

СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ СОСТАВА ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД ПРИ МИКРОЧЕРЕНКОВАНИИ ВИНОГРАДА *IN VITRO*

Батукаев А.А., д-р с.-х. наук, Палаева Д.О., канд. с.-х. наук,
Собралиева Э.А., магистрант

*Агротехнологический институт Чеченского государственного университета
(Грозный, Чеченская Республика)*

Реферат. Представлены результаты исследований по совершенствованию состава питательных сред при размножении винограда биотехнологическим методом. Исследования могут быть использованы в виноградарстве для ускоренного размножения оздоровленных от вирусной инфекции перспективных сортов винограда путем снижения затрат на дорогостоящие препараты. Введение в состав питательных сред, кроме минеральных солей, жидкого концентрированного органоминерального препарата Гумат+7В оказало существенное влияние на рост и развитие эксплантов в условиях *in vitro*.

Ключевые слова: виноград, *in vitro*, питательная среда, размножение, гумат, эксплант

Summary. The results of research on improving the composition of nutrient media during the reproduction of grapes using the biotechnological method are presented. Research can be used in viticulture for the accelerated reproduction of promising grape varieties free from viral infection by reducing the cost of expensive drugs. The introduction in nutrient media in addition to mineral salts, the liquid concentrated organomineral drug Humat + 7B, was essential for the growth and development of the explants in *in vitro* conditions.

Key words: grapes, *in vitro*, nutrient medium, reproduction, humate, explant

Введение. Во многих странах мира большое значение в настоящее время придается внедрению в производство интенсивных методов производства высококачественного, оздоровленного от патогенных микроорганизмов и вирусов, посадочного материала винограда и разработке новых высокоэффективных способов закладки виноградников [1, 2].

Известен способ размножения винограда, при котором проводят вычленение меристематических эксплантов, их высадку и культивирование [3], однако в нём для стимуляции микроэксплантов используют электромагнитное СВЧ-поле в комплексе с узкополосным лазерным лучом, что усложняет процесс, повышает затраты.

Известен также способ микроклонального размножения, включающий расчленение пробирочных растений на питательной среде Мурасиге-Скуга с одновременным использованием биопрепаратов [4]. Сложность его заключается в том, что биопрепараты гиббереллиновой и цитокининовой пород выделяют из грибов, которые воздействуют на процессы роста и развития растений на этапе ввода меристем в культуру. Однако экспланты для своего развития требуют дополнительного введения и других элементов для своего развития, что снижает эффективность способа и повышает затраты.

Наиболее близким техническим решением является способ, при котором проводят микроразмножение *in vitro* путем микрочеренкования пробирочных растений и высадку их на жидкую питательную среду с добавлением макроэлементов, витаминов и биопрепаратов [5], однако этот способ требует использования дорогостоящих препаратов для формирования питательной среды, что повышает себестоимость продукции и вызывает необходимость повышения эффективности способов размножения посадочного материала.

Объекты и методы исследований. Предлагаемый нами способ заключается в том, что из состава субстрата Мурасиге-Скуга исключают активированный уголь, снижают содержание соли и кислоты в 2-4 раза и добавляют Гумат+7В в количестве 5-10 мл/л.

Гумат+7В хорошо растворим в воде, легко усваивается растениями, мобилизует их иммунную систему, стимулирует развитие корней, способствует усиленному поступлению питательных веществ, интенсифицирует обменные процессы в растительной клетке, снижает содержание нитратов в 2 раза, увеличивает содержание хлорофилла, витаминов, сахаров и других ценных веществ, усиливает воздействие всех микроэлементов, применяемых в смеси с гуматом.

В отличие от известных видов гуматов предлагаемый Гумат+7В содержит 60-65 % гуминовых кислот, микроэлементы (железо, медь, цинк, марганец, молибден, кобальт и бор). В таком сочетании с преимуществом бора гумат при микрочеренковании винограда не применялся. Бор необходим растениям для нормального роста и развития. Функции бора связаны с метаболизмом, переносом сахаров через мембраны, синтезом ДНК, РНК и фитогормонов, образованием клеточных стенок и развитием тканей.

Растения – регенеранты размерами 8-10 см разрезали на фрагменты, включавшие узел с листом и почкой (нижняя часть междоузлия длиннее верхней на 1,0-1,5 см), полученные микрочеренки высаживали в биологические пробирки размером 40×120 мм на питательную среду. Пробирки закрывали фольгой и помещали в культуральную комнату с соответствующими методике условиями.

Опыт был заложен на сорте винограда Августин в 5-ти вариантах (табл. 1). В каждом варианте по 3 повторности, в каждой повторности по 6 пробирок с микрочеренками. Изучали влияние модифицированных питательных сред на рост и развитие растений винограда в условиях *invitro*.

Технология черенкования пробирочных растений обычная. Наблюдения за растениями проводились в течение 41 дня, ежедневно, отмечая дату появления корней и листьев. Измерения высоты растений, подсчет листьев и основных корней провели через 41 день после черенкования.

Таблица 1 – Состав питательной среды для укоренения и роста пробирочных растений винограда (метод *invitro*)

Наименование препаратов	Вариант 1	Вариант 2	Вариант 3	Вариант 4	Вариант 5
	Контроль, модифицированная среда МС	Питательная среда №1	Питательная среда №2	Питательная среда №3	Питательная среда №4
	мг/л, мл/л				
1	2	3	4	5	6
Агар-агар	7000	7000	7000	7000	7000
Сахароза	15000	20000	20000	10000	10000
KNO ₃ – азотнокислый калий	950			475	475
NH ₄ NO ₃ – азотнокислый аммоний	825			69	69

Продолжение таблицы 1

1	2	3	4	5	6
MgSO ₄ ×7H ₂ O – сернокислый магний	185		185	93	93
CaCl ₂ ×2H ₂ O – хлористый кальций	220		166	83	83
КН ₂ РO ₄ – фосфорно-кислый калий	85			34	34
Мезоинозит	100		50	25	25
KI – йодистый калий	0,42			0,42	0,42
H ₃ BO ₃ – борная кислота	3,1			3,1	3,1
ZnSO ₄ ×2H ₂ O – сернокислый цинк	4,3			4,3	4,3
MnSO ₄ ×4H ₂ O – сернокислый марганец	1,1			1,12	1,12
CuSO ₄ ×5H ₂ O – сернокислый медь	0,025			0,013	0,013
NiCl ₂ – хлористый никель	0,025			0,013	0,013
Никотиновая кислота	1		0,5	0,25	0,25
Пиридоксин В ₆	1		0,5	0,1	0,1
Тиамин В ₁	1		0,2	0,1	0,1
FeSO ₄ ×7H ₂ O – сернокислое железо	27,8			13,9	13,9
Трилон Б Na ₂ ЭДТА×2H ₂ O	37,2			18,6	18,6
Гумат+7В (мл.)		10	10	10	5
Уголь активированный	5000				
pH среды	6,6	6,6	6,6	6,6	6,6

Примечание: Трилон Б предварительно растворенный в 5 мл. бидистиллированной воды

Таблица 2 – Влияние питательных сред на рост и развитие растений винограда при микрочеренковании (метод *in vitro*)
 (через 41 день после черенкования)

Вариант	Кол-во основных корней, шт					Кол-во листьев, шт					Высота растений, см				
	Повторность			Всего	Среднее на 1 растение	Повторность			Всего	Среднее на 1 растение	Повторность			Всего	Среднее на 1 растение
	1	2	3			1	2	3			1	2	3		
Вариант- контроль, модифицированная среда МС	1J	1,5	2,3	5,5	1,8	6,17	5,50	5,83	17,5	5,8	7,0	5,3	6,3	18,6	6,2
Питательная среда №1	2,0	1,5	1,8	5,3	1,8	3,17	3,33	1,00	7,5	2,5	2,2	3	1,2	6,4	2,1
Питательная среда №2	1,7	1,3	1,0	4,0	1,3	0,5	1,00	1,17	2,7	0,9	0,5	0,8	0,7	2,0	0,7
Питательная среда №3	1,7	1,8	1,8	5,3	1,8	6,33	5,50	6,33	18,2	6,1	7,0	6,5	7,3	20,8	6,9
Питательная среда №4	1,8	2,0	2,2	6,0	2,0	6,33	6,50	5,83	18,7	6,2	7,3	7,7	7,8	22,8	7,6
	НСП-1,25					НСП-2,14					НСП-2,39				

Обсуждение результатов. Во всех вариантах опыта начало образования корней у эксплантов винограда отмечено на 8-й день после черенкования, на 13 день укоренились все растения. В варианте 5 отмечено существенное увеличение роста корней, образование листьев началось на десятый день после черенкования, образование листьев на всех других вариантах опыта началось на 13 день.

Дальнейшие наблюдения за ростом и развитием растений винограда показали, что экспланты в вариантах 2 и 3 на бедных питательных средах, хотя и показали вначале неплохие результаты по укоренению, намного отставали в росте и развитии по сравнению с вариантами 1, 4, 5 (табл. 2).

Существенные отличия по количеству корней, листьев и высоте растения наблюдаются в вариантах 4 и 5. У эксплантов, помещенных на эти среды, проходил более интенсивный рост растения и корней, по сравнению с контрольным вариантом (табл. 2). Лучшие результаты по росту и развитию растений показал вариант 5 на питательной среде №4.

За счет добавления Гумата+7В в количестве 5-10 мл/л. в питательных средах №4 и №5 (табл. 1) значительно снижается количество агар-агара, сахарозы, солей натрия, магния, калия и кальция, мезоинозита, сернокислой меди и хлористого никеля, никотиновой кислоты, пиридоксина, тиамина, сернокислого железа, трилона Б, активированного угля. Следовательно, в предлагаемом способе снижаются затраты на питательную среду и повышается его эффективность.

Выводы. Введение в состав питательных сред кроме минеральных солей, жидкого концентрированного органоминерального препарата Гумат+7В, оказало существенное влияние на рост и развитие эксплантов винограда в условиях *invitro*. Существенные различия по количеству корней, листьев и по высоте растения наблюдались в вариантах 4 и 5. У эксплантов, помещенных на эти среды, проходил более интенсивный рост растения в высоту и процесс образования корней, по сравнению с контрольным вариантом. Лучшие результаты по росту и развитию растений показал вариант 5 на питательной среде № 4.

Литература

1. Батукаев, А.А. Совершенствование технологии ускоренного размножения и оздоровления посадочного материала винограда методом *invitro* / А.А. Батукаев. – М.: Изд-во МСХА, 1998. – 222 с.
2. Батукаев, А.А. Совершенствование технологии выращивания саженцев винограда и повышение продуктивности виноградных насаждений / А.А. Батукаев, А.С. Магомадов, Г.П. Малых, М.С. Батукаев // Вестник Чеченского государственного университета. – 2014. – № 1. – С. 223-227
3. Патент № 2120739 Российская Федерация, МПК А01Н4/00. Разведение растений из тканевых культур / Дорошенко Н.П., Лузгин Г.В., Карлов А.Ф.; заявитель и патентообладатель Научно-производственное объединение "Виноград"; заявл.29.03.1995; опубл. 27.10.1998.
4. Патент № 2265319 Российская Федерация, МПК А01Н4/00. Разведение растений из тканевых культур / Дорошенко Н.П., Соколова Г.В.; заявитель и патентообладатель ГНУ Всероссийский НИИ виноградарства и виноделия им. Я.И. Потапенко (ВНИИВиВ); заявл. 11.09.2003, опубл. 10.12.2005.
5. Ребров, А.Н. Введение в культуру *in vitro* новых перспективных столовых сортов винограда / А.Н. Ребров, Н.П. Дорошенко, Л.П. Трошин, Х.К. Алзубайди // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета. – 2016. – № 124. – С. 168-180.