

**ИССЛЕДОВАНИЯ ВСЕРОССИЙСКОГО НИИ ВИНОГРАДАРСТВА И ВИНОДЕЛИЯ ИМ.
Я.И. ПОТАПЕНКО ПО СОВЕРШЕНСТВОВАНИЮ МЕТОДОВ СОДЕРЖАНИЯ
ГЕНОФОНДА ВИНОГРАДА В КОЛЛЕКЦИИ *IN VITRO***

Пузырнова В. Г.¹, Дорошенко Н. П.²

¹ Новочеркасский инженерно-мелиоративный институт имени А.К. Кортунова ФГБОУ ВО
Донской ГАУ

² Всероссийский научно-исследовательский институт виноградарства и виноделия имени Я.И.
Потапенко – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения
«Федеральный Ростовский аграрный научный центр»
valentina.puzirnova@yandex.ru

Одним из ключевых моментов создания коллекции *in vitro* является разработка приёмов введения растительного материала в стерильную культуру. Чтобы достигнуть большего эффекта при длительном хранении фонда, необходимо освободить растительный материал от патогенов и быстро размножить его. Исследования проводились в стационарных условиях лаборатории биотехнологии ВНИИВиВ–филиал ФГБНУ ФРАНЦ по общепринятым в биотехнологии методикам. В коллекции *in vitro* сохраняли оздоровленные микрорастения, которые по одному высаживали в пробирку, то есть коллекция была «живой» или, как ещё называют такие коллекции, «зеленой».

За основу формирования банка оздоровленных растений взят способ оздоровления растений при помощи культуры апикальных меристем при относительном размере эксплантов 0,1–0,2 мм, в сочетании с химиотерапией.

1. Доказана необходимость применения химиотерапии на этапе ввода меристем в культуру *in vitro* для оздоровления от вирусной инфекции – применение препарата Рибавирин (5,0 мг/л) и совместное применение препарата Рибавирин с салициловой кислотой (5,0 мг/л + 0,14 мг/л).

2. Обосновано для оздоровления от микозов добавление в состав питательной среды антибиотика Цефотаксим в количестве 50,0–450,0 мг/л в зависимости от степени инфицирования растений.

3. Улучшению регенерационной способности меристем способствует введение в состав питательной среды препарата Мелафен, под действием которого меристемы быстрее увеличиваются в размерах, приступают к линейному росту и образованию розетки листьев, ускоряется переход к следующему этапу. У изучаемых сортов отмечено улучшение ростовых параметров меристем при концентрации препарата в разведении 10^{-7} снижение при концентрациях $10^{-7.5}$ и 10^{-8} . Доказано повышение коэффициента размножения (число побегов, образовавшихся на одну выделенную меристему) в 2–2,5 раза

4. Выявлены особенности регенерации микрочеренков в зависимости от места расположения на побег. Доказано, что сохранность в коллекции и продолжительность беспересадочного хранения, увеличивается до 10,0 и более месяцев у растений, полученных из верхних частей побегов, что в 1,7 раза превышает эти показатели у растений, полученных из микрочеренков средней и нижней части побегов. На основании этих данных разработан новый способ хранения коллекции *in vitro* (патент RU No2764104 C1), обеспечивающий беспересадочное хранение растений в коллекции в течение 10–12 месяцев.

5. Исследована регенерация микрочеренков в зависимости от размеров и ориентации в простран. Подтверждено, что лучшим размером микрочеренков для массового тиражирования мериклонов и закладки растений в коллекцию на хранение является 0,7–0,8 см и наклонная экспозиция экспланта. В этом варианте растения имеют более развитую ризогенную зону, большую длину побегов и облиственность.

Ключевые слова: виноград, коллекция *in vitro*, Рибавирин, салициловая кислота, Цефотоксим, Мелафен, место расположения, размер, ориентация в пространстве.

RESEARCH OF THE ALL-RUSSIAN RESEARCH INSTITUTE OF VITICULTURE AND WINEMAKING NAMED AFTER Y.I. POTAPENKO ON IMPROVING METHODS OF MAINTAINING THE GENE POOL OF GRAPEVINE IN THE IN VITRO COLLECTION

Puzirnova V. ¹, Doroshenko N. P. ²

¹ *Novocherkassk Engineering and Land Reclamation Institute named after A.K. Kortunov
FGBOU VO Donskoy SAU*

² *All-Russian Research Institute of Viticulture and Winemaking named after Ya.I. Potapenko -
branch of the Federal State Budgetary Scientific Institution "Federal Rostov Agrarian Scientific Center"
valentina.puzirnova@yandex.ru*

The key point of creating an in vitro collection is the development of techniques for introducing plant material into a sterile culture. To achieve a greater effect with long-term storage of the collection, it is necessary to free the plant material from pathogens and multiply it quickly.

The research was carried out in stationary conditions of the laboratory of biotechnology of All-Russian Research Ya.I. Potapenko Institute for Viticulture and Winemaking according to generally accepted methods in biotechnology. In the in vitro collection, healthy micro-plants were preserved, which were planted one at a time in a test tube, that is, the collection was "alive" or, as such collections are also called, "green".

The formation of a bank of healthy plants is based on a method of improving plants using a culture of apical meristems with explant size of 0.1–0.2 mm, in combination with chemotherapy.

1. The need for chemotherapy at the stage of introducing meristems into culture in vitro for recovery from viral infection has been proven – the use of Ribavirin (5.0 mg/l) and the combined use of Ribavirin with salicylic acid (5.0 mg/l + 0.14 mg/l).

2. The addition of the antibiotic Cefotaxime in the amount of 50.0–450.0 mg/l, depending on the degree of infection of plants, to the nutrient medium is justified for recovery from mycoses.

3. The introduction of Melafen into the nutrient medium contributes to the improvement of the regenerative ability of meristems, under the action of which the meristems increase in size faster, begin linear growth and the formation of a rosette of leaves, the transition to the next stage is accelerated. The studied varieties showed an improvement in the growth parameters of the meristems at a concentration of the drug in a dilution of 10^{-7} and a decrease at concentrations of $10^{-7.5}$ and 10^{-8} . An increase in the reproduction coefficient (the number of shoots formed per isolated meristem) by 2–2.5 times has been proven.

4. The features of regeneration of micro cuttings depending on the location on the shoot are revealed. It is proved that the safety in the collection and the duration of non-stop storage increases to 10.0 months or more in plants obtained from the upper parts of the shoots, which is 1.7 times higher than these indicators in plants obtained from micro cuttings of the middle and lower parts of the shoots. Based on these data, a new method for storing the collection in vitro (patent RU No.2764104 C1) has been developed, providing non-stop storage of plants in the collection for 10–12 months.

5. The regeneration of micro cuttings depending on the size and orientation in space is investigated. It has been confirmed that the best size of micro gears for mass replication of mericlones and placing plants in the collection for storage is 0.7–0.8 cm and an inclined exposure of the explant. In this variant, the plants have a more developed rhizogenic zone, a longer length of shoots and foliage.

Keywords: grapevine, in vitro collection, Ribavirin, salicylic acid, Cefotaxim, Melafen, location, size, orientation in space.