

## ФАКТОРЫ И ПАРАМЕТРЫ ДОЛГОСРОЧНОГО ХРАНЕНИЯ БИОРЕСУРСНОЙ КОЛЛЕКЦИИ ВИНОГРАДА

Дорошенко Н. П.<sup>1</sup>, Пузырнова В. Г.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Всероссийский научно-исследовательский институт виноградарства и виноделия имени Я.И. Потапенко – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный Ростовский аграрный научный центр»

<sup>2</sup> Новочеркасский инженерно-мелиоративный институт имени А.К. Кортунова ФГБОУ ВО Донской ГАУ  
[valentina.puzirnova@yandex.ru](mailto:valentina.puzirnova@yandex.ru)

Исследования проводились в стационарных условиях лаборатории биотехнологии ВНИИВиВ–филиал ФГБНУ ФРАНЦ по общепринятым в биотехнологии методикам. Главный методический подход при проведении исследований - достижение состояния замедленного роста при сохранении жизнеспособности тканей экспланта. Коллекция генофонда винограда ВНИИВиВ им. Я.И. Потапенко *in vitro* развивается путем пополнения новыми сортами и совершенствования условий длительного хранения. Замедления интенсивности ростовых процессов добивались путем изменения условий хранения и модификации питательных сред. На ростовые процессы оказывает влияние плотность питательной среды. В вариантах с повышенным содержанием агара до 8,0–10,0 мг/л происходит замедление ростовых процессов при высокой приживаемости и жизнеспособности растений. Для минимизации роста растений исследованы параметры применения осмотиков: сахароза, сорбит, фруктоза; регулятора роста Мелафен, антибиотика Гентамицин, ингибитора Флорон. Получены следующие результаты.

Исследована кинетика ростовых процессов растений при введении сахарозы в состав питательной среды в диапазоне от 0 до 60 г/л. Торможение ростовых процессов наблюдалось при концентрациях 5,0 и 60–70 г/л. Доказано, что культивирование при повышенных концентрациях сахарозы в условиях пониженной температуры способствует вызреванию растений и продлению сроков беспересадочного культивирования до 2–3 лет (патент № 2797364).

Под действием сорбита более интенсивный ризогенез и рост побегов происходит при концентрациях 5,0–10,0 г/л, а торможение ростовых процессов при концентрациях 20–30 г/л, что дает возможность использовать сорбит в таком количестве для создания «зеленой медленнорастущей» коллекции винограда *in vitro*. Следует отметить при этом отличное состояние растений. При концентраций фруктозы 20,0 г/л выявлена самая развитая ризогенная зона, хорошая сохранность (60 %) и статистически значимое торможение роста побегов. В связи с тем, что использование в качестве источника углерода фруктозы уменьшает структурные и количественные изменения хромосом и улучшает развитие раст регенерантов, рекомендуется вводить в состав питательной среды фруктозу при адаптации растений к нестерильным условиям.

Мелафен способствует продолжительному беспересадочному культивированию в течение 260 дней. Возможно беспересадочное культивирование растений в течение 450 дней и отдельных растений: 540 и 630 дней.

Гентамицин способствует улучшению приживаемости растений в 2–3 раза. При этом проявляется токсическое влияние антибиотика на образование и рост корней, рост побегов, образование и рост листьев. Выяв ингибирующее действие антибиотика в концентрациях 0,05–0,03 мл/л. Менее всего страдали от гентамицина растения при концентрации 0,005 мл/л, что способствовало увеличению беспересадочного хранения их в коллекции до 10–12 и более месяцев (патент No2538859).

Определена лучшая концентрация ингибитора Флорон – 0,001%: за 190 суток культивирования растений сорта Махроватчик сохранилось 76,7% растений, у которых произошло замедление ростовых процессов, а качественное состояние растений обеспечит дальнейшее депонирование растений.

Прогнозируемый экономический эффект складывается из снижения расходов на оплату труда и расходных материалов за счет удлинения периода между пересадками с 6 месяцев до 12 вследствие снижения ростовых процессов. Предлагаемые мероприятия позволят сделать содержание растений в коллекции экономичнее на 29,4 %. Кроме того, коллекция *in vitro* представляет собой «биоресурсную коллекцию» – особо ценную часть генетического разнообразия для сохранения, консервации и воспроизводства, всестороннего изучения и использования. На основании проведенных исследований разработана стратегия (схема) и методология создания банка асептических растений.

## FACTORS AND PARAMETERS OF LONG-TERM STORAGE OF BIORESOURCE GRAPEVINE COLLECTION

Doroshenko N. P.<sup>1</sup>, Puzirnova V. <sup>2</sup>

<sup>1</sup>*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"*

<sup>2</sup>*Novocherkassk Engineering and Land Reclamation Institute named after A.K. Kortunov FGBOU VO Donskoy SAU*

[valentina.puzirnova@yandex.ru](mailto:valentina.puzirnova@yandex.ru)

The research was carried out in stationary conditions of the laboratory of biotechnology All-Russian Research Ya.I. Potapenko Institute for Viticulture and Winemaking according to generally accepted methods in biotechnology. The main methodological approach in conducting research is to achieve a state of slow growth while maintaining the viability of explant tissues. The collection of the gene pool of the grapevine in All-Russian Research Ya.I. Potapenko Institute for Viticulture and Winemaking in vitro develops by replenishing new varieties and improving long-term storage conditions. Slowing down the intensity of growth processes was achieved by changing storage conditions and modifying nutrient media. The possibility of storing the collection of gene pool of grapevine in vitro at a reduced positive temperature of +1 – +8°C is substantiated, which helps to minimize growth, maturation of plants and prolongation of non-stop storage.

Growth processes are influenced by the density of the nutrient medium. In variants with an increased agar content up to 8.0–10.0 mg/ l, growth processes slow down with high plant survival and viability.

To minimize plant growth, the parameters of osmotic use were studied: sucrose, sorbitol, fructose; growth regulator Melafen, antibiotic Gentamicin, inhibitor Floron. The following results were obtained.

The kinetics of plant growth processes during the introduction of sucrose into the nutrient medium in the range from 0 to 60 g/l has been studied. Inhibition of growth processes was observed at concentrations of 5.0 and 60-70 g/l. It has been proven that cultivation at increased concentrations of sucrose in conditions of low temperature contributes to the maturation of plants and the extension of the duration of non-planting cultivation up to 2-3 years.

Under the action of sorbitol, more intensive rhizogenesis and shoot growth occurs at concentrations of 5.0–10.0 g / l, and inhibition of growth processes at concentrations of 20-30 g / l, which makes it possible to use sorbitol in such quantities to create a "green slow-growing" grapevine collection in vitro. It should be noted that the plants are in excellent condition.

At fructose concentrations of 20.0 g/l, the most developed rhizogenic zone was revealed, good preservation (60%) and statistically significant inhibition of shoot growth. Due to the fact that the use of fructose as a carbon source reduces structural and quantitative changes in chromosomes and improves the development of regenerating plants, it is recommended to introduce fructose into the nutrient medium when plants adapt to non-sterile conditions Melafen promotes continuous non-stop cultivation for 260 days. It is possible to cultivate plants continuously for 450 days and individual plants: 540 and 630 days.

Gentamicin helps to improve plant survival by 2-3 times. At the same time, the toxic effect of the antibiotic on root formation and growth, shoot growth, leaf formation and growth is noted. The inhibitory effect of the antibiotic was revealed in concentrations of 0.05–0.03 ml/l. Plants at a concentration of 0.005 ml/l suffered the least from gentamicin, which contributed to an increase in their non-stop storage in the collection up to 10-12 months or more.

The best concentration of the Floron inhibitor was determined – 0.001%: for 190 days of cultivation of plants Mahrovatchik variety, 76.7% of plants with a slowdown in growth processes were preserved, and the qualitative condition of the plants will ensure further deposition of plants.

The projected economic effect consists of a reduction in labor costs and consumables due to the lengthening of the period between transplants from 6 months to 12 due to a decrease in growth processes. The proposed measures will make the maintenance of plants in the collection more economical by 29.4%.

In addition, the in vitro collection is a "bioresource collection" – a particularly valuable part of genetic diversity for conservation, conservation and reproduction, comprehensive study and use.

Based on the conducted research, a strategy and methodology for creating a bank of aseptic plants have been developed.