу начинали чернеть и гибли. Эффективное влияние 6-БАП оказал в диапазоне концентрации 0,5...1,0 мг/л. Тем не менее, следует отметить наибольший прирост микропобегов, который был зафиксирован в варианте с концентрацией 1,0 мг/л. Для ускорения процесса удлинения микропобегов параллельно проводили изучение действия гибберелловой кислоты в различных концентрациях в сочетании 6-БАП. Как показал опыт, при сочетании 0,5 мг/л 6-БАП+1,0 мг/л ГК был достигнут наилучший результат.

Ключевые слова: виноград, сорта, питательная среда, регуляторы роста, *in vitro*

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-1176-1179

Введение. Современное виноградарство России должно базироваться на производстве сертифицированного посадочного материала. Производство посадочного материала высших категорий в РФ отсутствует [Батукаев, 1988].

Современная технология производства оздоровленного посадочного материала в качестве составной части включает биотехнологические приемы, комплексное оздоровление с использованием культуры изолированных апексов, ускоренное размножение оздоровленных экземпляров на искусственных питательных средах и создание коллекций оздоровленных форм *in vitro* [Бургутин и др., 1983; Высоцкий, 2011]. Наиболее иллюстративным примером реализации потенциала растений (или их отдельных тканей и органов) с помощью биотехнологических приемов может стать клональное микроразмножение, при котором реальные коэффициенты размножения в сотни и даже тысячи раз выше, чем при любом из традиционных приемов [Батукаев, 1988; Дорошенко, 1997].

Результаты исследований. Одним из важнейших и неотъемлемых компонентов питательной среды являются регуляторы роста [Garre et al., 1979; Гамбург и др., 1990; Кулаева, 1973]. Их тщательный подбор и выявление оптимальных концентраций позволяют повысить эффективность метода клонального микроразмножения винограда.

Проведенные эксперименты показали, что регенерация побегов из изолированных апексов происходила при всех концентрациях 6-БАП, кроме добавки препарата в количестве 5,0 мг/л, когда верхушки сразу начинали чернеть и гибли. Микропобеги, выращиваемые на среде с концентрацией 0,1 мг/л 6-БАП, развивались очень медленно. Вероятно, это связано с тем, что такие низкие концентрации препарата слабо стимулируют процессы органогенеза растений.

Эффективное влияние 6-БАП оказал в диапазоне концентрации 0,5...1,0 мг/л. Тем не менее, следует отметить наибольший прирост микропобегов, который был зафиксирован в варианте с концентрацией 1,0 мг/л. Минимальная длина микропобега наблюдалась в вариантах с концентрациями 0,1, а при концентрации 5,0 мг/л вообще подавлялось развитие побега. Это свидетельствует о том, что низкая концентрация недостаточна для роста и развития микропобега, а во втором случае, наоборот, – высокая концентрация препарата ингибирует развитие микропобегов.

Для ускорения процесса удлинения микропобегов параллельно проводили изучение действия гибберелловой кислоты в различных концентрациях в сочетании 6-БАП. Как показал опыт, при сочетании 0,5 мг/л 6-БАП + 1,0 мг/л ГК был достигнут наилучший результат. Такое сочетание препаратов ускоряло вытягивание стеблей у растений, и через две недели размер побегов достигал 25...26 мм. В других сочетаниях побеги намного уступали побегам, выращенным на среде с 6-БАП в концентрации 0,1 мг/л. Таким образом, проведенные нами эксперименты показали эффективное действие ГК (1,0 мг/л) и пониженной концентрации 6-БАП (0,5 мг/л) для удлинения побегов перед этапом укоренения.

Как известно, для стимуляции корнеобразования применяют ауксины. Учитывая это, нами был изучен характер действия регулятора роста ауксиновой природы с целью установления оптимальной концентрации использования препарата.

Вначале были испытаны на укоренение побегов *in vitro* различные концентрации ИМК. Через 15 дней после применения наибольшее число корней образовалось в варианте опыта при концентрации ИМК 2,0 мг/л. В дальнейшем корнеобразование продолжалось, и через 30 дней количество корней увеличилось. Параллельно начался интенсивный рост растений, удлинялись черешки листьев, разрасталась листовая пластинка, вытягивался стебель.

Спустя месяц число укоренившихся побегов ни при одной концентрации ИМК не увеличилось, продолжался только рост центральных и частично боковых корней.

Следует отметить, что к 30-му дню у многих растений при концентрации ИМК 5,0 мг/л наблюдалось почернение корней.

В последующем, с целью увеличения коэффициента размножения исследовали два варианта комбинаций регуляторов роста – 6-БАП с 2-иР и 6-БАП с кинетином. Контролем служила модифицированная среда Мурасиге-Скуга, дополненная 6-БАП в концентрации 0,5 мг/л и 1,0 мг/л. На экспериментальные среды высаживали одноглазковые микрочеренки винограда сортов Августин и Надежда АЗОС. Длительность культивирования составляла 4 недели, после чего определяли коэффициент размножения и среднюю длину побегов.

Присутствие 2иР в питательной среде оказывало отрицательное действие на образование дополнительных побегов у эксплантов винограда, снижая как коэффициент размножения, так и среднюю длину побегов. Так, при одинаковой концентрации 6-БАП, равной 0,5 мг/л, коэффициент размножения у эксплантов сорта Августин снизился от 2,5 до 1,9; у эксплантов сорта Надежда АЗОС - от 2,7 до 1,9. Еще в большей степени снижение коэффициента размножения наблюдали в вариантах с использованием комбинации 2-иР с 6-БАП в концентрации 1,0 мг/л.

Присутствие кинетина в питательной среде в комбинации с 6-БАП положительно влияло на развитие эксплантов. Так, на фоне концентрации 6-БАП 0,5 мг/л присутствие кинетина (0,5 мг/л) обеспечило максимальный коэффициент размножения для обоих сортов винограда 2,9 и некотором уменьшении средней длины побегов. В вариантах с концентрацией 6-БАП 1,0 мг/л присутствие кинетина не уменьшало коэффициент размножения побегов сорта Августин, по сравнению с вариантом без кинетина. При культивировании эксплантов сорта Надежда АЗОС отмечено некоторое уменьшение

коэффициента размножения на 11% (кинетин 0,25 мг/л) и 20% (кинетин 0,5 мг/л). Таким образом, для этапа микроразмножения винограда сортов Августин и Надежда АЗОС целесообразно совместное использование 6-БАП и кинетина в концентрации 0,5 мг/л каждого, что обеспечивает максимальный коэффициент размножения.

Выводы. Проведенные исследования показали возможность успешного размножения испытуемых сортов винограда методом культуры изолированных тканей и органов *in vitro*, что объясняется высокой потенциальной способностью винограда к вегетативному размножению вообще и к микроклональному, в частности.

Приживаемость апикальных меристем, из которых вырастает растение *in vitro* (10-12 см), дает возможность дальнейшего их культивирования и размножения (путем повторного черенкования), при котором возможно получение оздоровленного посадочного материала.

Из испытанных регуляторов роста наиболее результативно проходила регенерация побегов при концентрации 6-БАП 0,5...1,0 мг/л. При массовом размножении побегов оптимальной оказалась концентрация 6-БАП 2 мг/л.

Действие ГК в концентрации 1,0 мг/л в сочетании с 6-БАП 0,5 мг/л, ускоряло вытягивание стеблей у микрорастений *in vitro*.

Присутствие кинетина в питательной среде в комбинации с 6-БАП положительно влияло на развитие эксплантов. Так, на фоне концентрации 6-БАП 0,5 мг/л присутствие кинетина (0,5 мг/л) обеспечило максимальный коэффициент размножения для испытываемых сортов винограда.

Литература

Батукаев А.А. Совершенствование технологии ускоренного размножения и оздоровления посадочного материала винограда методом *in vitro*. – М.: изд-во МСХА, 1988. – 221 с.

Бургутин А.Б., Бутенко Р.Г., Катаева Н.В., Голодрига П.Я. Быстрое клональное размножение виноградного растения // С.-х. биология. – 1983. – № 7. – С. 48–50.

Высоцкий В.А. Биотехнологические приемы в современном садоводстве // Сборник научных работ ВСТИСиП РАСХН – Т. XXVI. – Москва, 2011. – С. 3–10.

Гамбург К.З., Рекославская Н.И., Швецов С.Г. Ауксины в культурах тканей и клеток растений. – Новосибирск: Наука, 1990. – 243 с.

Дорошенко Н.П. Повышение регенерационной способности меристем при получении безвирусного материала винограда // Виноград и вино России. – 1997. – № 2. – С. 6–9.

Кулаева О.Н. Цитокинины, их структура и функции. – М.: Наука, 1973. – 264 с.

Garre M., Martin-Tanguy J., Mussillon P. La cultur de meristemes et la multilpication Végetative *in vitro* au service de la pepiniere // Bulletin Petits Fruit. – 1979. – No. 14. – P. 7–65.

OPTIMIZATION OF THE NUTRIENT MEDIUM WHILE BINDING NEW VARIETY GRAPES *IN VITRO*

M.S. Batukaev^{1,2}, M.G. Shishkhaeva², A.A. Batukaev^{1,2}

¹The Chechen State University, Grozny, Russia, batukaevmalik@mail.ru

²Chechen research Institute of agricultural, Grozny, Russia

Abstract. The main objective aim of study was to improve the technology of clonal micropropagation using growth regulators. There were included in experiment the following varieties: Augustine, Moldova, Vostorg, Muscat Italian, Early Magaracha, Gift of Magaracha, Viorica. Auxins and cytokinins in various concentrations and combinations were added into the culture medium as growth regulators. The conducted experiments showed the shoots regeneration of isolated apices occurred at all concentrations of 6-BAP except additive formulation in an amount of 5.0 mg/l when the tops immediately began to blacken and died. Effective influence of 6-BAP concentrations was in the range of 0.5...1.0 mg/l. Nevertheless, the greatest increase of microshoots fixed in the embodiment with a concentration of 1.0 mg/l should be noted. To speed up the process of microshoots lengthening, the study of the gibberellic acid effect in different concentrations combined with 6-BAP was simultaneously conducted. The experience has shown that the combination of 0.5 mg/l 6-BAP+1.0 mg/l (GA) achieved the best result.

Keywords: *grape, varieties, culture media, growth regulators, in vitro*