

УДК 634.8: 573.6

**ВЛИЯНИЕ САХАРОЗЫ  
НА ЗАМЕДЛЕНИЕ РОСТА  
И СОХРАНЕНИЕ РАСТЕНИЙ  
ВИНОГРАДА В КОЛЛЕКЦИИ  
*IN VITRO***

Дорошенко Наталья Петровна  
д-р с.-х. наук, профессор  
гл. научный сотрудник  
лаборатории биотехнологии

Куприкова Анастасия Сергеевна  
аспирант

Пузырнова Валентина Георгиевна  
аспирант

*Федеральное государственное  
бюджетное научное учреждение  
«Всероссийский научно-  
исследовательский институт  
виноградарства и виноделия  
имени Я.И. Потанина»,  
Новочеркасск, Россия  
e-mail: [ruswine@yandex.ru](mailto:ruswine@yandex.ru)*

Биотехнологические методы находят широкое применение в мире для долговременного сохранения коллекций растений, используемых в дальнейшем для селекционных целей, производства оздоровленного посадочного материала и для сохранения генофонда и биоразнообразия растений. Один из методических подходов к депонированию растений – содержание биологических объектов в условиях замедленного метаболизма. Известно, что в питательные среды для замедления роста и сохранения *in vitro* растительного материала добавляют различные органические вещества, обладающие высокой осмотической активностью. Исследователи отмечают, что повышенная концентрация сахарозы (4-5 %) в питательной среде задерживает рост клеток, не вызывая токсического эффекта, и поэтому может быть использована для поддержания культур в состоянии покоя в течение длительного

UDC 634.8: 573.6

**EFFECT OF SUCROSE  
ON RETARDATION OF GROWTH  
AND PRESERVATION  
OF GRAPE PLANTS  
IN THE COLLECTION *IN VITRO***

Doroshenko Nataliya  
Dr. Sci. Agr., Professor  
Chief Research Associate  
of Biotechnology laboratory

Kuprikova Anastasiya  
Post-graduate Student

Puzyrnova Valentina  
Post-graduate Student

*Federal State  
Budgetary Scientific  
Institution  
"All-Russian Research Institute  
of Viticulture and Winemaking  
named after Ya.I. Potapenko",  
Novocherkassk, Russia  
e-mail: [ruswine@yandex.ru](mailto:ruswine@yandex.ru)*

Biotechnological methods are used widely in the world for prolonged conservation of plants collections for further their use in the breeding and production of virus-free planting material and for conservation of gene pool and biodiversity of plants. One of the methodological approaches to the deposition of the plants is the maintenance of biological objects under the conditions of slow metabolism. It is known that in a nutrient medium, for the growth and preservation of plant material *in vitro*, the various organic substances having a high osmotic activity are added. The researchers note that increased concentration of sucrose (4-5%) in the nutrient medium inhibited the growth of cells without causing toxic effects, and therefore can be used to maintain cultures in a state of rest over a long period of time.

периода времени. Цель нашего исследования – выявить влияние концентраций сахарозы на ростовые процессы мериклонов винограда для продолжительного беспересадочного хранения растений в коллекции *in vitro*. При культивировании *in vitro* мы использовали концентрации сахарозы от 10 до 90 г/л и оценивали реакцию различных сортов винограда на повышенные концентрации. В нашем опыте осуществлено беспересадочное культивирование 12-ти сортов винограда в течение 9 месяцев при концентрации сахарозы 70 г/л при сохранившейся жизнеспособности растений. Доказано, что при уменьшении содержания сахарозы в питательной среде с 70,0 г/л до 60,0 г/л продолжительность депонирования различных сортов винограда увеличивается до 1 года. Проведенными исследованиями установлено замедление ростовых процессов и возможность увеличения продолжительности беспересадочного культивирования для создания коллекции винограда *in vitro*.

*Ключевые слова:* ВИНОГРАД, САХАРОЗА, КОНЦЕНТРАЦИЯ, КОЛЛЕКЦИЯ *IN VITRO*

The aim of our study was to identify the effect of sucrose concentrations the growth processes of grapes mericlones for prolonged storage of plants in the collection *in vitro*. When cultivated *in vitro*, we used the sucrose concentration from 10 to 90 g/l, and evaluated the reaction of different grapes varieties to higher concentrations. In our experiment we carried out the cultivation without replanting of 12 grapes varieties for 9 months at a sucrose concentration of 70 g/l while the plants were viable. It was proved that by reducing of sucrose content in the nutrient medium from 70,0 g/l to 60.0 g/l the duration of deposit of different grapes varieties elongated to 1 year. By carried out research we have been found the deceleration of growth processes and the possibility of elongation of cultivation without replanting to create a collection of grapes *in vitro*.

*Key words:* GRAPES, SUCROSE, CONCENTRATION, COLLECTION *IN VITRO*

**Введение.** Биотехнологические методы находят широкое применение во всём мире для долговременного сохранения коллекций растений, используемых в дальнейшем, как для селекционных целей, производства оздоровленного посадочного материала, так и для сохранения генофонда и биоразнообразия растений в целом.

Один из методических подходов к депонированию – содержание биологических объектов в условиях замедленного метаболизма. Среди биотехнологических методов одним из условий замедления роста является применение осмотиков. Осмотики – вещества, имитирующие для растения недостаток влаги. Действие водного стресса на растения выражается в снижении скорости ростовых процессов, угнетении фотосинтеза и дыха-

ния, снижается ферментативная активность, изменяется соотношение минеральных веществ в тканях растений [1].

Из различных публикаций известно, что в питательные среды для замедления роста и сохранения *in vitro* растительного материала добавляют различные органические вещества, обладающие высокой осмотической активностью: сахарозу, глюкозу, маннит [2, 3] или сорбит [4]. Сахароза относится к группе дисахаридов (входит в класс олигосахаридов). Ингибирующее действие сахарозы основано на изменении осмотического давления жидкости в сторону экзосмоса.

Ингибирующее действие сахаров апробировано при исследовании многих видов растений в культуре *in vitro*: картофеля [5, 6-8], льна [7], земляники [9], тополя [10], озимой мягкой пшеницы [11]. Начаты такие исследования в виноградарстве [12]. В целом исследователи отмечают, что повышенная концентрация сахарозы (4-5 %) в питательной среде задерживает рост клеток, не вызывая токсического эффекта, и поэтому она может быть использована для поддержания культур в состоянии покоя в течение длительного периода [12].

Цель исследований – выявить влияние концентраций сахарозы на ростовые процессы мериклонов винограда для продолжительного беспересадочного хранения растений в коллекции *in vitro*.

**Объекты и методы исследований.** Процесс оздоровления растений винограда перед постановкой на хранение осуществлялся методом культуры апикальных меристем при относительном размере эксплантов 0,1–0,2 мм. Для повышения регенерационной способности меристем при микроразмножении полученных растений применяли схему и технологию клонального микроразмножения, разработанную в лаборатории биотехнологии института [13].

Жизнеспособность растений оценивали с периодичностью один раз в месяц по количеству некрозов тканей листьев и побегов: 0 баллов — ви-

зуальная гибель растения, 1 балл – некроз более 50 % тканей растения, 2 балла – некроз менее 50 % тканей, 3 балла – растения без некроза.

**Обсуждение результатов.** Для поддержания культур в состоянии замедленного роста изучали концентрации сахарозы 10-90 г/л на сортах Кумшацкий, Крестовский, Сибирьковский, Варюшкин, Баклановский; а также реакцию различных сортов винограда (12) на содержание сахарозы в количестве 60-70 г/л в питательной среде.

Данные о состоянии пробирочных растений винограда сорта Крестовский в течение 3-х месяцев культивирования приведены в табл. 1. Следует отметить высокую приживаемость микрочеренков и сохранность растений в опыте. Только при максимальной концентрации сахарозы отмечено ухудшение развития микрочеренков. На протяжении всего периода культивирования оптимальное развитие растений происходило при концентрации сахарозы 30 г/л. При минимальной (10 г/л) и максимальной (60,0 г/л) концентрациях происходило ухудшение корнеобразования, уменьшение длины ризогенной зоны, скорости роста, снижение облиственности побегов. В целом, замедление ростовых процессов не было существенным; исходя из этого, часть растений перенесли в культуральную комнату с пониженной температурой для продления сроков беспересадочного хранения растений.

Растения, перенесенные в культуральную комнату с пониженной температурой, сохранялись в течение 6 месяцев (табл. 2). В вариантах с минимальными концентрациями сахарозы у сохранившихся растений жизнеспособность составляла 2 балла. При концентрации сахарозы 40 г/л для растений винограда характерна удовлетворительная жизнеспособность – 1,6 балла и вызревание побегов у единичных растений. При повышенных концентрациях сахарозы 50–60 г/л жизнеспособность и число сохранившихся растений снизилось, но зеленые листья ещё имелись, отмечено вызревание побегов.

Таблица 1 – Жизнеспособность пробирочных растений винограда при различных концентрациях сахарозы, сорт Крестовский, 2011–2012 гг.

Сахароза, г/л	Сохранность, %	Корни			Высота, см	Количество листьев, шт.	Скорость роста, см/день	Коэффициент. полярности
		число, шт	длина, см	ризогенная зона, см				
Учёт через 27 дней культивирования								
10,0	100	4,6	1,8	8,3	1,9	2,5	0,08	4,4
20,0	96,4	4,1	2,2	9,0	1,8	2,3	0,07	5,0
30,0	100	<b>4,8</b>	2,6	<b>11,0</b>	2,2	2,5	0,09	5,0
40,0	96,4	4,0	<b>2,8</b>	<b>11,2</b>	1,8	2,3	0,07	6,2
50,0	96,4	4,0	<b>2,9</b>	<b>11,2</b>	2,2	2,3	0,09	5,1
60,0	82,1	3,7	<b>3,0</b>	<b>11,1</b>	1,8	2,2	0,07	6,2
Учёт через 48 дней культивирования								
10,0	100	<b>5,0</b>	2,8	14,0	4,0	5,6	0,09	3,5
20,0	96,4	4,9	2,9	14,2	4,0	5,7	0,09	3,6
30,0	100	4,9	3,7	18,1	<b>5,0</b>	<b>6,8</b>	0,1	3,6
40,0	96,4	4,7	4,0	<b>18,8</b>	4,6	6,4	0,1	4,1
50,0	96,4	4,6	3,8	17,5	4,8	6,3	0,1	3,6
60,0	82,1	4,4	<b>4,1</b>	18,0	4,7	6,4	0,1	3,8
Учёт через 67 дней культивирования								
10,0	100	5,1	3,0	15,3	6,2	8,5	0,09	2,5
20,0	96,4	<b>5,5</b>	3,3	18,2	6,2	8,7	0,09	2,9
30,0	<b>100</b>	5,1	4,3	21,9	7,6	<b>10,0</b>	0,11	2,9
40,0	96,4	5,3	4,4	<b>23,3</b>	7,4	9,5	0,11	3,1
50,0	96,4	5,1	4,3	21,9	<b>7,8</b>	9,4	0,12	2,8
60,0	82,1	4,5	<b>4,8</b>	21,6	7,2	9,3	0,11	3,0
Учёт через 84 дня культивирования								
10,0	96,4	<b>5,3</b>	2,2	11,7	8,4	10,3	0,11	1,4
20,0	96,4	4,1	3,1	13,0	8,4	10,6	0,11	1,5
30,0	<b>100</b>	4,4	<b>4,3</b>	<b>18,9</b>	9,8	<b>12,0</b>	0,12	<b>1,9</b>
40,0	92,8	4,2	3,6	15,8	9,4	11,8	0,12	1,7
50,0	92,8	4,0	3,8	15,2	10,0	11,7	0,13	1,5
60,0	78,6	3,7	4,1	15,6	8,7	11,4	0,11	1,8

Таблица 2 – Состояние растений после хранения в течение 6 месяцев в культуральной комнате с пониженной температурой, сорт винограда Крестовский, 2011-2012 гг.

Сахароза, г/л	Сохранилось, шт/%	Высота, см	Листья, шт			Жизнеспособность	Стебель, шт		
			зеленые	желтые	сухие		зеленый	сухой	вызревший
10	3/100,0	14,0	14,6	3,4	-	2,0	3	-	-
20	3/100,0	15,3	20,3	-	1,6	2,0	3	-	-
30	2/66,7	10,3	4,0	-	5,5	1,0	1	1	-
40	6/100,0	14,5	9,4	5,3	6,0	1,6	1	2	3
50	3/50,0	10,0	5,3	-	8,0	1,0	-	1	2
60	6/66,6	9,8	3,6	-	11,5	1,0	1	3	2

Нахождение растений в течение 3-х месяцев при температуре 25-27 °С на питательной среде с повышенным содержанием сахарозы с последующим переносом в условия пониженной температуры обеспечило их сохранность без снижения жизнеспособности в течение 9 месяцев. В удовлетворительном состоянии сохранились единичные растения, их культивирование продолжалось. Аналогичные результаты получены в опытах по изучению повышенных концентраций сахарозы (4-6 %) на сортах винограда Сибирьковский и Баклановский.

При постановке опыта на сорте Варюшкин в изучение включили более высокие концентрации сахарозы: 50, 60, 70, 80, 90 г/л.

Из анализа данных, приведенных в табл. 3, следует, что оптимальное развитие растений происходит при содержании сахарозы в питательной среде – 10,0 г/л. При повышенных концентрациях сахарозы наблюдалось снижение сохранности растений и интенсивности ростовых процессов. Снижение скорости роста растений и интенсивности ростовых процессов являются в данной ситуации положительным явлением, так как обеспечивают минимизацию роста для депонирования растений в коллекции.

Таблица 3 – Жизнеспособность пробирочных растений винограда при различных концентрациях сахарозы, сорт Варюшкин, 2012–2013 гг.

Сахароза, г/л	Сохранность, %	Корни			Высота, см	Листьев, шт.	Скорость роста, см/сутки	Коэффициент полярности
		число, шт.	длина, см	ризогенная зона, см				
Учёт через 30 дней культивирования								
10,0	100,0	5,7	3,3	<b>19,2</b>	<b>3,6</b>	<b>2,3</b>	<b>0,12</b>	5,3
50,0	100,0	4,9	3,5	17,1	2,6	1,8	0,09	6,5
60,0	96,5	4,5	3,1	14,1	2,1	1,5	0,07	6,9
70,0	100,0	4,1	3,0	12,3	2,4	1,3	0,09	5,1
80,0	96,5	3,0	2,7	8,1	2,0	1,3	0,07	4,0
90,0	100,0	3,2	2,0	6,5	1,8	2,0	0,06	4,0
Учёт через 60 дней культивирования								
10,0	<b>100,0</b>	<b>5,5</b>	3,4	<b>18,7</b>	<b>7,0</b>	<b>4,7</b>	<b>0,11</b>	2,7
50,0	82,2	4,8	3,9	<b>18,8</b>	4,7	4,5	0,08	4,1
60,0	92,9	4,7	3,8	18,0	4,3	3,5	0,07	4,2
70,0	89,3	4,2	3,9	16,4	4,1	3,5	0,06	4,0
80,0	71,6	3,0	3,5	11,0	2,9	2,5	0,05	3,8
90,0	71,4	3,5	2,5	9,0	2,9	2,3	0,05	3,1
Учёт через 90 дней культивирования								
10,0	<b>100,0</b>	<b>5,8</b>	3,6	20,8	<b>10,5</b>	<b>6,6</b>	0,11	2,0
50,0	82,1	5,2	4,5	22,8	7,2	6,5	0,08	3,1
60,0	67,9	5,0	4,4	21,5	6,6	6,2	0,07	3,3
70,0	85,7	5,0	4,9	24,5	6,3	5,8	0,07	3,8
80,0	39,3	5,0	4,8	24,0	4,7	4,2	0,05	5,1
90,0	25,0	5,4	4,1	21,8	3,8	3,4	0,04	5,7

Наблюдения за состоянием растений в коллекции (табл. 4) показали, что при хранении в течение 214 дней происходит высыхание растений, уменьшение у сохранившихся растений числа зеленых, пожелтевших и увеличение числа сухих листьев, снижается жизнеспособность растений.

При повышенных концентрациях сахарозы снижение интенсивности ростовых процессов проявляется наиболее четко и выражается в первую очередь в замедлении роста растений. При культивировании в течение

260 дней этот процесс усугубляется и наблюдается высыхание растений и снижение их жизнеспособности при концентрациях сахарозы выше 70,0 г/л. Следует отметить, что в этом опыте произошло вызревание растений. При концентрации 50 г/л вызрело – 15 растений, при концентрации 60 г/л – 3 растения, 70 г/л – 6 растений и 90 г/л – 1 растение.

Таблица 4 – Показатели жизнеспособности растений при беспересадочном культивировании на питательной среде с различными концентрациями сахарозы, сорт винограда Варюшкин, 2013 г.

Сахароза, г/л	Сохранилось, шт./%	Высота растений, см	Листьев, шт			Жизнеспособность, баллы
			зеленых	пожелтевших	сухих	
Культивирование в течение 214 дней (07. 11. 13 г.)						
10,0	<b>26/92,8</b>	<b>15,9</b>	<b>7,8</b>	2,7	3,4	<b>1,8</b>
50,0	<b>20/71,4</b>	11,3	5,9	<b>2,9</b>	4,0	<b>1,8</b>
60,0	12/42,8	11,0	<b>7,7</b>	<b>3,0</b>	2,5	<b>1,8</b>
70,0	11/39,2	10,0	5,6	2,5	<b>5,3</b>	1,5
80,0	8/28,5	5,0	3,1	2,0	<b>4,5</b>	1,4
90,0	2/7,1	5,5	3,0	2,5	<b>5,0</b>	1,4
Культивирование в течение 260 дней (23. 12. 13 г.)						
10,0	26/ <b>92,8</b>	-	3,5	<b>6,0</b>	4,4	1,0
50,0	19/67,8	-	<b>4,5</b>	3,8	4,5	<b>1,1</b>
60,0	12/42,8	-	<b>4,1</b>	5,0	4,1	<b>1,2</b>
70,0	8/28,5	-	<b>4,0</b>	4,8	<b>4,6</b>	<b>1,2</b>
80,0	6/21,0	-	2,1	2,3	<b>4,9</b>	1,0
90,0	2/7,1	-	2,0	3,0	<b>5,5</b>	1,0

Продолжительность хранения сорта Варюшкин на питательной среде с различным содержанием сахарозы составила 11 месяцев. Наибольшее число растений сохранилось при содержании сахарозы 10 г/л – 13 шт., по 7 растений сохранилось при концентрациях 50 и 60 г/л, единичные растения сохранились при высоких концентрациях сахарозы – 70-90 г/л.



При введении в состав питательной среды сахарозы в количестве 70 г/л установлена возможность беспересадочного культивирования растений сортов винограда Косоротовский, Кукановский, Сибирьковский, Цимлянский черный (клон 2-3) и Рупестрис дю Ло в течение 9 месяцев. При этом происходит их вызревание и на хранении ещё остаются жизнеспособные растения.

Исследована возможность депонирования целого ряда сортов при концентрации сахарозы 60,0 г/л. Полученные нами результаты отражены в табл. 5. Возраст растений, отобранных для закладки опыта, составлял 6 месяцев. Состояние растений сортов Каберне Совиньон, Виерул 13, Сибирьковский оценивалось как хорошее. Растения имели зеленые листья и побеги. Образцы сортов винограда Красностоп золотовский, Кумшацкий, Рупестрис дю Ло были слегка подсохшими и их состояние можно оценить как удовлетворительное.

При культивировании в течение 90 дней отмечено отставание ростовых процессов у сорта Рупестрис дю Ло, выделялся по интенсивности роста сорт Сибирьковский. Остальные сорта отличались умеренным развитием. У всех сортов отмечен высокий коэффициент полярности, что указывает на преимущественное развитие корневой системы растений по сравнению с развитием побегов.

Депонирование продолжалось в течение одного года (360 дней). При хранении сохранилось 12 (42,8 %) растений винограда сорта Виерул 3; 10 (35,7 %) растений сорта Кумшацкий, по 7 (25,0 %) растений сортов Каберне Совиньон и Рупестрис дю Ло; 4 растения (14,0 %) сорта Красностоп золотовский и 2 растения (7,1 %) сорта Сибирьковский. У всех сортов отмечено вызревание побегов.

Таким образом, было установлено, что при уменьшении содержания сахарозы в питательной среде с 70,0 г/л до 60,0 г/л продолжительность депонирования увеличивается.

Таблица 5 – Реакция отдельных сортов винограда на повышенное содержание сахара в питательной среде (60 г/л), 2013–2014 гг.

Сорт	Приживаемость, %	Корни			Высота, см	Листьев, шт	Скорость роста, см/сут.	Коэффициент. полярности
		число, шт.	длина, см	ризогенная зона, см				
Учет через 35 дней культивирования								
Красностоп золотовский	<b>92,9</b>	2,7	4,9	13,2	2,8	3,0	0,08	4,7
Каберне Совиньон	85,7	<b>3,4</b>	3,7	12,6	3,3	2,4	0,10	3,8
Кумшацкий	85,7	2,5	<b>6,1</b>	<b>15,2</b>	2,7	2,5	0,08	<b>5,6</b>
Сибирьковский	71,4	3,1	5,2	<b>16,1</b>	<b>3,8</b>	<b>3,3</b>	<b>0,11</b>	4,2
Виерул	<b>96,4</b>	2,7	4,3	11,6	2,4	2,3	0,07	4,8
Рупестрис дю Ло	82,1	2,2	3,6	7,9	2,6	2,6	0,07	3,0
Учет через 70 дней культивирования								
Красностоп золотовский	85,7	3,0	7,0	21,0	<b>7,3</b>	5,2	0,10	2,9
Каберне Совиньон	82,1	<b>4,2</b>	5,4	22,7	6,9	4,9	0,10	3,3
Кумшацкий	85,7	2,8	<b>7,8</b>	21,8	7,0	5,3	0,10	3,1
Сибирьковский	71,4	3,0	7,6	<b>22,8</b>	7,1	<b>6,1</b>	0,10	3,2
Виерул	<b>89,3</b>	3,1	7,0	21,7	4,4	3,5	0,06	4,9
Рупестрис дю Ло	75,0	2,7	7,3	19,7	4,2	3,7	0,06	4,7
Учет через 90 дней культивирования								
Красностоп золотовский	85,7	2,8	6,4	17,9	<b>10,1</b>	6,3	0,11	1,8
Каберне Совиньон	82,1	<b>4,6</b>	5,0	23,0	9,8	6,4	0,11	2,3
Кумшацкий	85,7	2,6	<b>7,6</b>	19,8	8,7	6,8	0,10	2,3
Сибирьковский	71,4	3,0	<b>7,4</b>	<b>22,2</b>	9,1	<b>8,2</b>	0,10	2,4
Виерул 13	<b>89,3</b>	2,9	6,6	19,1	7,0	5,0	0,07	2,7
Рупестрис дю Ло	75,0	2,3	6,9	15,9	5,2	3,7	0,06	3,0

Проведено дополнительное исследование реакции некоторых сортов на повышенное содержание сахарозы (табл. 6). Следует отметить, что при культивировании в течение первых двух месяцев отсутствовало угнетение растений. Менее интенсивные ростовые процессы наблюдались у сортов Мерло и Баклановский, более интенсивные у сорта Пино Фран.

Таблица 6 – Реакция некоторых сортов винограда на повышенное содержание сахарозы в питательной среде (60 г/л), 2013–2014 гг.

Сорт	Сохранилось, %	Корни			Высота, см	Листьев, шт	Скорость роста, см/сутки	Коэффициент полярности
		число, шт.	длина, см	ризогенная зона, см				
Учет через 35 дней культивирования								
Баклановский	100,0	2,4	4,8	11,5	2,4	2,4	0,08	4,8
Сыпун черный	100,0	4,6	4,5	20,7	2,9	2,8	0,10	7,1
Цимлянский черный (2-3)	100,0	3,9	4,9	19,1	2,8	2,6	0,09	6,8
Цимладар	100,0	<b>4,9</b>	<b>5,2</b>	<b>25,5</b>	2,9	3,1	0,10	<b>8,8</b>
Мерло	100,0	2,4	2,7	6,5	2,5	2,3	0,08	2,6
Пинофран	100,0	<b>5,2</b>	<b>5,6</b>	<b>29,1</b>	<b>3,6</b>	<b>3,5</b>	<b>0,12</b>	8,1
Учет через 60 дней культивирования								
Баклановский	75,0	2,9	<b>8,1</b>	23,5	5,4	5,1	0,09	4,4
Сыпун черный	<b>96,4</b>	5,1	6,5	33,1	7,8	7,1	0,13	4,3
Цимлянский черный (2-3)	82,1	4,3	7,5	32,3	7,3	6,0	0,12	4,4
Цимладар	71,4	<b>5,7</b>	7,6	<b>43,3</b>	7,6	6,6	0,13	<b>5,7</b>
Мерло	60,7	3,0	5,7	17,1	7,7	5,9	0,13	2,2
Пинофран	<b>92,9</b>	<b>5,7</b>	6,8	38,8	<b>8,4</b>	<b>7,1</b>	<b>0,14</b>	4,6

Депонирование в течение 270 дней показало более высокую адаптивность к таким условиям хранения у сортов Сыпун черный, клон Цимлянского черного (2-3), Кумшацкий. В коллекции за это время сохранилось

67,8 % растений сорта Сыпун черный, коэффициент жизнеспособности которого составил 0,8; сохранность клона Цимлянского черного (2–3) и сорта Кумшацкий составила 42,8 %, коэффициент жизнеспособности – 0,7-0,8. Низкая сохранность (21,8 %) и жизнеспособность растений (0,4) отмечена у сортов Цимладар и Баклановский. Полностью погибли в процессе хранения растения сорта Пино фран.

Таким образом, для большинства исследуемых сортов доказана возможность беспересадочного хранения растений до 90 и даже 270 дней на питательной среде с содержанием сахарозы 60,0 г/л.

В дополнение к оптимальной концентрации, применяемой в биотехнологии при приготовлении питательных сред, мы включили в изучение уже испытанные нами более высокие концентрации и впервые минимальные концентрации 5,0 и 10,0 г/л (табл. 7).

Как следует из приведенных данных, растения «ин витро» лучше развиваются при концентрации сахарозы 20,0 и 30,0 г/л. Преимущество указанных концентраций видно уже через месяц культивирования и сохранилось при культивировании в течение 60 дней.

В этих вариантах растения, как видно из данных первого учета, образовали большую ризогенную зону, имели более высокий рост и облиственность. При пониженных и повышенных концентрациях отмечено снижение ростовых процессов, что представляет интерес для более продолжительного беспересадочного культивирования.

Однако при культивировании в течение 60 дней положение изменилось. При концентрациях 5,0 и 10 г/л у растений отставало развитие ризогенной зоны, но улучшился рост и облиственность побегов. При концентрациях сахарозы в составе питательной среды 40,0 и 60,0 г/л развитие ризогенной зоны и надземной части не отличалось от растений оптимальных концентраций.

Таблица 7– Изучение различных концентраций сахарозы при культивировании винограда *in vitro*, сорт Пухляковский, 2015–2016 гг.

Концентрация г/л	Приживаемость, %	Корни			Высота, см	Листьев, шт.	Скорость роста, см/сутки	Коэффициент по- лярности
		число, шт.	длина, см	ризогенная зона, см				
Учет через 30 дней культивирования								
5	100,0	3,2	2,3	7,4	2,7	2,8	0,09	2,7
10	96,4	2,7	2,3	6,2	2,6	2,3	0,09	2,4
<b>20</b>	<b>100,0</b>	<b>3,0</b>	<b>3,8</b>	<b>11,4</b>	<b>2,7</b>	<b>2,7</b>	<b>0,09</b>	<b>4,2</b>
30	100	3,3	3,5	<b>11,5</b>	<b>3,0</b>	<b>3,1</b>	0,10	3,9
40	100	3,3	3,3	10,9	2,5	2,4	0,08	4,4
60	100	2,8	3,6	10,1	2,1	2,6	0,07	4,8
Учет через 60 дней культивирования								
5	92,9	3,6	3,1	11,2	6,8	7,7	0,11	1,6
10	92,9	3,2	4,1	13,1	7,5	7,0	0,12	1,7
<b>20</b>	<b>96,4</b>	<b>2,9</b>	<b>6,8</b>	<b>19,7</b>	<b>5,8</b>	<b>6,4</b>	<b>0,09</b>	<b>3,4</b>
<b>30</b>	<b>100</b>	<b>3,4</b>	<b>6,5</b>	<b>22,1</b>	<b>5,8</b>	<b>7,2</b>	<b>0,09</b>	<b>3,8</b>
40	96,4	3,4	<b>7,0</b>	23,8	5,7	<b>6,8</b>	0,09	4,2
60	92,9	3,0	<b>7,2</b>	21,6	5,8	<b>6,9</b>	0,10	3,7

Культивирование растений винограда продолжалось в стандартных условиях в течение 270 дней. За этот период сохранились жизнеспособными 8 растений из варианта с концентрацией сахарозы 5,0 г/л, 7 растений из варианта с концентрацией – 20,0 г/л и 11 растений винограда из варианта с концентрацией 60,0 г/л.

Таким образом, подтвердились результаты наших предыдущих исследований о применении повышенных концентраций для продолжительного хранения растений винограда, кроме того, выявлена возможность применения для этих целей и пониженных концентраций сахарозы.

**Заключение.** С увеличением концентрации сахарозы в питательных средах выше 30 г/л происходит замедление ростовых процессов растений

винограда: уменьшаются корнеобразование, длина корней и длина ризогенной зоны, рост и облиственность растений. В процессе культивирования наблюдается вызревание побегов.

Установлена возможность беспересадочного культивирования растений без снижения жизнеспособности в течение 9 месяцев на питательной среде с повышенным содержанием сахарозы при температуре 25-27 °С с последующим переносом в условия пониженной температуры.

При введении в состав питательной среды сахарозы в количестве 70 г/л возможно беспересадочное культивирование растений в течение 9 месяцев при сохранившейся жизнеспособности растений.

Уменьшение содержания сахарозы в питательной среде с 70,0 г/л до 60,0 г/л увеличивает продолжительность депонирования до 360 дней. При хранении сохранилось от 7,1 до 42,85 % растений в зависимости от сорта и состояния растений перед постановкой их на хранение.

При концентрациях сахарозы 70-90 г/л отмечено явное торможение ростовых процессов после хранения в течение 5 месяцев, но растения сохраняли свою жизнеспособность. Однако при депонировании в течение 8-10 месяцев в этих вариантах опыта наблюдалось резкое снижение жизнеспособности и интенсивное высыхание растений. Это не позволяет рекомендовать данные концентрации сахарозы для депонирования винограда *in vitro*. Для увеличения продолжительности беспересадочного хранения растений винограда в культуре *in vitro* до 1–2 лет следует совмещать применение повышенных концентраций сахарозы и культивирование растений при пониженной положительной температуре.

### Литература

1. Асанова, Г.К. Использование метода замедления роста для создания коллекции *in vitro* лекарственных растений / Г.К. Асанова, А.Ж. Куандыкова, А.Ш. Додонова, С.М. Адекенов // Eurasian Journal Of Applied Biotechnology. –2007. – №2. – С. 60-66.
2. Cassels A.S. Problems in Tissue Culture: Culture Contamination. P.31-44. In P.C. Debergh and R. Zimmerman (eds.). Micropropagation Technology and Application. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht. Netherlands. 1991.

3. Reed. В.М. Bacteriology Handbook / В.М. Reed, Р.М Buckley // NCGR. Corvallis, Or. USA.—1999. — P. 39.
4. Kumar M.B. Genetic Stability of Micropropagated and in vitro cold-stored strawberries. MScThesis, Oregon State University, USA. 1995.
5. Дерябин, А.Н. Зависимость формирования холодоустойчивости у растений *in vitro* от концентрации сахарозы в среде выращивания / А.Н. Дерябин, А.П. Сабельникова, Е.А. Бураханова // Вестник Мордовского Университета. – 2011. – № 4. – С 200-206.
6. Мякишева, Е.П. Влияние сахарозы на показатели развития растений-регенерантов картофеля (*Solanum tuberosum* L.) в культуре *in vitro* / Е.П. Мякишева // Ломоносовские чтения на Алтае: Фундаментальные проблемы науки и образования: сб. статей межд. конф. (11-14 ноября 2014 г.) – Барнаул, Алтайский государственный университет, 2014. – С. 1214-1216.
7. Виноградова, Е.Г. Использование сахарозы в качестве селективного агента в культуре *in vitro* льна, с целью получения засухоустойчивых генотипов / Е.Г. Виноградова // Синергетика в общественных и естественных науках. – Тверь, 2015 – С. 64-66.
8. Гусева, И.Д. Влияние концентрации сахарозы на укоренение картофеля *Solanum Tuberosum* L. в культуре *in vitro* / К.Ю. Гусева, И.Д. Бородулина // Молодежь – Барнаулу: материалы XVI науч.-практ. конф. молодых ученых (17-24 ноября 2014 г.) – Барнаул, 2014. – С. 76-78.
9. Высоцкая, О.Н. 25 лет сохранения *in vitro* коллекции земляники (*Fragaria*L.) / О.Н. Высоцкая // Плодоводство и ягодоводство России. – 2014. –Т 38. – С. 74-81.
10. Внукова, Н.И. Сохранение коллекции ценных генотипов тополя белого и сереющего на основе ее депонирования *in vitro* / Н.И. Внукова, Т.М. Табацкая, О.С. Машкина // Организация и регуляция физиолого-биохимических процессов. – Воронеж, 2016. – С. 28-35.
11. Калинина, А.В. Влияние растворов осмотиков на рост проростков озимой мягкой пшеницы / А.В.Калинина // Аграрный Вестник Юго-Востока. – Саратов, 2014. – С. 68-69
12. Дорошенко, Н.П. Создание и хранение коллекции винограда *in vitro* / Н.П. Дорошенко, Т.В. Жукова // Русский Виноград. – 2016. – Т 3. – С. 8-14.
13. Гаевский, Н.А. Избранные главы экологической физиологии растений / Н.А. Гаевский, Т.И. Голованова, В.М. Гольд. – Красноярск, 2012. – 91 с.
14. Reed В.М., Chang Y. Medium-and Long- term Storage of In Vitro Cultures of Temperate Fruit and Nut Crops. In: Conservation of Plant Genetic Resources *In Vitro*. Vol. 1: General Aspects. Eds. M. K. Razdan, E.C. Cocking, d. sc., M/S. Science Publishers, Inc. U. S. A- 1997, pp. 67-105
15. Дорошенко, Н.П. Клональное микроразмножение и оздоровление посадочного материала винограда для создания из него сортовых маточников интенсивного типа: рекомендации / Н.П. Дорошенко. – М., 1998. – 24 с

### References

1. Asanova, G.K. Ispol'zovanie metoda zamedlenija rosta dlja sozdaniya kolekcii *in vitro* lekarstvennyh rastenij / G.K. Asanova, A.Zh. Kuandykova, A.Sh. Dodonova, S.M. Adekenov // Eurasian Journal Of Applied Biotechnology. –2007. – № 2. – S. 60-66.

2. Cassels A.S. Problems in Tissue Culture: Culture Contamination. P.31-44. In P.C. Debergh and R. Zimmerman (eds.). Micropropagation Technology and Application. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht. Netherlands. 1991.
3. Reed. B.M. Bacteriology Handbook / B.M. Reed, P.M Buckley// NCGR. Corvallis, Or. USA.—1999. — P. 39.
4. Kumar M.B. Genetic Stability of Micropropagated and in vitro cold-stored strawberries. MScThesis, Oregon State University, USA. 1995.
5. Derjabin, A.N. Zavisimost' formirovaniya holodoustojchivosti u rastenij *in vitro* ot koncentracii saharozy v srede vyrashhivaniya / A.N. Derjabin, A.P. Sabel'nikova, E.A. Burahanova // Vestnik Mordovskogo Universiteta. – 2011. – № 4. – S 200–206.
6. Mjakisheva, E.P. Vlijanie saharozy na pokazateli razvitija rastenij-regenerantov kartofelja (*Solanum tuberosum* L.) v kul'ture *in vitro* / E.P. Mjakisheva // Lomonosovskie chtenija na Altae: Fundamental'nye problemy nauki i obrazovanija: sb. statej mezhd. konf. (11-14 nojabrja 2014 g.) – Barnaul, Altajskij gosudarstvennyj universitet, 2014. – S. 1214–1216.
7. Vinogradova, E.G. Ispol'zovanie saharozy v kachestve selektivnogo agenta v kul'ture *in vitro* l'na, s cel'ju poluchenija zasuhoustojchivyh genotipov / E.G. Vinogradova // Sinergetika v obshhestvennyh i estestvennyh naukah. – Tver', 2015 – S. 64-66.
8. Guseva, I.D. Vlijanie koncentracii saharozy na ukorenenie kartofelja *Solanum Tuberosum* L. v kul'ture *in vitro* / K.Ju. Guseva, I.D. Borodulina // Molodezh' – Barnaulu: materialy XVI nauch.-prakt. konf. molodyh uchenyh (17-24 nojabrja 2014 g.) – Barnaul, 2014. – S. 76-78.
9. Vysockaja, O.N. 25 let sohraneniya *in vitro* kollekcii zemljaniki (*Fragaria* L.) / O.N. Vysockaja // Plodovodstvo i jagodovodstvo Rossii. – 2014. – T 38. – S. 74-81.
10. Vnukova, N.I. Sohranenie kollekcii cennyh genotipov topolja belogo i serejushhego na osnove ee deponirovaniya *in vitro* / N.I. Vnukova, T.M. Tabackaja, O.S. Mashkina // Organizacija i reguljacija fiziologo-biohimicheskikh processov. – Voronezh, 2016. – S. 28-35.
11. Kalinina, A.V. Vlijanie rastvorov osmotikov na rost prorostkov ozimoj mjangkoj pshenicy / A.V. Kalinina // Agrarnyj Vestnik Jugo-Vostoka. – Saratov, 2014. – S. 68-69
12. Doroshenko, N.P. Sozdanie i hranenie kollekcii vinograda *in vitro* / N.P. Doroshenko, T.V. Zhukova // Russkij Vinograd. – 2016. – T 3. – S. 8-14.
13. Gaevskij, N.A. Izbrannye glavy jekologicheskoj fiziologii rastenij / N.A. Gaevskij, T.I. Golovanova, V.M. Gol'd. – Krasnojarsk, 2012. – 91 s.
14. Reed B.M., Chang Y. Medium-and Long- term Storage of In Vitro Cultures of Temperate Fruit and Nut Crops. In: Conservation of Plant Genetic Resources *In Vitro*. Vol. 1: General Aspects. Eds. M. K. Razdan, E.C. Cocking, d. sc., M/S. Science Publishers, Inc. U.S.A- 1997, pp. 67-105
15. Doroshenko, N.P. Klonal'noe mikrorazmnozhenie i ozdorovlenie posadochnogo materiala vinograda dlja sozdaniya iz nego sortovyh matochnikov intensivnogo tipa: rekomendacii / N.P. Doroshenko. – M., 1998. – 24 s