

УДК 634.8:632.38:581.143.6(476)

МОРФОГЕНЕЗ РАСТЕНИЙ-РЕГЕНЕРАНТОВ СОРТОВ ВИНОГРАДА В КУЛЬТУРЕ *in vitro* ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ СИНТЕТИЧЕСКОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

Т. А. КРАСИНСКАЯ^{1), 2)}, А. А. ЗМУШКО¹⁾

¹⁾Институт плодоводства, ул. Ковалева, 2, 223013, агрогородок Самохваловичи, Минский район, Беларусь

²⁾Международный государственный экологический институт им. А. Д. Сахарова БГУ,
ул. Долгобродская, 23, 220070, г. Минск, Беларусь

Изучено влияние биологически активных веществ синтетического происхождения (6-бензиладенин, тидиазурон и кинетин) на морфологическое развитие растений-регенерантов винограда сортов Агат донской и Mars на этапе микроразмножения. Наибольшим потенциалом к геммогенезу обладал сорт Mars. На средах с кинетином у сорта Mars отмечалось корнеобразование. На средах с тидиазурином у сорта Агат донской у основания конгломератов образовывался каллус. Тидиазурон и кинетин на 4-м пассаже вызывали увеличение доли витрифицированных растений от 52,8 до 59,8 % в зависимости от сорта. На 4-м и 5-м пассажах модифицированная питательная среда Мурасиге – Скуга с добавлением 6-бензиладенина в концентрациях 1,1 и 1,5 мг/л способствовала получению большего количества нормально развитых растений-регенерантов при геммогенезе, без негативных явлений, отмечающихся при использовании тидиазурина и кинетина. В среднем для изучаемых сортов применение модифицированной питательной среды Мурасиге – Скуга с 1,1 и 1,5 мг/л 6-бензиладенина способствовало активации геммогенеза, коэффициент размножения составил соответственно 4,3 и 4,7.

Ключевые слова: *Vitis* L.; 6-бензиладенин; тидиазурон; кинетин; культура *in vitro*; микроразмножение винограда.

Благодарность. Работа была выполнена при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (проект № Б17-097).

MORPHOGENESIS OF GRAPE MICROPLANTS IN *in vitro* CULTURE USING BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES OF SYNTHETIC ORIGIN

T. A. KRASINSKAYA^{a, b}, A. A. ZMUSHKO^a

^aInstitute for fruit growing, 2 Kavaliova Street, Samachvalavičy 223013, Minsk region, Belarus

^bInternational Sakharov Environmental Institute, Belarusian State University,
23 Daŭhabrodskaja Street, Minsk 220070, Belarus

Corresponding author: T. A. Krasinskaya (krasinskaya@tut.by)

The aim of research was to study the influence of biologically active substances of synthetic origin (6-benzylaminopurine, thidiazuron and kinetin) on morphological development of microplants of cv. Agat donskoy and Mars on proliferation stage. Cv. Mars has the largest potential for gemmogenesis. On media with kinetin cv. Mars formed roots. On media with thidiazuron cv. Agat donskoy formed callus at base of conglomerate. Thidiazuron and kinetin on 4th subculture cause increase of percent of vitrified plants to 52.8–59.8 % depending on cultivar. During 4th and 5th subcultures modified MS

Образец цитирования:

Красинская ТА, Змушко АА. Морфогенез растений-регенерантов сортов винограда в культуре *in vitro* при использовании биологически активных веществ синтетического происхождения. Журнал Белорусского государственного университета. Биология. 2018;2:95–104.

For citation:

Krasinskaya TA, Zmushko AA. Morphogenesis of grape microplants in *in vitro* culture using biologically active substances of synthetic origin. Journal of the Belarusian State University. Biology. 2018;2:95–104 (in Russ.).

Авторы:

Татьяна Анатольевна Красинская – кандидат биологических наук; старший научный сотрудник отдела биотехнологии¹⁾; доцент кафедры общей биологии, экологии и экологической генетики²⁾.

Александр Александрович Змушко – кандидат сельскохозяйственных наук; научный сотрудник отдела биотехнологии.

Authors:

Tatiana A. Krasinskaya, PhD (biology); senior researcher at the department of biotechnology^a; associate professor at the department of general biology, ecology and ecological genetics^b. krasinskaya@tut.by

Alexandr A. Zmushko, PhD (agricultural sciences); researcher at the department of biotechnology. temlein2015@yandex.ru

culture with 1.1 and 1.5 mg/l BAP resulted in large number of normal developed microplants during gemmogenesis, without negative effects detected when using thidiazuron and kinetin. On average, for studied cultivars, use of modified MS culture with 1.1 and 1.5 mg/l BAP promoted activation of gemmogenesis, propagation coefficient was 4.3 and 4.7.

Key words: *Vitis* L.; 6-benzylaminopurine; thidiazuron; kinetin; *in vitro* culture; micropropagation of grape.

Acknowledgements. The work was performed with financial support of Belarusian Republican Foundation for Fundamental Research (project No. B17-097).

Введение

На этапе микроразмножения межвидовых гибридов применяют модифицированные среды Мура-сиге – Скуга (MS) [1–6], Chee et al. (C₂D) [5; 6], содержащие в основном бензиламинопурин (БАП) в качестве цитокинина в концентрациях от 0,1 до 5,0 мг/л [1–6]. В наших предыдущих исследованиях на примере сортов Платовский и Crystall не наблюдалось достоверной разницы в морфогенезе при использовании различного минерального состава модифицированных сред MS и C₂D [5]. Но многочисленные работы зарубежных коллег показывают, что эффективность микроразмножения определяется и гормональным составом, и генотипом растений.

Итальянские исследователи, изучая шесть сортов винограда: три генотипа Lambrusco (L. Salamino, L. Sorbara и L. Marani), Trebbiano modenese, Malbo gentile и Ancelotta, отметили, что использование невысокой концентрации БАП 0,55 мг/л способствовало элонгации растений-регенерантов, за исключением двух генотипов [6]. Также показано, что повышение концентрации БАП до 2,0 мг/л приводило к утолщению и снижению интенсивности роста основного побега, но способствовало интенсивному образованию адвентивных побегов у 15,0–32,8 % эксплантов [1]. Основным недостатком сред с повышенной концентрацией БАП являлось формирование небольших по длине междоузлий, что затрудняло дальнейшее черенкование побегов. Микропобеги, выращиваемые на среде с очень низкой концентрацией БАП (0,1 мг/л), развивались крайне медленно. Это, вероятно, связано с тем, что такие низкие концентрации препарата слабо стимулируют процессы органогенеза растений. Высокие же концентрации (5 мг/л) вызвали некроз тканей: верхушки чернели и гибли [2].

В [3] изучено влияние различных цитокининов (БАП, тидиазурон (TDZ), зеатин, 2-изопентиладеннин (2iP) и кинетин), применяемых как по отдельности, так и в комбинации, на примере двух сортов винограда: Cabernet Sauvignon и Campbell Early. Установлено, что для этих генотипов максимальный коэффициент размножения (до 10,3) отмечался на среде с 2,2 мг/л БАП.

Добавление в среду только TDZ способствовало значительному увеличению сырой массы и формированию каллуса, в то время как рост побегов был неудовлетворительным. Однако активация геммогенеза определялась в первую очередь генотипом. Так, при комбинации TDZ и зеатина (5 µM : 5 µM) получали 9,9 растений-регенерантов сорта Campbell Early на эксплант, при комбинации БАП и зеатина максимальный коэффициент размножения 7,0 отмечался у сорта Cabernet Sauvignon [3].

Цель работы – изучить влияние биологически активных веществ синтетического происхождения (6-бензиладенин (6-БА), TDZ и кинетин) на морфогенез растений-регенерантов рода *Vitis* L. (сорта Агат донской и Mars) на этапе микроразмножения.

Материалы и методы исследований

Объекты исследований: Агат донской и Mars.

Агат донской – столовый сорт винограда ((Заря севера × Долорес) × Русский ранний); ВНИИВиВ имени Я. И. Потапенко, Россия. Морозоустойчив: –26 °С. Повышенно устойчив к милдью, серой гнили. Пригоден для выращивания в неукрывной культуре в районах укрывного виноградарства.

Mars – бессемянный виноград столового назначения, изабельный сорт. Генетическая формула: 25 % *Vitis vinifera* + 75 % *Vitis labrusca*. Морозоустойчивость: –25...–26 °С. Высокоустойчив к грибным заболеваниям. Рекомендуются для беседочной культуры. Достаточно транспортабельный.

Питательная среда на этапе микроразмножения *in vitro*: модифицированная среда MS, содержащая различные концентрации 6-БА, кинетина и TDZ (табл. 1).

Показатели процесса микроразмножения:

- коэффициент размножения;
- доля витрифицированных растений, %;
- доля каллусообразования, %;
- доля растений с корнями, %;
- доля нормально развитых стерильных эксплантов, %.

Условия культивирования растений: освещение 2,5–3,0 тыс. лк (лампы Philips ЛД-54, 36W), температура +23...+25 °С, фотопериод 16/8 ч. Длительность культивирования 28 дней. Исследования проводили на пассажах 4 и 5.

Таблица 1

Гормональный состав питательных сред
на этапе микроразмножения

Table 1

Hormonal composition of nutrition medium
at the micropropagation stage

Обозначение среды	Биологически активные вещества	Концентрация, мг/л
MS1.1ba	6-БА	1,1
MS1.5ba	6-БА	1,5
MS2ba	6-БА	2,0
MS1.1kin	Кинетин	1,1
MS1.5kin	Кинетин	1,5
MS2kin	Кинетин	2,0
MS0.22tdz	TDZ	0,22
MS1.1tdz	TDZ	1,1
MS2tdz	TDZ	2,0

Статистическую обработку проводили в программе *Statistica 10.0*, используя ANOVA, одно- и многофакторный анализ, критерий Дункана для сравнения средних величин при $P = 0,95$. Одинаковые буквенные значения в строках или в столбцах означают недостоверность различий между средними величинами. Материал представлен в виде: среднее значение $\pm$ средняя статистическая ошибка.

Результаты и их обсуждение

Анализ данных показал, что эффективность этапа микроразмножения с высокой степенью достоверности ($p < 0,001$) определялась генотипом растения, видом биологически активных веществ и выбранной его концентрацией в питательной среде.

Пассаж 4. Наибольший потенциал к геммогенезу отмечался у сорта Mars ($3,6 \pm 0,39$) и был почти в 2 раза выше, чем у сорта Агат донской ($1,9 \pm 0,13$) (табл. 2). В то же время 24,0 % конгломератов Mars были витрифицированы, у 4,2 % растений сорта Агат донской у основания конгломерата образовывался каллус.

Таблица 2

Развитие растений-регенерантов на средах с различными
биологически активными веществами на 4-м пассаже

Table 2

Regenerant development on mediums with different
biological active substances during 4th subculture

Сорт (фактор А)	Среда (фактор В)	Коэффициент размножения	Доля витрифицированных растений, %	Доля каллусообразования, %	Доля растений с корнями, %
Агат донской	MS1.1ba	$2,0 \pm 0,03h$	$0 \pm 0,00e$	$0 \pm 0,00c$	$0 \pm 0,00b$
	MS1.5ba	$3,1 \pm 0,03e$	$6,7 \pm 3,33e$	$0 \pm 0,00c$	$0 \pm 0,00b$
	MS2ba	$2,9 \pm 0,07f$	$33,3 \pm 0,00c$	$0 \pm 0,00c$	$0 \pm 0,00b$
	MS1.1kin	$1,5 \pm 0,03l$	$0 \pm 0,00e$	$0 \pm 0,00c$	$0 \pm 0,00b$
	MS1.5kin	$1,0 \pm 0,00m$	$0 \pm 0,00e$	$0 \pm 0,00c$	$0 \pm 0,00b$
	MS2kin	$1,0 \pm 0,00m$	$0 \pm 0,00e$	$0 \pm 0,00c$	$0 \pm 0,00b$
	MS0.22tdz	$1,8 \pm 0,06jk$	$58,9 \pm 4,85b$	$0 \pm 0,00c$	$0 \pm 0,00b$
	MS1.1tdz	$1,9 \pm 0,03j$	$23,3 \pm 3,33d$	$13,3 \pm 3,03b$	$0 \pm 0,00b$
	MS2tdz	$2,2 \pm 0,00g$	$51,5 \pm 1,5b$	$24,1 \pm 3,33a$	$0 \pm 0,00b$

Окончание табл. 2
Ending table 2

Сорт (фактор А)	Среда (фактор В)	Коэффициент размножения	Доля витрифицированных растений, %	Доля каллусообразования, %	Доля растений с корнями, %
Mars	MS1.1ba	5,6 ± 0,03b	7,0 ± 2,53e	0 ± 0,00c	0 ± 0,00b
	MS1.5ba	6,3 ± 0,03a	0 ± 0,00e	0 ± 0,00c	0 ± 0,00b
	MS2ba	6,3 ± 0,00a	0 ± 0,00e	0 ± 0,00c	0 ± 0,00b
	MS1.1kin	1,7 ± 0,00k	0 ± 0,00e	0 ± 0,00c	14,3 ± 0a
	MS1.5kin	1,1 ± 0,07m	0 ± 0,00e	0 ± 0,00c	12,2 ± 6,19a
	MS2kin	1,1 ± 0,00m	0 ± 0,00e	0 ± 0,00c	17,3 ± 3,90a
	MS0.22tdz	3,9 ± 0,07c	58,3 ± 4,17b	0 ± 0,00c	0 ± 0,00b
	MS1.1tdz	3,4 ± 0,07d	96,3 ± 3,70a	0 ± 0,00c	0 ± 0,00b
	MS2tdz	3,5 ± 0,03d	54,2 ± 4,17b	0 ± 0,00c	0 ± 0,00b
Среднее по фактору А					
Агат донской		1,9 ± 0,13b	19,3 ± 4,42b	4,2 ± 1,66a	0 ± 0,00b
Mars		3,6 ± 0,39a	23,9 ± 6,73a	0 ± 0,00b	4,9 ± 1,53a
Среднее по фактору В					
MS1.1ba		3,8 ± 0,79c	3,5 ± 2,23d	0 ± 0,00c	0 ± 0,00b
MS1.5ba		4,7 ± 0,72a	3,3 ± 2,11d	0 ± 0,00c	0 ± 0,00b
MS2ba		4,6 ± 0,77b	16,7 ± 7,45c	0 ± 0,00c	0 ± 0,00b
MS1.1kin		1,6 ± 0,05e	0 ± 0,00d	0 ± 0,00c	7,2 ± 3,19a
MS1.5kin		1,0 ± 0,03g	0 ± 0,00d	0 ± 0,00c	6,1 ± 3,89a
MS2kin		1,1 ± 0,02g	0 ± 0,00d	0 ± 0,00c	8,6 ± 4,24a
MS0.22tdz		2,9 ± 0,48f	58,6 ± 2,86a	12,0 ± 5,55a	0 ± 0,00b
MS1.1tdz		2,7 ± 0,35d	59,8 ± 16,5a	6,7 ± 3,33b	0 ± 0,00b
MS2tdz		2,8 ± 0,28f	52,8 ± 2,07b	0 ± 0,00c	0 ± 0,00b

Биологически активные вещества с высокой степенью достоверности ($p < 0,001$) оказывали влияние на морфогенез растений-регенерантов. Так, 6-БА способствовал активизации закладки в растения пазушных почек и их развития в конгломерате по сравнению с TDZ и кинетином. Максимальное значение коэффициента размножения отмечалось на среде с использованием 1,5 и 2,0 мг/л 6-БА и составляло 4,7 и 4,6 соответственно (см. табл. 2). Однако на питательной среде с 2,0 мг/л 6-БА 16,6 % конгломератов были витрифицированы, что является отрицательным явлением при микроразмножении.

Влияние TDZ и кинетина на морфогенез растений-регенерантов определялось генотипом. Только у сорта Агат донской TDZ в концентрациях 0,22 и 1,1 мг/л вызывал каллусообразование (см. табл. 2). Витрификация отмечалась у обоих изучаемых сортов. В среднем по сортам доля витрификации составила 52,8–59,8 %.

У сорта Mars кинетин вызывал корнеобразование: доля растений-регенерантов с корнями 12,2–17,3 %. В целом на среде с кинетином отмечался очень слабый геммогенез: коэффициент размножения в зависимости от концентрации варьировал от 1,0 до 1,7.

Таким образом, на 4-м пассаже модифицированная питательная среда MS с добавлением 6-БА в концентрациях 1,1 и 1,5 мг/л способствовала получению большего количества нормально развитых растений-регенерантов при геммогенезе, без негативных явлений, отмечающихся при использовании TDZ и кинетина.

Пассаж 5. Морфогенез растений-регенерантов на 5-м пассаже изучали на питательных средах, содержащих 6-БА в концентрациях 1,1; 1,5 и 2,0 мг/л и TDZ в концентрациях 0,22; 1,1 и 2,0 мг/л. Кинетин, как биологически активное вещество, был исключен из эксперимента в связи с низким результатом геммогенеза у обоих изучаемых сортов винограда. В ходе статистической обработки было отмечено высокодостоверное ($p < 0,001$) влияние генотипа растений, гормонального состава питательных сред и номера пассажа на морфогенез.

На 5-м пассаже, как и на 4-м, активность геммогенеза растений определялась генотипом. Наибольший потенциал к геммогенезу сохранился у сорта Mars, у которого коэффициент размножения в среднем по всем изучаемым средам составил 3,6, идентично показателю на 4-м пассаже (см. табл. 2 и 3). В то же время доля витрифицированных растений увеличилась почти в 2 раза по сравнению с 4-м пассажем и была высокой для обоих сортов независимо от генотипа: 56,7 % – у сорта Агат донской и 59,0 % – у сорта Mars.

Таблица 3

Влияние генотипа на морфогенез растений-регенерантов
на этапе микроразмножения на 5-м пассаже

Table 3

The influence of genotype on regenerant morphogenesis
at the micropropagation stage during 5th subculture

Сорт	Коэффициент размножения	Доля витрифицированных растений, %
Агат донской	$1,7 \pm 0,24b$	$56,7 \pm 10,14a$
Mars	$3,6 \pm 0,63a$	$58,9 \pm 8,91a$

По сравнению с 4-м пассажем на 5-м пассаже в среднем по всем изучаемым сортам отмечалось снижение коэффициента размножения на средах с высокой концентрацией 6-БА (2 мг/л) и на всех средах с TDZ (рис. 1).

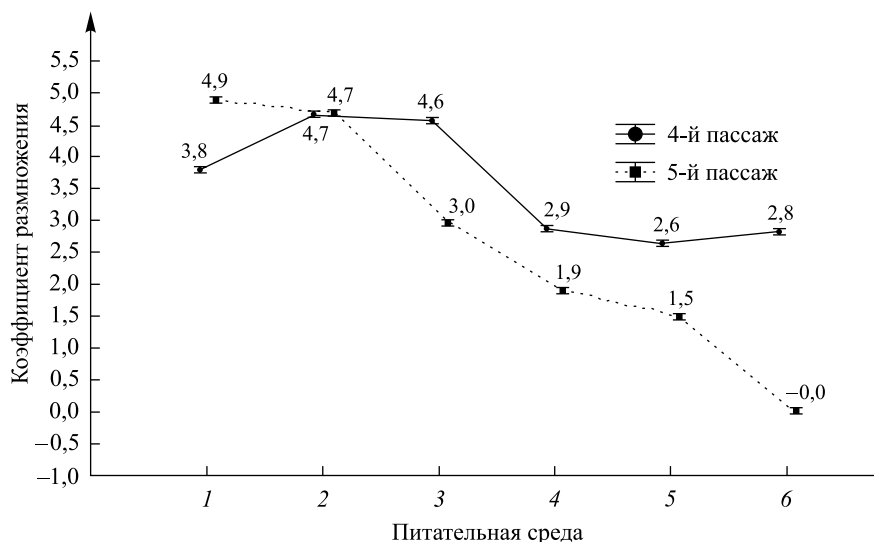


Рис. 1. Коэффициент размножения на 4-м и 5-м пассажах
в среднем по сортам Агат донской и Mars:

1 – среда MS + 1,1 мг/л 6-БА; 2 – среда MS + 1,5 мг/л 6-БА;
3 – среда MS + 2,0 мг/л 6-БА; 4 – среда MS + 0,22 мг/л TDZ;
5 – среда MS + 1,1 мг/л TDZ; 6 – среда MS + 2,0 мг/л TDZ

Fig. 1. Micropropagation rate during 4th and 5th subcultures
in average of cultivars Agat donskoy and Mars:

1 – medium MS + 1.1 mg/l 6-BA; 2 – medium MS + 1.5 mg/l 6-BA;
3 – medium MS + 2.0 mg/l 6-BA; 4 – medium MS + 0.22 mg/l TDZ;
5 – medium MS + 1.1 mg/l TDZ; 6 – medium MS + 2.0 mg/l TDZ

Активация геммогенеза отмечалась только у сорта Mars под влиянием 6-БА в концентрации 1,1 мг/л, коэффициент размножения на этой среде составил 7,4, на 4-м пассаже данный показатель был 5,6 (рис. 2). У сорта Агат донской максимальное значение коэффициента размножения (2,9) на 5-м пассаже отмечалось на среде с 1,5 мг/л 6-БА, данная тенденция имела место и на 4-м пассаже. Но на этой среде увеличился показатель витрификации в 3,2 раза и доля витрифицированных конгломератов составила 21,2 % (табл. 4), в то время как на среде с 1,1 мг/л 6-БА коэффициент размножения достигал 2,3, а витрификации у растений не наблюдалось.

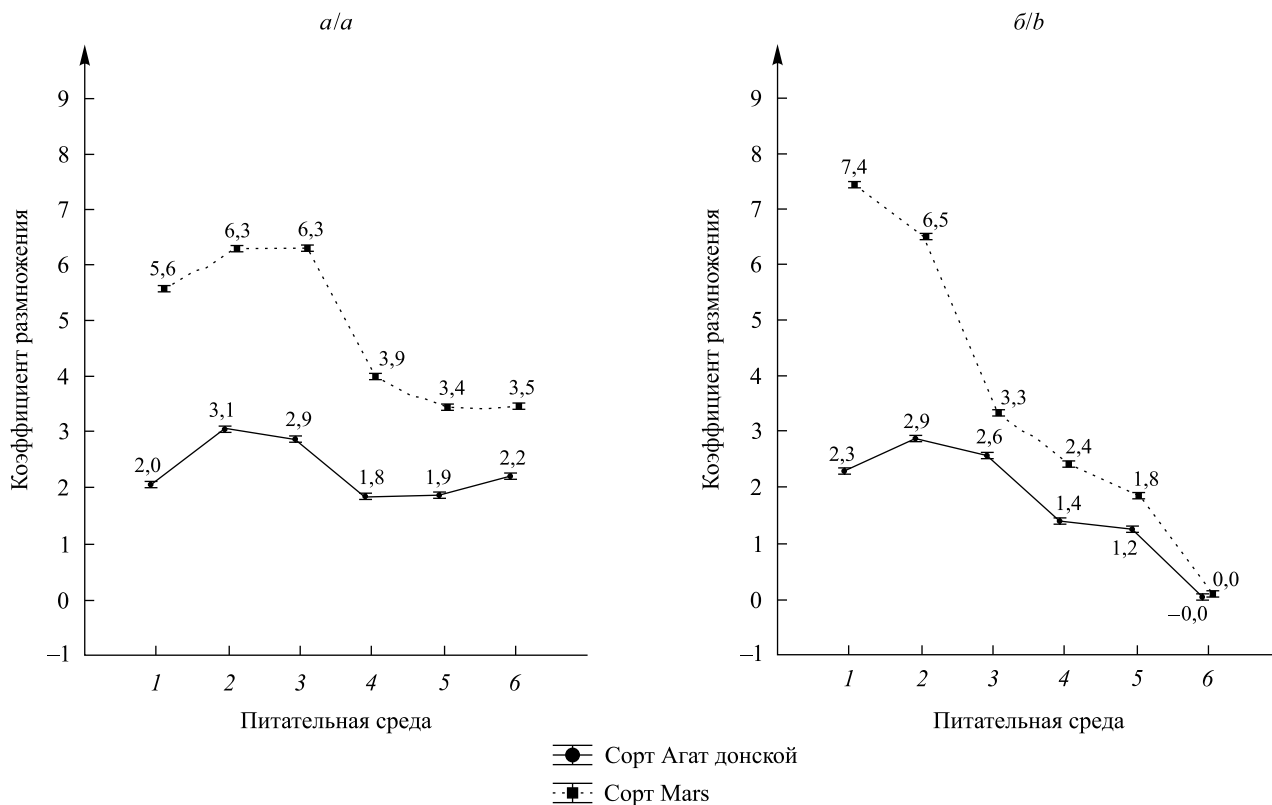


Рис. 2. Коэффициент размножения у сортов Агат донской и Mars на средах с различными биологически активными веществами на 4-м (а) и 5-м (б) пассажах:

1 – среда MS + 1,1 мг/л 6-БА; 2 – среда MS + 1,5 мг/л 6-БА;
3 – среда MS + 2,0 мг/л 6-БА; 4 – среда MS + 0,22 мг/л TDZ;
5 – среда MS + 1,1 мг/л TDZ; 6 – среда MS + 2,0 мг/л TDZ

Fig. 2. Micropropagation rate of cv. Agat donskoy and Mars on the mediums with different biological active substabces during 4th (a) and 5th (b) subcultures:

1 – medium MS + 1.1 mg/l 6-BA; 2 – medium MS + 1.5 mg/l 6-BA;
3 – medium MS + 2.0 mg/l 6-BA; 4 – medium MS + 0.22 mg/l TDZ;
5 – medium MS + 1.1 mg/l TDZ; 6 – medium MS + 2.0 mg/l TDZ

Таблица 4

Доля витрифицированных растений на 4-м и 5-м пассажах

Table 4

Vitrification percent during 4th and 5th subculture

Сорт	Пассаж	Гормональный состав сред	Доля витрифицированных растений-регенерантов, %
Агат донской	4	MS1.1ba	0 ± 0,00f
		MS1.5ba	6,7 ± 3,33f
		MS2ba	33,3 ± 0,00d
		MS0.22tdz	58,9 ± 4,85c
		MS1.1tdz	23,3 ± 3,33e
		MS2tdz	51,5 ± 1,50c
	5	MS1.1ba	0 ± 0,00f
		MS1.5ba	21,2 ± 3,03e
		MS2ba	26,2 ± 1,20de
		MS0.22tdz	100,0 ± 0,00a
		MS1.1tdz	92,6 ± 3,70a
		MS2tdz	100,0 ± 0,00a

Окончание табл. 4
Ending table 4

Сорт	Пассаж	Гормональный состав сред	Доля витрифицированных растений-регенерантов, %
Mars	4	MS1.1ba	7,0 ± 3,53f
		MS1.5ba	0 ± 0,00f
		MS2ba	0 ± 0,00f
		MS0.22tdz	58,3 ± 4,17c
		MS1.1tdz	96,3 ± 3,70a
		MS2tdz	54,2 ± 4,17c
	5	MS1.1ba	0 ± 0,00f
		MS1.5ba	26,7 ± 3,33de
		MS2ba	56,7 ± 3,33c
		MS0.22tdz	70,4 ± 3,70b
		MS1.1tdz	100,0 ± 0,00a
		MS2tdz	100,0 ± 0,00a

Витрификация рассматривается как негативное явление при микроразмножении. Увеличение доли витрифицированных растений в 7,2 раза на 5-м пассаже отмечалось даже на питательной среде с относительно невысокой концентрацией 6-БА – 1,5 мг/л (рис. 3). В среднем по сортам максимальная потеря растений от витрификации наблюдалась на средах с TDZ, доля витрифицированных конгломератов варьировала от 85,2 до 100,0 % в зависимости от концентрации TDZ (рис. 4 и 5).

Проанализировав морфогенез растений рода *Vitis* L. на примере сортов Агат донской и Mars, взяв за основу процессы, происходящие на 4-м и 5-м пассажах, можно сделать вывод о том, что для данных сортов использование модифицированной питательной среды MS с 1,1 и 1,5 мг/л 6-БА оптимально для активации геммогенеза и получения большого количества нормально развитых растений-регенерантов. Несмотря на то что коэффициент размножения был достоверно выше на среде с 1,5 мг/л 6-БА по сравнению с таковым на среде с 1,1 мг/л, доля витрифицированных растений на средах с более высокими концентрациями цитокинина в 8,5 раза была выше (рис. 6 и 7).

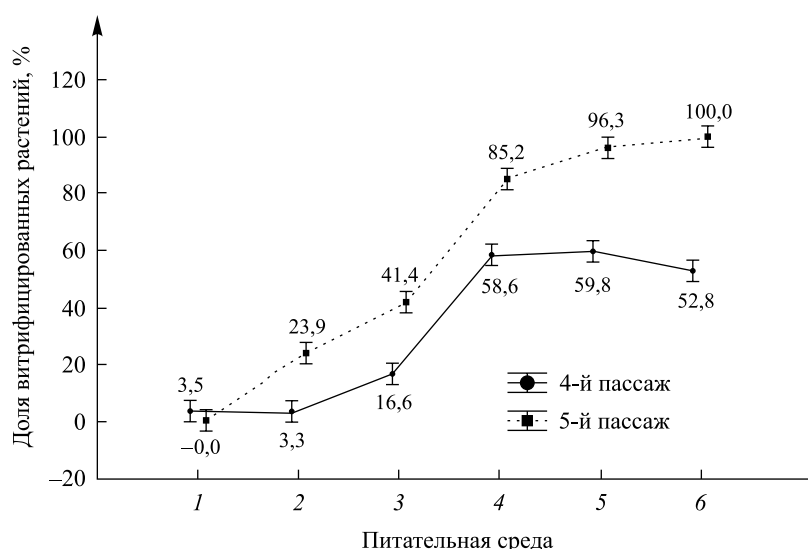


Рис. 3. Доля витрифицированных растений на 4-м и 5-м пассажах в среднем по сортам Агат донской и Mars: 1 – среда MS + 1,1 мг/л 6-БА; 2 – среда MS + 1,5 мг/л 6-БА; 3 – среда MS + 2,0 мг/л 6-БА; 4 – среда MS + 0,22 мг/л TDZ; 5 – среда MS + 1,1 мг/л TDZ; 6 – среда MS + 2,0 мг/л TDZ

Fig. 3. Vitrification percent of regenerants in average for cv. Agat donskey and Mars for two subcultures: 1 – medium MS + 1.1 mg/l 6-BA; 2 – medium MS + 1.5 mg/l 6-BA; 3 – medium MS + 2.0 mg/l 6-BA; 4 – medium MS + 0.22 mg/l TDZ; 5 – medium MS + 1.1 mg/l TDZ; 6 – medium MS + 2.0 mg/l TDZ

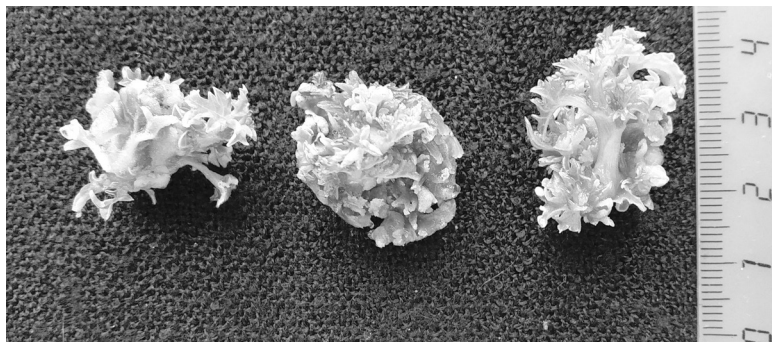


Рис. 4. Витрификация растений-регенерантов сорта Mars на среде MS + 2,0 мг/л TDZ на 5-м пассаже

Fig. 4. Plant vitrification on the medium MS + 2.0 mg/l TDZ during 5th subculture

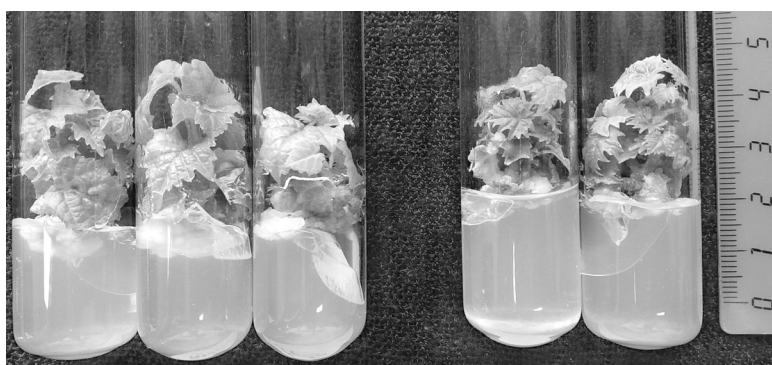


Рис. 5. Вид нормально развитых растений-регенерантов сорта Mars на 5-м пассаже на среде с 1,1 мг/л 6-БА

Fig. 5. The view of normal developed regenerants of cv. Mars on 5th subculture on the medium with 1.1 mg/l 6-BA

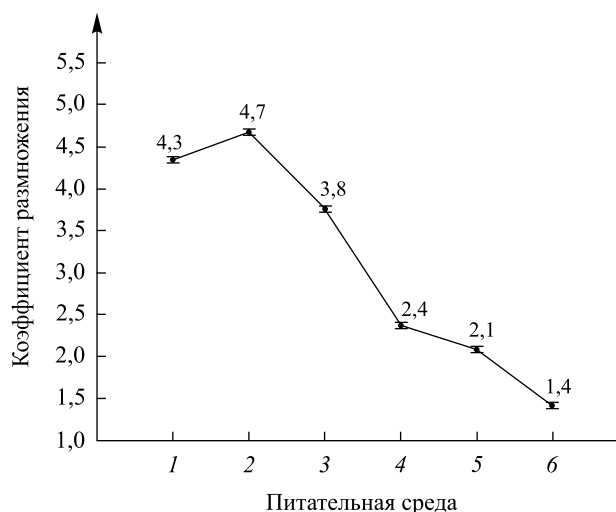


Рис. 6. Коэффициент размножения растений винограда Агат донской и Mars в среднем по двум пассажам:

1 – среда MS + 1,1 мг/л 6-БА; 2 – среда MS + 1,5 мг/л 6-БА;
3 – среда MS + 2,0 мг/л 6-БА; 4 – среда MS + 0,22 мг/л TDZ;
5 – среда MS + 1,1 мг/л TDZ; 6 – среда MS + 2,0 мг/л TDZ

Fig. 6. Micropropagation rate of cv. Agat donskoy and Mars in average for two subcultures:

1 – medium MS + 1.1 mg/l 6-BA; 2 – medium MS + 1.5 mg/l 6-BA;
3 – medium MS + 2.0 mg/l 6-BA; 4 – medium MS + 0.22 mg/l TDZ;
5 – medium MS + 1.1 mg/l TDZ; 6 – medium MS + 2.0 mg/l TDZ

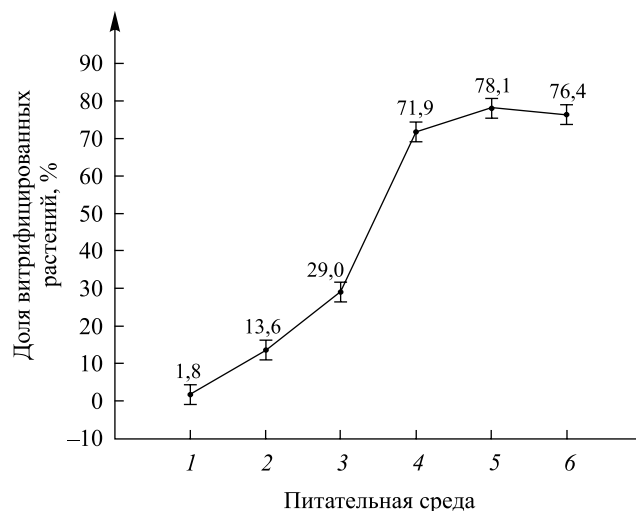


Рис. 7. Доля витрифицированных растений винограда Агат донской и Mars в среднем по двум пассажам:

1 – среда MS + 1,1 мг/л 6-БА; 2 – среда MS + 1,5 мг/л 6-БА;
3 – среда MS + 2,0 мг/л 6-БА; 4 – среда MS + 0,22 мг/л TDZ;
5 – среда MS + 1,1 мг/л TDZ; 6 – среда MS + 2,0 мг/л TDZ

Fig. 7. Vitrification percent of cv. Agat donskoy and Mars in average for two subcultures:

1 – medium MS + 1.1 mg/l 6-BA; 2 – medium MS + 1.5 mg/l 6-BA;
3 – medium MS + 2.0 mg/l 6-BA; 4 – medium MS + 0.22 mg/l TDZ;
5 – medium MS + 1.1 mg/l TDZ; 6 – medium MS + 2.0 mg/l TDZ

Закключение

Наибольшим потенциалом к геммогенезу обладал сорт винограда Mars. Данная тенденция сохранялась на двух изучаемых пассажах.

Отмечалось влияние генотипа на морфогенез растений-регенерантов при воздействии в среде различных биологически активных веществ: 6-БА, TDZ и кинетина. У сорта Mars на средах с кинетином наблюдалось образование корней, на среде с 0,22 мг/л TDZ – покраснение стеблей и листьев. У сорта Агат донской на средах с TDZ у основания конгломератов образовывался каллус.

TDZ и кинетин вызывали увеличение доли витрифицированных растений у обоих сортов, что является негативным при микроразмножении.

На 4-м и 5-м пассажах модифицированная питательная среда MS с добавлением 6-БА в концентрациях 1,1 и 1,5 мг/л способствовала получению большего количества нормально развитых растений-регенерантов при геммогенезе, без негативных явлений, отмечающихся при использовании TDZ и кинетина. В среднем для изучаемых сортов 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.

Библиографические ссылки

1. Бугаенко ЛО, Иванова-Ханина ЛВ. Морфогенез винограда в культуре *in vitro*. Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского. Серия: Биология, химия. 2011;24(63-2):73–82.
2. Батукаев АА, Эдиева Х, Батукаев МС. Биотехнологические методы ускоренного размножения винограда. Научные труды ГНУ СКЗНИИСиВ. 2013;1:271–275.
3. Kim S-H, Kim S-K. Effect of cytokinins on *in vitro* growth of grapes (*Vitis* spp.). *Journal of Plant Biotechnology*. 2002;29(2):123–127. DOI: 10.5010/JPB.2002.29.2.123.
4. Gray DJ, Klein CM. *In vitro* shoot micropropagation and plant establishment of «Orlando Seedless» grape and «Tampa» rootstock. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society*. 1987;100:308–309.
5. Krasinskaya T, Kolbanova E. Grape viruses in Belarus. *Acta horticulture*. 2017;1188:307–311. DOI: 10.17660/ActaHortic.2017.1188.40.
6. Enrico G, Imazio SA, Sgarbi E. *In vitro* propagation of Italian cultivars of *Vitis vinifera* and evaluation of genetic stability by SSRs markers. *Acta horticulture*. 2017;1155:165–172. DOI: 10.17660/ActaHortic.2017.1155.23.

References

1. Bugaenko LO, Ivanova-Hanina LV. Morfogenez vinograda v kul'ture *in vitro* [Morphogenesis of grape in *in vitro* culture]. *Uchenye zapiski Tavricheskogo natsional'nogo universiteta im. V. I. Vernadskogo. Seriya: Biologiya, khimiya*. 2011;24(63-2):73–82 (in Russ.).
2. Batukaev AA, Edieva H, Batukaev MS. Biotechnological methods of accelerated reproduction of grapes varieties. *Nauchnye trudy GNIISiV*. 2013;1:271–275 (in Russ.).
3. Kim S-H, Kim S-K. Effect of cytokinins on *in vitro* growth of grapes (*Vitis* spp.). *Journal of Plant Biotechnology*. 2002;29(2):123–127. DOI: 10.5010/JPB.2002.29.2.123.
4. Gray DJ, Klein CM. *In vitro* shoot micropropagation and plant establishment of «Orlando Seedless» grape and «Tampa» rootstock. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society*. 1987;100:308–309.
5. Krasinskaya T, Kolbanova E. Grape viruses in Belarus. *Acta horticulture*. 2017;1188:307–311. DOI: 10.17660/ActaHortic.2017.1188.40.
6. Enrico G, Imazio SA, Sgarbi E. *In vitro* propagation of Italian cultivars of *Vitis vinifera* and evaluation of genetic stability by SSRs markers. *Acta horticulture*. 2017;1155:165–172. DOI: 10.17660/ActaHortic.2017.1155.23.

Статья поступила в редколлегию 14.05.2018.
Received by editorial board 14.05.2018.