

## АНАЛИЗ ЭФФЕКТИВНОСТИ МИКРОРАЗМНОЖЕНИЯ ИНТРОДУЦИРОВАННЫХ СОРТОВ ВИНОГРАДА В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO*

Х. И. БОБОДЖАНОВА

Центр биотехнологии Таджикского национального университета,  
г. Душанбе, Таджикистан, 734025; e-mail: bobojankh\_7@bk.ru

Н. В. КУХАРЧИК

РУП «Институт плодоводства»,  
аг. Самохваловичи, Республика Беларусь, 223013, e-mail: nkykhartchyk@gmail.com

(Поступила в редакцию 13.01.2022)

В данной статье представлены результаты исследований за период 2014–2019 годы по оценке эффективности микро-размножения *in vitro* интродуцированных сортов винограда. Исследования проведены на базе лабораторий Центра биотехнологии Таджикского национального университета. Отмечена разная регенерационная способность в культуре *in vitro* на этапе микро-размножения эксплантов исследованных сортов винограда в течение четырех пассажей. Среднее значение коэффициента микро-размножения всех исследуемых сортов варьировало от 1,9 (сорт Хусайне красный) до 3,5 (сорт Гузаль кара) и составило 2,7 по всем исследованным сортам винограда. Максимальное значение коэффициента микро-размножения для группы сортов винограда раннего срока созревания наблюдается в четвертом пассаже (3,0). Пик побегообразования для сортов винограда среднего и позднего сроков созревания отмечен в третьем пассаже и составил 3,5. Что касается группы сортов винограда среднепозднего срока созревания, то максимальная интенсивность размножения отмечена во втором пассаже – 3,8. Выявлено, что для сортов данной группы, характеризующихся разными сроками созревания максимальный коэффициент микро-размножения приходится на второй пассаж, среднее значение составило 3,2. Установлено, что по всем типам эксплантов среднее значение коэффициента микро-размножения сортов винограда разных групп созревания практически не отличается. По всем типам эксплантов сортов винограда среднее значение коэффициента размножения мало отличается между собой.

**Ключевые слова:** Таджикистан, сорта винограды, микро-размножение, коэффициент размножения, побегообразование, *in vitro*.

This article presents results of studies for the period 2014–2019 to assess the effectiveness of *in vitro* micropropagation of introduced grape varieties. The studies were carried out on the basis of laboratories of the Biotechnology Center of Tajik National University. Different regenerative capacity was noted in *in vitro* culture at the stage of micropropagation of explants of the studied grape varieties during four passages. The average value of micropropagation coefficient of all studied varieties varied from 1.9 (Khusaine red variety) to 3.5 (Guzal Kara variety) and amounted to 2.7 for all studied grape varieties. The maximum value of micropropagation coefficient for the group of early ripening grape varieties is observed in the fourth passage (3.0). The peak of shoot formation for grape varieties of medium and late ripening was noted in the third passage and amounted to 3.5. As for the group of grape varieties of medium late ripening, the maximum intensity of reproduction was noted in the second passage – 3.8. It was revealed that for the varieties of this group, characterized by different maturation periods, the maximum micropropagation coefficient falls on the second passage, the average value was 3.2. It has been established that for all types of explants, the average value of micropropagation coefficient of grape varieties of different maturation groups is practically the same. For all types of explants of grape varieties, the average values of propagation coefficient differ little from each other.

**Key words:** Tajikistan, grape varieties, micropropagation, propagation coefficient, shoot formation, *in vitro*.

### Введение

Развитие сельского хозяйства в современных условиях невозможно без агроботехнологии. Это имеет непосредственное отношение и к виноградарству [1].

Клональное микро-размножение в культуре *in vitro*, по сравнению с традиционными методами размножения, используемыми в сельскохозяйственной практике, имеет ряд преимуществ [2, 3]. Среди них такие как, высокий коэффициент размножения, возможность оздоровления растений от вирусов, патогенных микроорганизмов и нематод, возможность работать в лабораторных условиях круглый год и планирование выпуска растений к определенному сроку и другие. Основное же преимущество клонального микро-размножения – это получение генетически однородного, безвирусного посадочного материала, так как вирусные и микоплазменные заболевания в силу хронического характера наносят виноградарству значительный экономический ущерб [3].

Методы культуры органов, тканей и клеток *in vitro* занимают прочное место в арсенале средств, определяющих значительный прогресс в селекции винограда и в деле производства посадочного материала этой древнейшей и широко распространенной культуры [1].

В обзоре научных сообщений по культуре органов, тканей и клеток винограда *in vitro*, сделанного А. И. Литваком и А. П. Кузьменко [4], показаны широкие потенциальные возможности метода.

В работах Н. П. Дорошенко с коллегами отмечено, что оптимизации клонального микроразмножения на этапе микрочеренкования пробирочных растений также способствует применение растительной добавки из тонкоразмолотых семян винограда [5], введение в питательную среду 6-БАП [6], СВЧ-лучей [7].

Н. И. Медведева, Л. П. Трошин и Н. В. Поливарова в своей работе [8] показали, что на этапе микроразмножения для роста и развития регенерантов оздоравливаемых сортообразцов винограда целесообразно использовать питательную среду Мурасиге и Скуга со стандартным набором макро-микроэлементов и витаминов и содержанием ростового вещества 6-Бензиламинопурина в концентрации – 0,4 мг/л.

Т. А. Красинской и А. А. Змушко отмечено влияние генотипа на морфогенез растений-регенерантов винограда при воздействии в среде различных биологически активных веществ: 6-БА, TDZ и кинетина. В среднем для сортов Магс и Агат донской применение модифицированной питательной среды MS с 1,1 и 1,5 мг/л 6-БА способствовало активации геммогенеза, коэффициент размножения составил соответственно 4,3 и 4,7 [9].

А. А. Батукаевым с коллегами показано, что на фоне концентрации БАП 0,5 мг/л присутствие кинетина (0,5 мг/л) обеспечило максимальный коэффициент размножения – 2,9 и некотором уменьшении средней длины побегов [10].

Оптимальной для этапа, собственно микроразмножения винограда сорта Памяти Домбковской, Т. Г. Леконцева и А. В. Федоров отмечают питательную среду с содержанием цитокинина 6-БАП в концентрации 1,0 мг/л. [11].

Цель исследования заключалась в оценке эффективности микроразмножения, в течение четырех пассажей, интродуцированных сортов винограда, произрастающих на территории Таджикистана.

Исследованные сорта винограда относятся к венгерским (Жемчуг Саба) [12], иранским (Фахри) [13], туркменским (Нухурский крупный) [14], арабийским (Тайфи розовый) [15], узбекским (Гузаль кара [13], Джанджал Кара [13], Победа [13], Ризамат [13], Сурхак китабский [16], Хурманы кизил [13], Хусайне красный [15]), среднеазиатским (Бобо закир [14], Дили каптар [13], Думи рубох [13], Исписар [17], Кара палван [14], Первомайский [18], Ранний кибрайский [18], Сохиби [13], Султани [14], Хусайне белый [12], Чилиаки красный [14]).

#### **Основная часть**

Исследования проводили в период 2014–2019 гг. в Центре биотехнологии Таджикского национального университета. В качестве объектов исследований служили 22 сорта винограда, которые характеризуются высокими вкусовыми качествами и хозяйственно ценными признаками [12–18].

Для культуры *in vitro* использовали меристемы, верхушечные и боковые почки, щитки.

Работы проводили в условиях ламинар-бокса БАВнп-01-«Ламинар-С»-1,2 (Lamsystems, Россия) с использованием бинокулярного микроскопа МБС-10 и специального набора инструментов (игла, скальпель, пинцет). Стерилизацию эксплантов проводили с использованием 70 % этанола и 33 % перекиси водорода [19].

Экспланты вводили на питательную среду Мурасига-Скуга [20], дополненную НУК-0.9 мг/л. Микропобеги высаживали на агаризованную питательную среду Мурасига-Скуга [20], содержащую 1,1 мг/л 6-БА, 10 г/л мезоинозита, 30г/л сахарозы [21].

Культивирование растений *in vitro* проводили в биологических пробирках 22x220 в культуральных комнатах при освещении 4 тыс. люкс, температуре  $24 \pm 1^\circ\text{C}$ , фотопериоде 16/8 часов, относительной влажности 70–80 %. Длительность субкультивирования составляла 4–5 недель.

Исследован коэффициент микроразмножения на четырех пассажах. Среднее значение коэффициента микроразмножения всех исследуемых сортов варьирует от 1,9 (сорт Хусайне красный) до 3,5 (сорт Гузаль кара). Среднее для всех сортов равно 2,7, такая же интенсивность размножения наблюдается для сорта Исписар, Победа и Фахри (рис. 1).

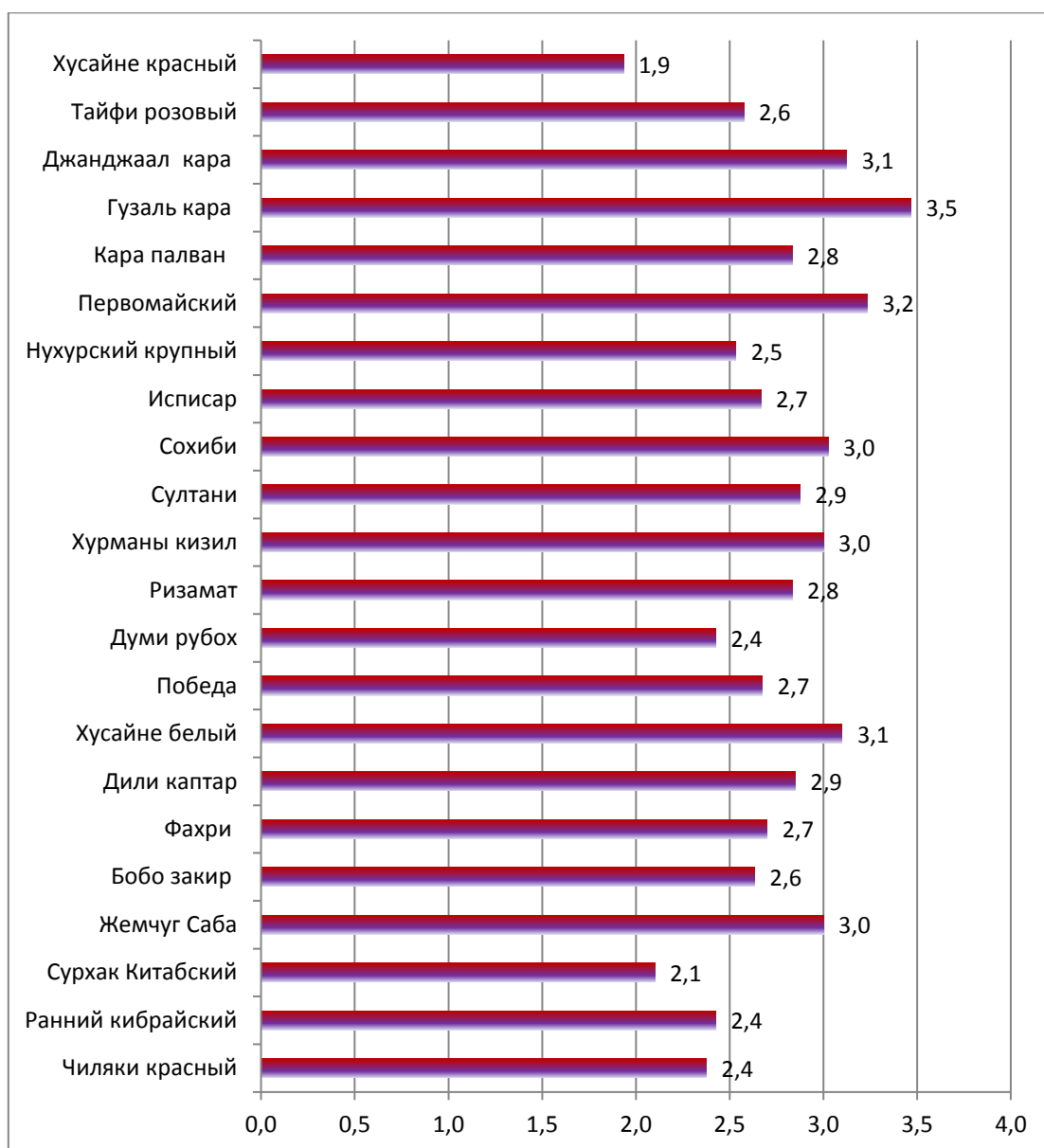


Рис. 1. Среднее значение коэффициента микроразмножения сортов винограда разных сроков созревания по пассажирам

Значение коэффициента выше среднего отмечено для сортов Кара палван и Ризамат (2,8), Султани и Дили каптар (2,9), Сохиби, Жемчуг Саба и Хурманы кизил (3,0), Джанджал кара и Хусайне белый (3,1), Первомайский (3,2), Гузаль кара (3,5).

Ниже средней величины интенсивность побегообразования наблюдается для следующих сортов – Тайфи розовый и Бобо закир (2,6), Нухурский крупный (2,5), Думи руба сафед, Ранний кибрайский, Чилияки красный (2,4), Сурхак китабский (2,1) и Хусайне красный (1,9).

Выбранные для изучения сорта были разделены на четыре группы по срокам созревания – ранние (Чилияки красный, Ранний кибрайский, Сурхак Китабский, Жемчуг Саба, Бобо закир и Фахри), средние (Дили каптар, Хусайне белый, Победа, Думи руба сафед, Ризамат и Хурманы кизил), среднепоздние (Джаус – Султани, Сохиби, Исписар, Нухурский крупный, Первомайский, Кара палван и Гузаль кара) и поздние (Джанджаал кара, Тайфи розовый и Хусайне красный).

На рис. 2 представлены средние значения коэффициентов микроразмножения в четырех пассажирах для сортов винограда, сгруппированных по срокам созревания.

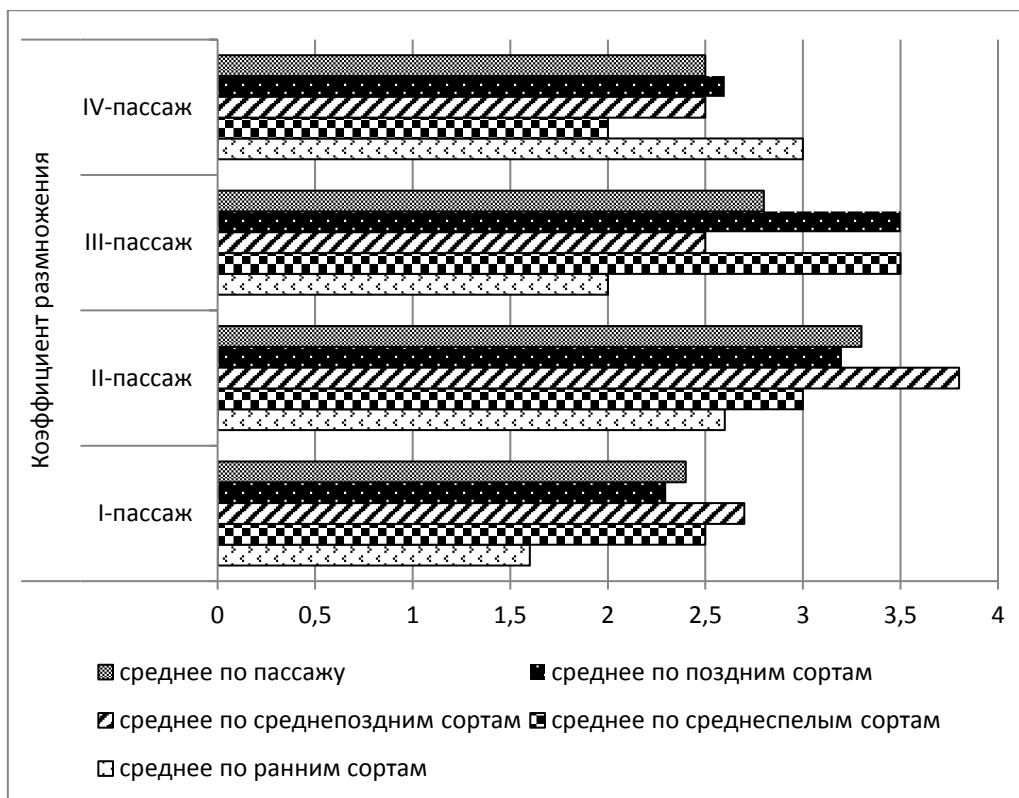


Рис. 2. Среднее значение коэффициента микроразмножения сортов винограда разных сроков созревания на 4 пассажах

Значение средней интенсивности микроразмножения всех исследованных сортов винограда по пассажирам растет от первого к третьему пассажиру, а затем уменьшается в четвертом пассажире.

Для сортов винограда группы раннего срока созревания наблюдается скачкообразное изменение коэффициента размножения с его высоким значением в четвертом пассажире. т.е. наблюдается увеличение значения от первого ко второму пассажиру, далее спад интенсивности и ее рост к четвертому пассажиру.

Равномерное побегообразование от первого к третьему, и спад значения в четвертом пассажире отмечен для группы сортов среднего срока созревания.

Максимальная интенсивность размножения наблюдается во втором пассажире для группы сортов винограда среднепозднего срока созревания. Значение данной величины в третьем и четвертом пассажирах практически одинаковое. Группа сортов позднего срока созревания характеризуется ростом коэффициента размножения к третьему и спадом к четвертому пассажиру.

Максимальное значение коэффициента микроразмножения для группы сортов винограда раннего срока созревания наблюдается в четвертом пассажире. В третьем пассажире отмечен пик побегообразования для сортов винограда среднего и позднего сроков созревания. Что касается группы сортов винограда среднепозднего срока созревания, то интенсивность размножения максимальна во втором пассажире. Вероятно, коэффициент микроразмножения сортов винограда, отличающихся по срокам созревания имеет сортовую индивидуальность.

В табл. 1 представлены результаты расчетов коэффициентов микроразмножения сортов винограда, разбитых в группы по срокам созревания.

В первом пассажире самая высокая интенсивность микроразмножения наблюдается в группе сортов винограда среднепозднего срока созревания (2,7) и далее по убыванию в группе среднее по среднеспелым сортам (2,5), среднее по поздним сортам (2,3) и среднее по ранним сортам (1,6). Среднее по первому пассажиру равно 2,4.

В целом для исследованных сортов винограда всех четырех групп созревания коэффициент микроразмножения варьирует от 1,5 для сортов Чилияки красный, Жемчуг Саба, Победа, Первомайский и до 4,4 для сорта Гузаль кара.

Таблица 1. Среднее значение коэффициента размножения сортов винограда разных сроков созревания на четырех пассажах

Сорт	Коэффициент размножения				Среднее по пассажирам
	1-й пассаж	2-й пассаж	3-й пассаж	4-й пассаж	
Чиляки красный	1,5	3,2	2,3	2,5	2,4
Ранний кибрайский	1,9	2,7	3,5	1,6	2,4
Сурхак китабский	1,7	2,9	2,1	1,7	2,1
Жемчуг Саба	1,5	2,4	2,1	6,0	3,0
Бобо закир	2,8	3,3	1,8	–	2,6
Фахри	2,1	3,9	2,1	–	2,7
<b>среднее по ранним сортам</b>	<b>1,6</b>	<b>2,6</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	
Дили каптар	2,8	2,9	3,7	2,0	2,9
Хусайне белый	3,1	3,1	4,1	2,1	3,1
Победа	1,5	3,2	3,6	2,4	2,7
Думи руба сафед	2,5	2,3	3,5	1,4	2,4
Ризамат	2,7	3,3	2,5	–	2,8
Хурманы кизил	2,4	3,2	3,4	–	3,0
<b>среднее по среднеспелым сортам</b>	<b>2,5</b>	<b>3</b>	<b>3,5</b>	<b>2</b>	
Джаус	3,2	3,1	4,0	1,2	2,9
Сохиби	2,9	3,3	2,1	3,8	3,0
Исписар	2,8	3,3	1,9	–	2,7
Нухурский крупный	1,6	4,0	2,0	–	2,5
Первомайский	1,5	5,7	2,5	–	3,2
Кара полвон	2,2	4,0	2,3	–	3,5
Гузаль кара	4,4	3,3	2,7	–	3,5
<b>среднее по среднепоздним сортам</b>	<b>2,7</b>	<b>3,8</b>	<b>2,5</b>	<b>2,5</b>	
Джанджал кара	1,6	4,4	2,9	3,6	3,1
Тайфи розовый	1,8	2,9	4,0	1,6	2,6
Хусайне красный	3,6	2,3	3,5	–	3,1
<b>среднее по поздним сортам</b>	<b>2,3</b>	<b>3,2</b>	<b>3,5</b>	<b>2,6</b>	
<b>среднее по пассажиру</b>	<b>2,4</b>	<b>3,3</b>	<b>2,8</b>	<b>2,5</b>	

Рост побегообразования отмечен ко второму пассажиру во всех четырех группах сортов. При этом минимальный 2,6 отмечен для ранних сортов и максимальный коэффициент 3,8 для среднепоздних сортов. Значительное увеличение интенсивности размножения отмечено для сорта Первомайский (1,5 и 5,7).

В группе сортов среднего и позднего срока созревания наблюдается стабильный рост коэффициента размножения к третьему и снижение его значения в четвертом пассаже.

Для группы сортов раннего срока созревания пик побегообразования отмечен в четвертом и среднепозднего во втором пассаже.

Результаты среднего значения коэффициента микроразмножения четырех типов эксплантов на всех пассажирах представлены в табл. 2.

Таблица 2. Среднее значение коэффициента размножения на 4 пассажирах по всем типам эксплантов сортов винограда разных сроков созревания

Тип экспланта	Коэффициент размножения				Среднее по пассажирам
	1-й пассаж	2-й пассаж	3-й пассаж	4-й пассаж	
меристема	2,4	3,3	2,9	2,4	2,8
верхушечная почка	2,5	3,3	2,9	2,6	2,8
боковая почка	2,5	3,1	2,9	2,5	2,8
щиток	2,6	3,0	3,0	2,9	2,9
<b>среднее по эксплантам</b>	<b>2,5</b>	<b>3,2</b>	<b>2,9</b>	<b>2,6</b>	

В первом пассаже значение коэффициента варьирует от 2,4 для меристемы до 2,6 – щиток. Значение этого показателя для верхушечной и боковой почки одинаково и равно 2,5.

Пик интенсивности побегообразования для меристемы приходится на второй пассаж – 3,3. Далее наблюдается спад значения до 2,9 в третьем и 2,4 в четвертом пассажирах. Такая же тенденция отмечена для экспланта верхушечная и боковая почка.

Для эксплантов – меристема, верхушечная и боковая почка наблюдается снижение величины коэффициента от второго к четвертому пассажиру. При этом для меристемы он наименьший (2,4), а для щитка наибольший и равен 2,9.

Что касается экспланта щиток, то во втором и третьем пассажах коэффициент побегообразования равен 3,0, а в четвертом 2,9, т.е. интенсивность размножения сохраняется со второго до четвертого пассажа.

Для всех типов эксплантов максимальный коэффициент микроразмножения приходится на второй пассаж, среднее значение составило 3,2.

### **Заключение**

Изучено микрклональное размножение двадцати двух интродуцированных сортов винограда. Среднее значение коэффициента микроразмножения всех исследуемых сортов варьирует от 1,9 (сорт Хусайне красный) до 3,5 (сорт Гузаль кара) и составило 2,7.

Максимальное значение коэффициента микроразмножения для группы сортов винограда раннего срока созревания наблюдается в четвертом пассаже (3,0). Пик побегообразования для сортов винограда среднего и позднего сроков созревания отмечен в третьем пассаже и составил 3,5. Что касается группы сортов винограда среднепозднего срока созревания, то максимальная интенсивность размножения отмечена во втором пассаже – 3,8.

Для сортов данной группы, характеризующихся разными сроками созревания, максимальный коэффициент микроразмножения приходится на второй пассаж, среднее значение составило 3,2.

По всем типам эксплантов среднее значения коэффициента микроразмножения сортов винограда разных групп созревания практически не отличается.

### **ЛИТЕРАТУРА**

1. Дорошенко, Н. П. Биотехнология – наука и отрасль сельского хозяйства / Н. П. Дорошенко, Л. П. Трошин, Алзубайди Хайдар Клиль Ибрахим // Научный журнал КубГАУ. №116(02). – 2016 [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://ej.kubagro.ru/2016/02/pdf/106.pdf>. – Дата доступа: 30.10.2019.
2. Зленко, В. А. Размножение винограда методами *in vitro*. Ч. 2: Развитие растений *in vitro* и их адаптация к условиям *in vivo* / В. А. Зленко, Л. П. Трошин, И. В. Котиков // Виноград и вино России. – 1998. – № 5. – С. 26–28.
3. Дорошенко, Н. П. Особенности клонального микроразмножения винограда / Н. П. Дорошенко. – Новочеркасск. 2014. – 203с.
4. Литвак, А. И. Культура клеток, тканей и органов винограда *in vitro* / А. И. Литвак, А. П. Кузьменко // Селекция устойчивых форм винограда. – Кишинев. 1982. – С. 116–139.
5. Музыченко, Б. А. Способ микрклонального размножения «ин витро» / Б. А. Музыченко, Н. П. Дорошенко // Виноград. – 1995 [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.freepatent.ru/patents/2041609>. – Дата доступа: 01.11.2019.
6. Дорошенко, Н. П. Оптимизация условий клонального микроразмножения винограда / Н. П. Дорошенко // Сельскохозяйственная биология – 1996. – № 5. – С. 28–29.
7. Дорошенко, Н. П. Инновационные направления развития биотехнологии в виноградарстве [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://vinograd.info/stati/stati/innovacionnye-napravleniya-razvitiya-biotehnologii-v-vinogradarstve.html>. – Дата доступа: 17.11.2021.
8. Дорошенко, Н. П., Лузгин Г. В., Карлов А. Ф. Способ размножения винограда *in vitro*. Пат. № 2077192. 1997
9. Трошин, Л. П. Особенности микрклонального размножения интродуцентов и клонов винограда / Л. П. Трошин, Н. И. Медведева, Н. В. Поливарова // Научный журнал КубГАУ. – 2008. – № 40. – С. 188–205.
10. Красинская, Т. А. Морфогенез растений-регенерантов сортов винограда в культуре *in vitro* при использовании биологически активных веществ синтетического происхождения / Т. А. Красинская, А. А. Змушко // Журнал Белорусского государственного университета. Биология. – 2018. – № 2. – С. 95–104.
11. Введение в культуру *in vitro*, размножение и адаптация *ex vitro* комплексно-устойчивых сортов винограда. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: [https://www.researchgate.net/publication/338873000\\_vvedenie\\_v\\_kulturu\\_invitro\\_razmnozenie\\_i\\_adaptacia\\_exvitro\\_kompleksno-ustojcivyh\\_sortov\\_vinograda/related](https://www.researchgate.net/publication/338873000_vvedenie_v_kulturu_invitro_razmnozenie_i_adaptacia_exvitro_kompleksno-ustojcivyh_sortov_vinograda/related). – Дата доступа: 17.11.21.
12. Леконцева, Т. Г. Совершенствование технологии размножения винограда *in vitro* / Т. Г. Леконцева, А. В. Фёдоров // Аграрный вестник Урала. – 2020. – № 09 (200). – С. 55–62. DOI: 10.32417/1997-4868-2020-200-9-55-62.
13. Энциклопедия виноградарства. Т.1. – Кишинев. Главная редакция Молдавской Советской Энциклопедии, 1986. – 511 с.
14. Сорта винограда [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://vinograd.info/sorta/.html> – Дата доступа: 30.12.2021.
15. Сорта винограда Узбекистана / Редкол. М.М.Мирзаев (отв.ред.). – Т.: «Узбекистан». 1974. – 316 с.
16. Энциклопедия виноградарства. Т. 3. Кишинев. Главная редакция Молдавской Советской Энциклопедии. 1986. – 548с.
17. Рубан, Н. Г. Сорта винограда Сроедней Азии / Н. Г. Рубан. – Ташкент. Изд-во «Фан» Узбекской ССР, 1972. – 200 с.
18. Ампелография Узбекистана / Редкол. М.М.Мирзаев [и др.] / Т.: «Узбекистан», 1984. 144с.
19. Ампелография СССР / П. Я.Голодрига (отв. ред.) / Москва. «Легкая и пищевая промышленность». 1984. – 503 с.
20. Ясаулова, Ш. К. Эффективность введения в культуру *in vitro* винограда таджикского сорта / Ш. К. Ясаулова, Х. И.Бободжанова, Н. В. Кухарчик // Плодоводство: науч. тр. / РУП «Ин-т плодоводства»; редкол.: В. А. Самусь (гл. ред.) [и др.]. – Самохваловичи, 2015. – Т. 27. – С. 271–278.
21. Murashige T. A. revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures / T. Murashige, F. Scoog // *Physiol. Plant.* – 1962. – Vol. 15. – N 3. – P. 473–497.
22. Бободжанова, Х. И. Микрклональное размножение винограда / Х. И. Бободжанова, Н. В. Кухарчик. – Душанбе: «Эр-Граф», 2017. – 32 с.