

УДК 634.8: 581.177

**ВЫРАЩИВАНИЕ  
МЕРИКЛОНОВ ВИНОГРАДА  
В НЕСТЕРИЛЬНЫХ  
УСЛОВИЯХ**

Цаценко Нионила Николаевна  
канд. с.-х. наук  
старший научный сотрудник  
отдела биотехнологии

Браткова Любовь Гавриловна  
канд. биол. наук  
заведующая отделом биотехнологии  
e-mail: [bio26@yandex.ru](mailto:bio26@yandex.ru)

Малыхина Анна Николаевна  
канд. с.-х. наук  
старший научный сотрудник  
отдела биотехнологии

Машченко Марина Николаевна  
научный сотрудник  
отдела биотехнологии

*Федеральное государственное бюджетное  
научное учреждение «Ставропольский  
научно-исследовательский институт  
сельского хозяйства», Михайловск, Россия  
e-mail: [sniish@mail.ru](mailto:sniish@mail.ru)*

Критическим этапом для растений, выращенных биотехнологическими методами на питательных средах, является их адаптация к нестерильным условиям. Адаптация растений винограда, полученных методом *in vitro*, к естественным условиям окружающей среды имеет большое значение для их производственного освоения. Учитывая важность оздоровления *in vitro* различных сортов винограда, актуально изучение эффективных приемов адаптации оздоровленных растений к нестерильным условиям и выявление оптимальных сроков их доращивания перед высадкой в открытый грунт. Исследования проводились в 2014-2015 г.г. на базе отдела биотехнологии Ставропольского научно-

UDC 634.8: 581.177

**CULTIVATION  
OF GRAPES MERICLONES  
UNDER THE UNSTERILE  
CONDITIONS**

Tsatsenko Nionila  
Cand. Agr. Sci.  
Senior Research Associate  
of Biotechnology Dparment

Bratkova Lubov  
Cand. Biol. Sci.  
Head of Biotechnology Department  
e-mail: [bio26@yandex.ru](mailto:bio26@yandex.ru)

Malykhina Anna  
Cand. Agr. Sci.  
Senior Research Associate  
of Biotechnology Department

Mashchenko Marina  
Research Associate  
of Biotechnology Department

*Federal State Budgetary Scientific  
Institution «Stavropol Scientific-  
Research Institute of Agriculture»,  
Mikhailovsk, Russia  
e-mail: [sniish@mail.ru](mailto:sniish@mail.ru)*

The adaptation to non-sterile conditions is a critical stage for the plants grown using the biotechnological methods on nutrient mediums. The adaptation of the grapes got *in vitro* method to natural conditions of the environment is of great importance for their production cultivation. Considering the importance of sanitation *in vitro* of various grapes varieties, the studying of effective adaptation methods of healthy plants to non-sterile conditions and identification of optimal terms of their growing before planting in the open ground is actually. The research were conducted in 2014-2015 on the basis of department

исследовательского института сельского хозяйства, с учетом рекомендаций по оздоровлению и микроклональному размножению винограда. Объектами исследований были 10 столовых сортов винограда. В результате проведенных исследований отработаны условия и приемы, позволяющие значительно увеличить приживаемость оздоровленных растений винограда.

Показано, что высадка пробирочного материала в кубик с раствором индолилуксусной кислоты (0,2 мг/л) и предложенные приемы дальнейшего доращивания растений обеспечили высокий процент приживаемости и хороший прирост побегов растений винограда с мощной корневой системой. Анализ полученных данных показал высокую зависимость приживаемости от генотипа сорта. Особенно наглядно это проявилось у сортов Кодрянка и Монарх, где процент приживаемости составил 51,5 и 92,0 % при одинаковом сроке адаптации. Период выращивания оздоровленных растений винограда от меристемы до высадки в почву в среднем составил 334,1 дней. Приживаемость растений на керамзите в боксе – 100 %, после перезимовки также была отмечена 100 % приживаемость саженцев и их хорошее развитие.

*Ключевые слова:* ВИНОГРАД, МЕРИКЛОНЫ, НЕСТЕРИЛЬНЫЕ УСЛОВИЯ, АДАПТАЦИЯ, ПРИЖИВАЕМОСТЬ, ОЗДОРОВЛЕННЫЕ РАСТЕНИЯ

of biotechnology of the Stavropol Research Institute of Agriculture, taking into account the recommendations on sanitation and micro clone reproduction. 10 table grapes varieties were the objects of research. As a result of carried out research the conditions and techniques allowing to considerably increase in survival of the healthy grapes plants are elaborated. It is shown that planting of plant from test-tube to a cube with IAA solution (0,2 mg/l) and the offered techniques of further plants growing have provided the high survival percent and a good shoot growth of grapes plants with well developed root system. The analysis of the obtained data has shown the high dependence of survival on a genotype's variety. Especially it was visually shown for Kodryanka and Monarch grapes, where the percent of survival was 51,5 and 92,0% when the identical term of adaptation. The cultivation period of healthy grapes plants from a meristem to soil planting is an average 334,1 days. Survival of plants on claydite in the box is 100%, after the wintering is 100% survival of saplings and their good development also have been noted.

*Key words:* GRAPES, MERICLONES, UNSTERILE CONDITIONS, ADAPTATION, SURVIVAL, SANITATION PLANTS

**Введение.** В последние годы в Российской Федерации отмечена тенденция к стабилизации развития отрасли виноградарства. В соответствии с принятой программой биотехнология определена как приоритетная область развития экономики государства, главная роль которой заключается в определении перспективных направлений научных исследований в соответствии с первостепенными потребностями сельскохозяйственного про-

изводства. При этом важным аспектом является ориентирование прикладных разработок по насыщению рынка конкурентоспособной импортозамещающей биотехнологической продукцией сельского хозяйства.

Виноградарство является одной из самых привлекательных отраслей сельскохозяйственного производства. Важнейшее значение для дальнейшего устойчивого развития и повышения эффективности виноградарства в новых условиях рыночных отношений имеет интенсификация отрасли на основе использования новых научных разработок. В настоящее время ставятся задачи повышения валового сбора винограда, и в первую очередь, за счет роста урожайности. Актуальной проблемой для Ставропольского края является расширение ассортимента качественного сертифицированного посадочного материала винограда при снижении его себестоимости. Переход отрасли на производство сертифицированного посадочного материала, ориентированного на европейские стандарты, будет способствовать дальнейшему повышению долговечности и продуктивности насаждений.

В Ставропольском крае в 2015 году заложено 230 гектаров виноградников, а в 2016 году на поддержку отрасли были предусмотрены средства из федерального бюджета в объеме 77,6 млн. руб. и 25,1 млн. руб. – из краевого бюджета. В последнее время питомниководческие и фермерские хозяйства края стали проявлять значительный интерес к высококачественному посадочному материалу перспективных сортов винограда.

Одним из наиболее эффективных методов получения оздоровленного посадочного материала винограда является метод, основанный на введении в стерильную культуру верхушечных меристем. Дальнейшее выращивание меристем состоит из последовательных этапов культивирования и размножения путем микрочеренкования и получения полноценных пробирочных растений [1, 2, 3].

Для ускоренного производства востребованного посадочного материала эффективен метод микрклонального размножения *in vitro* [4-7], ко-

торый пока не имеет себе равного благодаря высокому коэффициенту размножения. Использование технологии микроклонального размножения позволяет сократить сроки внедрения новых сортов в производство, по сравнению с традиционными методами, в 4-5 раз, поскольку дает возможность круглый год выращивать растения в контролируемых условиях, в том числе те сорта, которые плохо укореняются обычным способом.

Микрочеренкование одиночного побега, полученного от введения в культуру меристемы, позволяет производить генетически стабильный материал без опасности повышения изменчивости и отклонения от сортовых признаков. Кроме того, закладка промышленных виноградников оздоровленным материалом дает возможность продлить продуктивную эксплуатацию таких насаждений и повысить урожайность на 30-40 %. Однако применение этого прогрессивного метода отстает от реальных потребностей виноградарства из-за отсутствия массового производства. Критическим этапом для растений, выращенных биотехнологическими методами на питательных средах, является их адаптация к нестерильным условиям. При этом иногда погибает более 50 % высаженных растений.

Адаптация растений винограда, полученных методом *in vitro*, к естественным условиям окружающей среды имеет большое значение для их производственного освоения.

Инновационные процессы питомниководства винограда, направленные на получение при помощи биотехнологий высококачественного посадочного материала, являются основой долговечности и рентабельности многолетних насаждений. Изучение способов выращивания и размножения оздоровленного посадочного материала актуально и имеет важное народно-хозяйственное значение [2].

Учитывая важность оздоровления *in vitro* различных сортов винограда, в отделе биотехнологии Ставропольского НИИСХ продолжают исследования в целях изучения более эффективных приемов адаптации оздо-

ровленных растений к нестерильным условиям и выявления оптимальных сроков их доращивания перед высадкой в открытый грунт.

**Объекты и методы исследований.** Исследования проводились в 2014-2015 г.г. на базе отдела биотехнологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Ставропольский научно-исследовательский институт сельского хозяйства» с учетом рекомендаций по оздоровлению и микроклональному размножению винограда [1, 2, 4]. Объектами исследований были 10 столовых сортов винограда. Пробирочные растения винограда переводились в нестерильные условия с использованием минераловатных кубиков «Белагро», световых установок (СУВР), боксов и открытого грунта. Опыты проводились с использованием общепринятых методик и методики, ранее модифицированной нами.

Для адаптации отбирали мериклоны, имеющие 6-7 междоузлий с хорошей корневой системой и открывали их на срок от 4-х до 17-ти дней. После адаптации в пробирках растения пересаживали *in vivo* в минераловатные кубики «Белагро». Дальнейшее их развитие проходило под световой установкой СУВР при температуре 20-27° С с освещенностью 6-8 тыс. лк. при 16 часовом световом периоде с увлажнителем. Через 22 дня, после появления корневой системы кубики с растениями выставляли на 35 дней для доращивания на керамзит во второй СУВР без увлажнителя, затем для дальнейшего их развития переносили в бокс с керамзитом и капельным поливом. Во время роста и развития мериклонов винограда проводились профилактические обработки химическими и биологическими средствами защиты с регуляторами роста и подкормкой минеральными удобрениями. Осенью кубики с растениями пересаживали в открытый грунт по уплотненной схеме посадки.

**Обсуждение результатов.** Важным моментом в технологии клонального микроразмножения является адаптация пробирочных растений к



нестерильным условиям. Это связано с отсутствием на листовых пластинках эпикутикулярного слоя воска и подверженности их к быстрому обезвоживанию. Для адаптации, как было сказано выше, отбирали растения, имеющие 6-7 междоузлий с хорошей корневой системой (рис. 1).

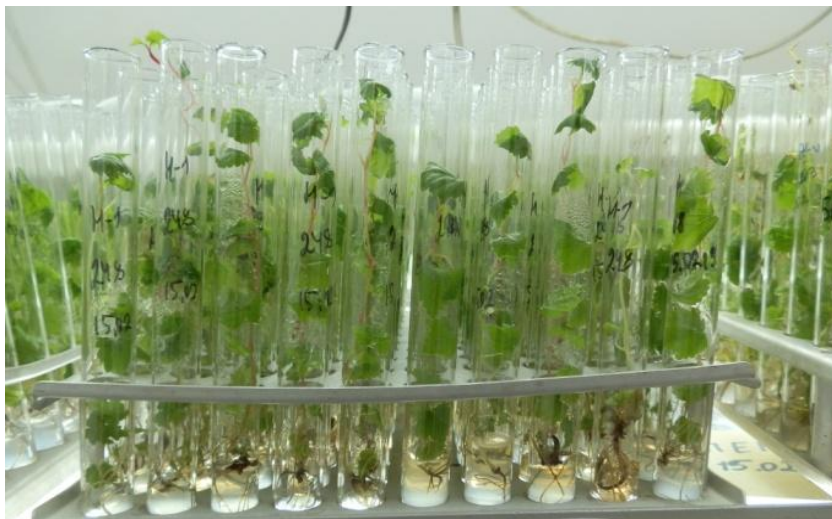


Рис. 1. Адаптация пробирочных растений

После адаптации растения были высажены в предварительно подготовленные минераловатные кубики по методике, предложенной нами ранее [8], и с замачиванием кубиков в растворе индолилуксусной кислоты (0,2 мг/л). Кубики выставлялись под СУВР с увлажнением (1 этап укоренения) (рис. 2).

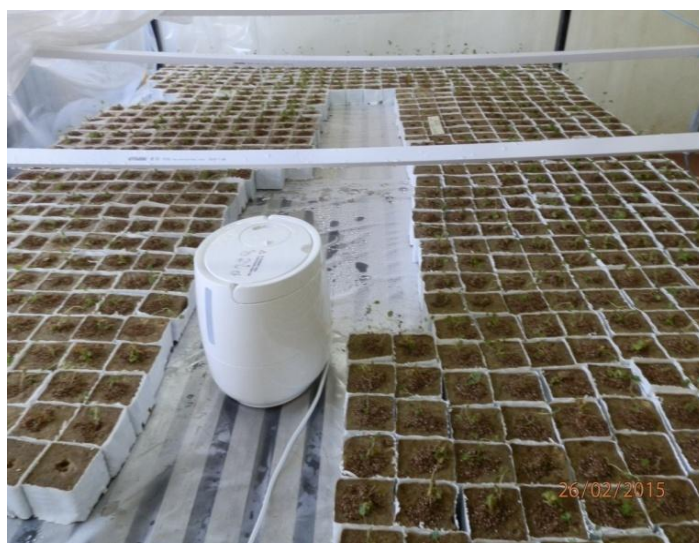


Рис. 2. Первый этап укоренения мериклонов винограда

Результаты наших исследований показали разную приживаемость сортов винограда в кубиках (табл. 1). На этом этапе растения развивались до появления первых корешков на кубике.

Таблица 1 – Приживаемость мериклонов винограда в минераловатных кубиках, 1 этап

Сорт	Адаптация, число дней	Посажено, шт.	Прижилось	
			шт.	%
Заграва	4	55	42	76.0
Виктор	5	161	108	67.0
Италия	5	255	170	66.0
Памяти Негруля	5	114	84	73.0
Кодрянка	8	99	51	51.5
Монарх	8	126	117	92.0
Преображение	10	230	131	56.0
Надежда АЗОС	14	872	654	75,0
Оригинал	17	120	58	48,3
Всего:		2032	1415	69,6

Анализ полученных данных показал высокую зависимость приживаемости растений винограда от генотипа сорта. Особенно наглядно это проявилось у сортов Кодрянка и Монарх, где процент приживаемости составил соответственно 51,5 и 92,0 % при одинаковом сроке адаптации.

С увеличением срока адаптации до 14 и 17 дней у сортов Надежда АЗОС и Оригинал процент приживаемости составил соответственно 75,0 и 48,3 %. Исследования, проведенные нами ранее на этих сортах с меньшим сроком адаптации, имели значительно лучшие показатели [8]. Результаты опытов показали, что адаптация пробирочных растений заканчивается на 7-9 день с появлением нового листа. Большой её срок приводит к перерастанию растений, что плохо сказывается на дальнейшем их укоренении в кубиках.

После появления корневой системы у растений в кубиках, а это происходило в среднем на 22-й день (табл. 2), их перенесли под второй СУВР

на керамзит (рис. 3) – 2 этап. Полив здесь осуществлялся по мере необходимости – чередованием водопроводной водой и раствором аминокислот ТЕРРА СОРБ фолиар (0,5 мл/л).



Рис. 3. Развитие мериклонов в кубиках через 22 дня после посадки

Во второй СУВРе, с целью исключения болезней и вредителей, проводили следующие профилактические обработки: инсектицид Актеллик 4 мл/2 л – опрыскивание растений через каждые 7-10 дней; Профит Голд – 1,5 г/3,5 л. воды, опрыскивание от болезней через каждые 12 дней.

Кроме того, использовали природный регулятор роста и стимулятор фотосинтеза Феровит – 1,5 мл/1 л воды – опрыскивание растений через каждые 15 дней, а также один раз в месяц проводили прикорневой полив растений винограда минеральными удобрениями: селитра калийная и аммиачная – 30 г/10 л воды.

Через 35 дней (14 мая) растения из второй СУВРы (рис. 4) перенесли на крупный керамзит в бокс под укрывной материал с капельным поливом.

Результатами наших наблюдений показано, что промежуточный этап доращивания на керамзите во второй СУВРе можно исключить. Необхо-



димость проведения этого этапа возникает при ранней (февраль-март) посадке пробирочных растений в кубик.



Рис. 4. Корневая система сорта Монарх после 2 этапа

Приживаемость растений, выставленных на керамзит в бокс, составила 100 %. Общий период выращивания оздоровленного растения винограда от меристемы до высадки его в почву в среднем составил  $\approx 334$  дня (табл. 2).

Таблица 2. – Длительность периода развития сортов винограда от меристемы до высадки в почву

Сорт	Число дней
Виктор	392
Заграва	300
Италия	418
Кодрянка	286
Монарх	332
Надежда АЗОС	342
Памяти Негруля	290
Преображение	299
Суперэкстра	388
Юбилей Новочеркаска	294
Среднее	334,1

Осенью (23.10.2015) растения винограда были высажены в почву в условия открытого грунта (рис. 5). Все растения имели мощные побеги и развитую корневую систему.



Рис. 5. Высадка кубиков в почву, осень 2015 г.

После перезимовки была отмечена – 100 % приживаемость саженцев винограда и их хорошее развитие (рис. 6).



Рис. 6. Вид саженцев после перезимовки, май 2016 г.

**Выводы.** В результате проведенных нами исследований, имеющих целью выявление оптимальных приемов и режимов адаптации пробирочных оздоровленных мериклонов винограда к нестерильным условиям среды возделывания, отработаны регламенты, позволяющие увеличить приживаемость оздоровленных растений.

Высадка пробирочного материала в кубик, предварительно напитанный раствором индолилуксусной кислоты (0,2 мг/л) и предложенные приемы дальнейшего доращивания растений (1 и 2 этапы) обеспечили высокую приживаемость и хороший прирост побегов растений с мощной корневой системой.

Анализ полученных данных показал высокую зависимость приживаемости виноградных растений от генотипа сорта. Особенно наглядно эта зависимость проявилась у сортов винограда Кодрянка и Монарх, где процент приживаемости мериклонов составил соответственно 51,5 и 92,0 % при одинаковом сроке адаптации растений.

Результаты исследования показали, что адаптация пробирочных растений винограда заканчивается на 7-9 день при появлении нового листа. Большой её срок приводит к перерастанию растений, что плохо сказывается на дальнейшем их укоренении в кубиках.

Установлено, что общий период выращивания оздоровленных растений винограда от меристемы до высадки в почву в нашем эксперименте в среднем составил  $\approx 334$  дня.

Наши наблюдения показали, что промежуточный этап доращивания мериклонов винограда на керамзите во второй СУВРе можно исключить.

Необходимость в этом этапе возникает при ранней (февраль-март) посадке пробирочных растений в кубик. Приживаемость растений винограда, выставленных на керамзит в бокс, составила 100 %. Кроме того, после периода перезимовки также была отмечена 100 % приживаемость саженцев и их хорошее развитие.

### Литература

1. Бутенко, Р.А. Культура изолированных тканей и физиология морфогенеза растений / Р.А. Бутенко – М.: Наука, 1964. – 272 с.
2. Медведева, Н.И. Методические рекомендации по микроклональному размножению винограда *in vitro* / Н.И. Медведева, Н.В. Поливар, Л.П. Трошин // Науч. журн. КубГау. – 2010.– № 65 (08) – С. 314-326.
3. Упадышев, М.Т. Вирусные болезни и современные методы оздоровления плодовых и ягодных культур: автореф. дис. ... д-ра с.-х. наук : 06.01.07 / Упадышев Михаил Тарьевич. – Москва, 2011. – 47 с.
4. Голодрига, П.Я. Методические рекомендации по клональному микроразмножению винограда / П.Я. Голодрига, В.А. Зленко, Л.А. Чекмарёв [и др] – Ялта, 1986. – 56 с.
5. Dodds T., Roberts L. Experiments in plant tissue culture. Cambridge: Cambridge Univ. press, 1985. 232 p.
6. Galzy B. Les possibilites de conservation *in vitro* d'une collection de vignes // Bull. O.I. V. 1985. Vol. 58, N 650/651. P. 377-390.
7. Dixon R. A. Plant cell culture: A practical approach. Oxford: IRL press, 1985. 236p.
8. Браткова, Л.Г. Приемы адаптации мериклонов винограда к условиям *in vivo* / Л.Г. Браткова, А.Н. Малыгина, Н.Н. Цаценко // Плодоводство и виноградарство Юга России. – 2015. – № 34 (04). – С. 14-29.

### References

1. Butenko, R.A. Kul'tura izolirovannyh tkanej i fiziologija morfogeneza rastenij / R.A. Butenko – M.: Nauka, 1964. – 272 s.
2. Medvedeva, N.I. Metodicheskie rekomendacii po mikroklonal'nomu razmnozheniju vinograda *in vitro* / N.I. Medvedeva, N.V. Polivara, L.P. Troshin // Nauch. zhurn. KubGau. – 2010. – № 65 (08) – S. 314-326.
3. Upadyshev, M.T. Virusnye bolezni i sovremennye metody ozdorovlenija plodovyh i jagodnyh kul'tur: avtoref. dis. ... d-ra s.-h. nauk : 06.01.07 / Upadyshev Mihail Tar'evich. – Moskva, 2011. – 47 s.
4. Golodriga, P.Ja. Metodicheskie rekomendacii po klonal'nomu mikrorazmnozheniju vinograda / P.Ja. Golodriga, V.A. Zlenko, L.A. Chekmarjov [i dr] – Jalta, 1986. – 56 s.
5. Dodds T., Roberts L. Experiments in plant tissue culture. Cambridge: Cambridge Univ. press, 1985. 232 p.
6. Galzy B. Les possibilites de conservation *in vitro* d'une collection de vignes // Bull. O.I. V. 1985. Vol. 58, N 650/651. P. 377-390.
7. Dixon R. A. Plant cell culture: A practical approach. Oxford: IRL press, 1985. 236p.
8. Bratkova, L.G. Priemy adaptacii meriklonov vinograda k uslovijam *in vivo* / L.G. Bratkova, A.N. Malyhina, N.N. Cacenko // Plodovodstvo i vinogradarstvo Juga Rossii. – 2015. – № 34 (04). – S. 14-29.