

УДК 634.8:581.16

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ РИЗОГЕНЕЗА НЕКОТОРЫХ СОРТОВ ВИНОГРАДА В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO*

Ш.К. Ясаулова¹, Х.И. Бободжанова¹, Н.В. Кухарчик²

¹Центр биотехнологии Таджикского национального университета,
пр. Рудаки, 17, г. Душанбе, 734025, Таджикистан,
e-mail: bobojankh_7@bk.ru

²РУП «Институт плодоводства»,
ул. Ковалева, 2, аг. Самохваловичи, Минский район, 223013, Беларусь,
e-mail: nkykhartchik@gmail.com

РЕЗЮМЕ

Исследования проводили в Центре биотехнологии Таджикского национального университета в период 2014–2015 гг. В работе приведены данные по ризогенезу *in vitro* растений-регенерантов следующих сортов винограда – Анзоб, Нимранг, Мухчалони и Думи рубох. Приводятся данные по таким морфозиологическим показателям как: среднее значение длины побегов (см), длины главного корня (см) и процент выживаемости на этапе ризогенеза *in vitro*.

Получена достаточно высокая результативность ризогенеза в культуре *in vitro* (84,82 %) в среднем по всем сортам. Растения-регенеранты всех исследованных сортов имеют хорошо развитую корневую систему, побеги и листовую массу. Высота побегов и длина корня растений-регенерантов исследованных объектов варьирует от 12,50 до 13,80 см и 5,04–6,08 см соответственно.

Ключевые слова: клональное микроразмножение, ризогенез, виноград, культура *in vitro*, растение-регенерант, Таджикистан.

ВВЕДЕНИЕ

Одной из важнейших промышленных культур Таджикистана является виноград, который характеризуется высокой эффективностью производства. В ряде районов Таджикистана имеются исключительно благоприятные почвенные и климатические потенциалы и богатые традиции культуры винограда. Перспективным направлением развития виноградарства в республике является производство столового винограда для внутреннего потребления и для экспорта за пределы республики. В целевой программе республики определены задачи по специализации и перспективам развития виноградарства в различных районах, с учётом максимального привлечения трудовых ресурсов и применения прогрессивных технологий выращивания столовых и кишмишных сортов винограда. Главными задачами в развитии виноградарства республики определены увеличение урожайности виноградников, повышение эффективности виноградарства [1].

Однако современное виноградарство должно базироваться на производстве сертифицированного посадочного материала.

Современная технология производства оздоровленного посадочного материала включает биотехнологические приемы, оздоровление с использованием культуры изолированных апексов, ускоренное размножение экземпляров на искусственных питательных средах [2].

Инновационные процессы питомниководства винограда, направленные на получение при помощи биотехнологии высококачественного посадочного материала, являются основой долговечности и рентабельности многолетних насаждений. В связи с этим этому направлению уделяется особое внимание. Вирусные и фитоплазменные заболевания, в силу хронического характера и высокой вредоносности, становятся постоянным фактором, снижающим количество и качество урожая, являются одной из причин ранней изреженности виноградников [3].

По данным ряда исследователей, способность растений к размножению в условиях *in vitro* зависит от индивидуальных особенностей сорта [4]. Выявление оптимальных условий роста и развития растений в культуре *in vitro* позволяет реализовать высокие коэффициенты размножения, получить адаптированные к условиям *in vitro* растения-регенеранты, снизить материальные затраты.

Важным этапом микроклонального размножения является укоренение микро-растений в условиях *in vitro*. Процесс корнеобразования – это серия различных биохимических, физиологических и гистологических событий. Близость к сосудистым тканям предрасполагает клетки закладывать корневые примордии. Место заложения корней влияет на жизнеспособность укорененных растений, особенно полученных *in vitro* [5].

Ризогенез микро-растений – способность побегов к укоренению *in vitro* во многом определяет эффективность технологии микроклонального размножения. Эффективность этого важного этапа зависит от таких факторов, как сортовые особенности, число пассажей, концентрация гормонов и другие.

В литературе известны исследования, в которых ризогенез проводят в жидких питательных средах. Регенеранты высаживают на бумажные мостики. Состав среды обедненный. В ней содержится половинное количество макро- и микроэлементов, концентрация сахарозы – 10 г/л и полный набор витаминов. Кроме того, в среду для стимуляции ризогенеза добавляют ауксины: β -индолилуксусная кислота или α -нафтилуксусная кислота в концентрации 0,2 мг/л. Для лучшего укоренения целесообразно брать побеги высотой 2,5-3 см с двумя-тремя хорошо развитыми листочками [6].

Цель данного этапа исследований заключалась в определении эффективности укоренения *in vitro* микропобегов различных сортов винограда и определении их морфологических показателей.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования проводили в Центре биотехнологии Таджикского национального университета в период 2014–2015 гг. Для изучения были выбраны сорта винограда Анзоб, Нимранг, Мухчалони и Думи рубох. Данные сорта относятся к столовым и перспективны для культивирования в условиях страны.

Анзоб – столово-изюмный сорт винограда среднепозднего периода созревания. Сорт получен от скрещивания (Катта-Курган х Мускат александрийский) и Султани в Таджикском НИИ земледелия. Период от распускания почек до потребительской зрелости ягод составляет 140-150 дней при сумме активных температур 3100°-3300 °С.

Кусты сильнорослые. Листья средние и крупные, округлые, пятилопастные, средне- и глубококорассеченные, воронковидно-желобчатые, сетчато-морщинистые, с нижней стороны сильно опушенные. Цветок обоеполый. Грозди крупные, средней плотности. Ягоды крупные, обратнояйцевидные или овальные, зеленовато-желтые. Кожица прочная. Мякоть мясистая, хрустящая, с сортовым виноградным привкусом. Выхревание побегов хорошее. Урожайность – 250-270 ц/га. Сорт Анзоб относительно устойчив к антракнозу, сравнительно – к оидиуму и гроздевой листовертке [7].

Нимранг – (синонимы: Ангур Колен, Ширбанды, Крымский). Столовый сорт винограда. Предполагают, что сорт произошел от посева семян неизвестного происхождения в Ура-Тюбинском районе Таджикистана, откуда распространился в Узбекистан и другие среднеазиатские республики. По морфо-биологическим признакам относится к восточной эколого-географической группе сортов винограда. Лист средней величины, округлый, слаборассеченный. Загнутые кверху края пластинки придают ей блюдцевидную форму. Цветок функционально женский. У ягоды кожица прочная, грубая, покрыта восковым налетом. Мякоть мясисто-сочная, хрустящая. Вкус простой. Кусты сильнорослые. Сорт винограда Нимранг поражается милдью, антракнозом, относительно устойчив к оидиуму. Гроздевой листоверткой поражается слабо. Наряду с высокой требовательностью к теплу, отличается относительной засухоустойчивостью и солевыносливостью. Сорт высокотранспортабельный, хорошо хранится до конца марта. Виноград используют для потребления в свежем виде, приготовления варенья, маринадов, компотов, а в Средней Азии также для получения изюма [7].

Мухчалони – (синонимы: Гушты гоу, Бақыр черный). Таджикский столовый сорт винограда народной селекции. Лист средней величины. Цветок обоеполый. Гроздь крупная, цилиндрикоконическая или ветвистая, плотная. Ягода очень крупная, овальная, фиолетово-розовая. Кожица тонкая. Вкус простой, свежий, иногда водянистый. Сорт созревает в конце августа. Кусты большой силы роста, вызревание побегов хорошее. Транспортабельность высокая. Урожайность средняя. Устойчивость к грибным болезням средняя, к морозу низкая [7].

Думи рубох – (синонимы: Думроба, Думи рубо, Думи руба сафед). Древний среднеазиатский сорт винограда неизвестного происхождения. Лист средний. Цветок обоеполый. Гроздь очень крупная. Ягода крупная. Кожица тонкая. Сила роста кустов большая, вызревание лозы хорошее. Относится Думи руба сафед к столовым сортам среднего срока созревания, созревает в начале сентября. Урожайность высокая. Сорт не устойчив к оидиуму, возделывается в укрывной культуре. Транспортабельность низкая. Используется для местного потребления в свежем виде и, как исключительно красивый сорт с огромными ветвистыми гроздьями и розоватыми ягодами – для декоративных целей [7].

Методика исследований. Для получения полноценных растений-регенерантов винограда в культуру *in vitro* вводили апикальные меристемы, верхушечные и боковые почки, щитки. Полученные конгломераты разделяли на отдельные побеги в процессе микроразмножения *in vitro*. Для ризогенеза культивирование проводили на питательной среде Мурасиге и Скуга (MS) [8], уменьшенной наполовину макросолями, с индолил-масляной кислотой (ИМК) в концентрации 0,5 мг/л, сахарозой – 20 г/л, агар-агаром – 5 г/л и pH 5,7-5,8 [9].

При выборе сорта винограда для изучения во внимание принимали хозяйственно ценные признаки. Исследуемым сортам – Анзоб, Нимранг, Мухчалони и Думи рубох – характерны хорошие вкусовые качества. Ягоды используются в свежем виде.

Культивирование *in vitro* растений винограда осуществляли в светокультуральной комнате при освещении 4 тыс. люкс; фотопериоде – 16/8 ч; температуре 24±1 °С и относительной влажности 70-80 %. Длительность субкультивирования 4 недели. Растения-регенеранты культивировали в пробирках диаметром 22-25 мм с объемом питательной среды 7-8 мл. Стерилизацию среды проводили при 0,9 атм. в течение 30 минут. Работу проводили в стерильных условиях в ламинар-боксе. Для этапа ризогенеза использовали микропобеги длиной 1-2 см (рисунок 1).

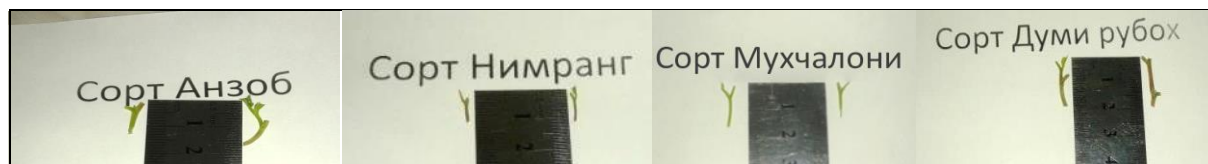


Рисунок 1 – Варианты побегов, высаженных на этап ризогенеза.

Материал в виде одревесневевших черенков был привезен из коллекционного участка филиала Института садоводства и овощеводства им. И.В. Мичурина Таджикской академии сельскохозяйственных наук, Согдийская область, район Б. Гафурова, джамоат Овчи Калача.

Для определения морфофизиологических показателей растений-регенерантов производили замеры 25 растений для каждого сорта, учитывали начало корнеобразования, количество и длину корней, длину побега, количество листьев.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Появление корней у регенерантов отмечали через 10-14 дней после пересадки побегов на соответствующую питательную среду. Отмечали сортовые отличия по количеству укоренившихся растений (таблица 1).

Таблица 1 – Эффективность ризогенеза сортов винограда в культуре *in vitro*

Сорт	Количество растений, шт.		Укоренившиеся растения, %
	высаженных	укоренившихся	
Анзоб	274	244	89,0
Нимранг	183	171	93,4
Мухчалони	467	329	70,4
Думи рубох	571	497	87,0
Сумма/среднее	1495	1241	84,82

Наибольший процент (93,4 %) укоренившихся растений отмечен у сорта Нимранг, далее в порядке убывания следуют сорта Анзоб, Думи рубох и Мухчалони (89,0; 70,4 и 87,0 % соответственно). При этом средняя величина эффективности ризогенеза по всем сортам составила 84,82 %.

Укоренившиеся растения-регенеранты винограда имели хорошо развитую корневую систему, развитые побеги и листовую массу (рисунок 2). Основные корни растений-регенерантов утолщенные, но встречаются также тонкие и короткие боковые.



Рисунок 2 – Укоренившиеся растения-регенеранты винограда.

Среднее значение длины корней у исследованных сортов составило: Анзоб – 5,04 см, Нимранг – 5,57 см, Мухчалони – 5,73 см и Думи рубох – 6,08 см. Длина стебля также отличалась и составляла 13,7 см, 12,50 см, 13,80 см и 13,10 см у сортов Анзоб, Нимранг, Мухчалони и Думи рубох соответственно. Среднее количество листьев у сортов отличается незначительно и составляет у сорта Анзоб – 11,7 шт., Нимранг – 12,2, Мухчалони – 11,20 и Думи рубох – 12,0 шт. (таблица 2).

Таблица 2 – Морфологические показатели растений-регенерантов винограда

Сорт	Средняя величина		
	длина корня, см	длина стебля, см	количество листьев, шт.
Анзоб	5,04±0,50	13,70±0,57	11,70±0,47
Нимранг	5,57±0,44	12,50±0,57	12,20±0,69
Мухчалони	5,73±0,52	13,80±0,52	11,20±0,56
Думи рубох	6,08±0,55	13,10±0,66	12,00±0,50

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Получены растения-регенеранты сортов Анзоб, Нимранг, Мухчалони и Думи рубох с хорошо развитой корневой системой и побегами.

Ризогенез в культуре *in vitro* составил 70,4–93,4 % в зависимости от сорта. Наибольший процент (93,4 %) укоренившихся растений отмечен у сорта Нимранг, далее в порядке убывания следуют сорта Анзоб, Думи рубох и Мухчалони (89,0; 70,4 и 87,0 % соответственно).

Средняя длина корней и побегов для исследованных сортов отличается незначительно и варьирует у корней от 5,04 до 6,08 см, а у побегов – от 12,50 до 13,80 см. Количество листьев также отличается по сортам и варьирует от 11,2 до 12,0 шт. на один побег.

Литература

1. Бабаев, Д.А. Изучение столовых сортов винограда и агротехнических параметров их выращивания в условиях Согдийской зоны Таджикистана: автореф. дис. ... на соискание уч. степени канд. с.-х. наук / Д.А. Бабаев. – Москва, 2013. – 21 с.
2. Бургутин, А.Б. Быстрое клональное размножение виноградного растения / А.Б. Бургутин // С.-х. биология. – 1983. – № 7. – С. 48–50.
3. Кравченко, Л.В. Система производства посадочного материала высших категорий качества: автореф. дис. ... на соискание уч. степени докт. с.-х. наук / Л.В. Кравченко. – Краснодар, 2006. – 55 с.
4. Трошин, Л.П. Особенности микроклонального размножения интродуцентов и клонов винограда / Л.П. Трошин, Н.И. Медведева, Н.В. Поливарова // Научный журнал КубГАУ. – 2008. – № 40. – С. 188–205.
5. Деменко, В.И. Укоренение – ключевой этап размножения растений *in vitro* / В.И. Деменко, К.А. Шестибратов, В.Г. Лебедев // Известия ТСХА. – 2010. – № 01. – С. 73–85.
6. Медведева, Н.И. Методические рекомендации по микроклональному размножению винограда *in vitro* / Н.И. Медведева, Н.В. Поливарова, Л.П. Трошин // Научный журнал КубГАУ. – 2010. – № 62(08). – Режим доступа: <http://cyberleninka.ru/article/n/metodicheskie-rekomendatsii-po-mikroklonalnomu-razmnozheniyu-vinograda-in-vitro/>. – Дата доступа: 25.03.2016.
7. Сорта винограда [Электронный ресурс] // Все о винограде. – Режим доступа: <http://vinograd.info/sorta/sorta-vinograda/>. – Дата доступа: 16.03.2016.
8. Murashige, T. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures / T. Murashige, F. Skoog // *Physiol. Plant.* – 1962. – Vol. 15, N 3. – P. 473–497.
9. Абдулалишоева, С.Ф. Использование методов биотехнологии при сохранении ценных сортов винограда / С.Ф. Абдулалишоева, Х.И. Бободжанова, Н.В. Кухарчик // Биотехнологические приемы в сохранении биоразнообразия и селекции растений: материалы междунар. науч. конф., Минск, 18–20 авг. 2014 г. / Центральный ботанический сад НАН Беларуси; редкол.: В.В. Титок [и др.]. – Минск, 2014. – С. 14–17.

MORPHOLOGICAL PARAMETERS OF ROOT FORMATION OF SOME GRAPE VARIETIES IN CULTURE *IN VITRO*

Sh.K. Yasaulova, H.I. Bobodzhanova, N.V. Kukharchik

SUMMARY

The study was carried out in the Center of Biotechnology of the Tajik National University during the period 2014-2015 years. The paper presents data on root formation *in vitro* of regenerated plants of grape varieties – ‘Anzob’, ‘Nimrang’, ‘Muhchaloni’ and ‘Dumi ruboh’. The data is presented on such morphological parameters as mean of shoot length (cm), a main root length (cm) and percent alive at the stage of root formation *in vitro*.

High productivity of root formation *in vitro* (84.82 %) was obtained on average for all varieties. The regenerated plants of all studied cultivars had a well-developed root system, shoots and leaf mass. The height of shoots and root length of the regenerated plants ranged from 12.50 to 13.80 cm and 5.04-6.08 cm, respectively.

Key words: micropropagation, root formation, grapes, *in vitro*, regenerated plants, Tajikistan.

Дата поступления статьи в редакцию 11.04.2016