

Научная статья

Original article

УДК 634.8.034

DOI 10.55186/25876740_2023_7_3_19

АДАПТАЦИЯ IN VIVO КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУР РАЗЛИЧНЫХ СОРТОВ ВИНОГРАДА В НЕСТЕРИЛЬНЫХ УСЛОВИЯХ

**IN VIVO ADAPTATION OF CELL CULTURES OF VARIOUS GRAPE
VARIETIES IN NON-STERILE CONDITIONS**



Тагиров Наджаф Сабирович, кандидат биологических наук, доцент, ведущей специалист группы частной генетики и генетических ресурсов Дагестанской ОС – филиала ВИР, г Дербенте, ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н. И. Вавилова» и ФГБОУ ВО «Дагестанский государственный технический университет» филиал в г. Дербенте: 368312, Республика Дагестан, Дербентский район, с. Вавилово, Дагестанская ОС – филиала ВИР, тел: 8-903-424-83-03 tagirov45@rambler.ru

Магомедов Лифри Гамидович, кандидат биологических наук, ведущей специалист группы плодово-ягодных культур и винограда Дагестанской ОС – филиала ВИР, г Дербенте, ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н. И. Вавилова» 368312, Республика Дагестан, Дербентский район, с. Вавилово, Дагестанская ОС – филиала ВИР, тел: 8-928-543-99-42 lifri020662@mail.ru

Абдуллаева Ульяна Аразовна, лаборант-исследователь Дагестанской ОС – филиала ВИР, г Дербенте, ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н. И.

Вавилова» 368312, Республика Дагестан, Дербентский район, с. Вавилово, Дагестанская ОС – филиала ВИР, тел: 8-999-311-50-19 lillit_1555@mail.ru

Шабанова Назиля Тагировна, лаборант-исследователь Дагестанской ОС – филиала ВИР, г Дербенте, ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н. И. Вавилова» 368312, Республика Дагестан, Дербентский район, с. Вавилово, Дагестанская ОС – филиала ВИР, тел: 8-988-467 -11-75 nazilya.shabanova@mail.ru

Батукаев Абдулмалик Абдулхаликович, д-р. с.-х. наук, профессор ФГБНУ «Чеченский научно-исследовательский институт сельского хозяйства», г. Грозный, Россия и ФГБОУ ВО «Чеченский государственный университет», г. Грозный, Россия.

Куркиев Киштили Уллубиевня, доктор биологических наук, директор Дагестанской ОС – филиала ВИР, г Дербенте, ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н. И. Вавилова» 368312, Республика Дагестан, Дербентский район, с. Вавилово, Дагестанская ОС – филиала ВИР, и ФГБОУ ВО «Дагестанский государственный университет», г. Махачкала

Tagirov Najaf Sabirovich, Candidate of Biological Sciences, Associate Professor, Leading specialist of the Group of Private Genetics and Genetic Resources of Dagestan OS – branch of VIR, Derbent, Federal Research Center All-Russian Institute of Plant Genetic Resources named after N. I. Vavilov and Dagestan State Technical University branch in Derbent: 368312, Republic of Dagestan, Derbent district, village Vavilovo, Dagestan OS – branch of VIR, tel: 8-903-424-83-03 tagirov45@rambler.ru.

Magomedov Lifri Gamidovich, Candidate of Biological Sciences, leading specialist of the group of fruit and berry crops and grapes of Dagestan OS – branch of VIR, Derbent, Federal Research Center All-Russian Institute of Plant Genetic Resources

named after N. I. Vavilov, 368312, Republic of Dagestan, Derbent district, village Vavilovo, Dagestan OS – branch of VIR, tel: 8-928-543-99-42 lifri020662@mail.ru

Abdullayeva Ulyana Arazovna, laboratory assistant - researcher of Dagestan OS – branch of VIR, Derbent, Federal Research Center All-Russian Institute of Plant Genetic Resources named after N. I. Vavilov, 368312, Republic of Dagestan, Derbent district, village Vavilovo, Dagestan OS – branch of VIR, tel: 8-999-311-50-19 lillit_1555@mail.ru

Shabanova Nazilya Tagirovna, laboratory assistant-researcher of Dagestan OS – branch of VIR, Derbent, Federal Research Center All-Russian Institute of Plant Genetic Resources named after N. I. Vavilov, 368312, Republic of Dagestan, Derbent district, village Vavilovo, Dagestan OS – branch of VIR, tel: 8-988-467 -11-75 nazilya.shabanova@mail.ru

Batukaev Abdulmalik Abdulkhalikovich, Doctor of Agricultural Sciences, Professor of the Chechen Research Institute of Agriculture, Grozny, Russia and the Chechen State University, Grozny, Russia.

Kurkiev Kishtili Ullubievia, Doctor of Biological Sciences, Director of Dagestan OS – branch of VIR, Derbent, Federal Research Center All-Russian Institute of Plant Genetic Resources named after N. I. Vavilov, 368312, Republic of Dagestan, Derbent district, village Vavilovo, Dagestan OS - branch of VIR, and Dagestan State University, city of Makhachkala

Аннотация. В работе приводятся результаты по адаптации различных сортов винограда *in vivo*, выращенных в культуре *in vitro* с дальнейшей пересадкой в теплицу для роста и развития. Показано, что на процессы роста и развития существенно влияют условия выращивания. Выращенные методом микроклонального размножения ростки винограда пересаживали в сосуд – пакеты с перлитом, с последующим переносом в теплицу. Исследования показали, что все 12 сортов винограда хорошо адаптировались в условиях теплицы. Высота адаптированных растений достигала 4 метров, наблюдались единичные гроздья, с вызревшими ягодами.

Annotation. The paper presents the results of the adaptation of various grape varieties in vivo grown in culture in vitro with further transplantation into a greenhouse for growth and development. It is shown that the growing conditions significantly affect the processes of growth and development. Grape sprouts grown by microclonal propagation were transplanted into a container – bags with perlite, followed by transfer to a greenhouse. Studies have shown that all 12 grape varieties have adapted well to greenhouse conditions. The height of the adapted plants reached 4 meters, single clusters were observed, with ripe berries.

Ключевые слова: in vivo, in vitro, адаптация, виноград, процессы роста и развития, сосуд-пакеты, субстрат, приживаемость растений.

Keywords: in vivo, in vitro, adaptation, grapes, growth and development processes, vessel-packages, substrate, plant survival.

Введение. Виноградарство является одной из важных отраслей сельского хозяйства и по общему производству занимает третье место среди плодовых культур. Виноград является одним из основных продовольственных продуктов сельского хозяйства Республики Дагестан. Из различных сортов винограда, с хорошими вкусовыми качествами изготавливают, имеющие диетические и лечебные значения сушеные ягоды (изюм, кишмиш), виноградный сок, маринады, мармелад, варенье и другие продукты, отличающиеся высокой питательностью. Значительная часть винограда (70 - 75%) перерабатывается на вино, шампанское и коньяк. По доходности культура винограда занимает одно из первых мест среди плодовых культур.

Проблемы сохранения генетических ресурсов растений постоянно возрастает. Это связано с воздействием неблагоприятных абиотических факторов среды, что связано с угрозой утраты генофонда культурных видов растений[5].

Вегетативно размножаемые культуры поддерживают в основном в виде полевых коллекций, что связано с значительными потерями из-за воздействия экстремальных факторов внешней среды, заболеваний и вредителей. Однако,

для надежного сохранения генофонда культуры винограда, его оздоровления и создания дублетных коллекций оптимальной средой является *in vitro*[4,11].

Методы культивирования изолированных органов, тканей, клеток приобретают широкое применение в экспериментах по физиологии, биохимии, генетики, цитогенетики растений, а также имеют практический аспект - для создания нового исходного материала, его сохранения или поддержания[13,12].

Термин «культура тканей (органов, клеток) растений» используется для описания асептического культивирования *in vitro* частей растений на питательной среде. Техника культивирования *in vitro* основана на следующих принципах: из растений выделяются отдельные органы, ткани, клетки (так называемые экспланты), которые затем помещают на питательную среду и культивируют в асептических условиях при контролируемых влажности, температуре, освещении[6,7,8,9].

Растения, выращенные методом *in vitro* должны пройти адаптацию к внешним условиям *in vivo* (климатической камеры, оранжереи, теплицы) после извлечения их из культуральных пробирок.

Адаптации растений винограда, размноженных методом *in vitro*, дает возможность увеличить процент приживаемости в условиях *in vivo*. Это обеспечивает выход и качество посадочного материала винограда, уменьшая тем самым материальные затраты и повышая производительность труда[2,3,10].

Пересадка в теплицу пробирочных растений винограда является очень ответственным моментом и требует создания контролируемых условий: температура 22 – 26°C, влажность воздуха 90 - 100% особенно в первые две недели, 16 часовой фотопериод с освещенностью 3 - 10 тысяч люкс.

В этой связи получение высококачественного посадочного материала и создание нового исходного материала с комплексом хозяйственно-ценных признаков являются крайне актуальной и своевременной задачей[1].

Цель исследований заключалась в изучении возможностей адаптации *in vivo* растений винограда полученных путем микроклонального размножения в условиях теплицы.

Материал и методы

Исследования проводились в Дагестанской ОС – филиала ВИР. Объектом исследований являлись различные сорта винограда. В эксперимент были включены 12 сортов винограда (табл. 1). После пересадки растений винограда, в условиях теплицы изучали действия комплекса гуминовых и фульвовых кислот. Водным раствором препарата обрабатывали корни через капельные и туманные системы орошения.

При использовании метода адаптации пробирочных растений в теплице, оборудованной капельной и туманообразующей установкой, высаживали растения винограда в бороздки глубиной 4 - 6 см. и шириной 6 - 8 см., через 20 - 30 см.

Для укоренения роста и развития растений винограда, полученных *in vitro*, в нестерильных условиях среды, соблюдали в теплице необходимые условия температуры, влажности и освещения.

Результаты исследование и обсуждение

Усовершенствование способов адаптации растений винограда, размноженных методом *in vitro*, дает возможность увеличить процент приживаемости в условиях *in vivo*, обеспечивает выход и качество посадочного материала, уменьшая тем самым материальные затраты и повышая производительность труда. Наряду с этим уверенность в генотипической однородности клонов, полученных микроразмножением, обеспечит быструю передачу лабораторных разработок производству.

Ростки винограда были посажены в теплицу во второй декаде февраля. Ростки винограда находились в сосуд - пакетах с перлитом, общее количество которых составило – 1261, а фактически были посажены – 1198 штук, оставшиеся в количестве 63 штуки – были бракованы, то есть были высохшими. (табл. 1).

Этап перевода пробирочных растений *in vitro* в нестерильные условия *in vivo* является весьма ответственным. Для прохождения первого этапа адаптации растений в условиях *in vivo* мы использовали полиэтиленовые сосуд-пакеты (размер пакета h-25 см, d-6 см). Однако для успешного развития растений недостаточно создание микроклимата в сосуд-пакетах, максимально приближенного к условиям пробирки, важное значение имеет и тип субстрата, используемого для адаптации и развития корней и в целом роста растения. В нашем опыте мы использовали смесь песка, торфа и земли.

В второй декаде мая виноград опрыскивали препаратами витамакс + карате. В первой декаде июня проводилась обрезка винограда в теплице, т.е. боковые побеги были удалены и опрыскивали виноград в теплице химическими препаратами фунгицид + карате – шанс (5мл. +10л. воды).

Конце июня выполнялись работы по привязке винограда к проволоке. Начале августа виноград, находящийся в теплице был обработан химическими препаратами. В период созревания кустов винограда, была произведена обрезка не менее трех раз.

В второй декаде ноября собирали урожай винограда (маленькие грозди) сорта Дивико весом 700 граммов (фото 1,2,3,4), в среднем один гроздь винограда Дивико (таблица 2.) весил 24,16 гр. (сред. величина), ягоды вышеупомянутого винограда имели круглую форму тёмно-синего цвета.

Таблица1.

Схема посадки винограда.

Ряды	Сорта	Кол-во	Брак	Фактически
1	Молдова	211	5	206
2	Конфетка	230	2	228
3	Каберне- фран	13	5	8
4	Августин	196	9	187
5	Ркацители	124	5	119
6	Кишмиш ВИРа	110	2	108
7	Ирс	64	4	60
8	Дивико	206	17	189
9	Глобус	79	6	73

10	Преображение	11	3	8
11	Кишмиш лучистый	11	4	7
12	Агадаи	6	1	5
Итого		1261	63	1198

Адаптация растений винограда в условиях теплицы и изучение действия комплекса гуминовых и фульвовых кислот связано, прежде всего, с рядом их положительных свойств, особый интерес из которых представляет способность повышать устойчивость растений к неблагоприятным факторам среды. Это связано, прежде всего, с рядом его положительных свойств, на корневые системы растений. С целью установления оптимального эффекта изучали различные концентрации препарата.

В результате проведенной работы по адаптации растений винограда в нестерильных условиях было показано, что все 12 сортов винограда хорошо адаптировались в условиях теплицы. Высота адаптированных растений достигала 4 метров, наблюдались единичные гроздья, с вызревшими ягодами.

Таблица 2.

Сорт винограда-Дивико

№ грозди	Гроздь, масса г.	ягода, масса г.
1	29,57	0,71
2	23,70	0,74
3	24,82	0,54
4	15,29	0,71
5	19,04	0,67
6	24,53	0,70
7	34,50	0,79
8	21,85	0,78
Среднее	24,16	0,71

Выводы

Проведенные исследования показали возможность успешной адаптации в условиях теплицы испытуемых сортов винограда выращенным методом культуры изолированных тканей и органов *in vitro*, что объясняется высокой потенциальной способностью винограда к вегетативному размножению.

Для улучшения условий адаптации растений винограда к тепличным условиям, а также, для повышения приживаемости и улучшения качества растений необходимо применять на начальном этапе комплекса гуминовых и фульвовых кислот.

Список литературы

1. Агаханов М. М. Генетическое разнообразие и селекционная ценность образцов ампелографической коллекции ВИР/ М. М. Агаханов //Автореферат дисс. на соис. уч. ст. к.б.н., Санкт-Петербург. 2022. – 26 с.
2. Батукаев А. А. Введение в культуру *in vitro*, размножение и адаптация *ex vitro* комплексно-устойчивых сортов винограда / А. А. Батукаев, Э. А. Собралиева, М. Ш. Идрисова //Ежеквартальный научно-практический журнал проблемы развития АПК региона - №2 (38), - 2019. – С.25-30.
3. Батукаев А. А. Научное обоснование технологий выращивания саженцев и обеспечение физиологической потребности винограда в микроэлементах в агроэкологических условиях Терско-Кумских песков: монография / Батукаев А. А., Магомадов А. С. – Грозный. - 167с.
4. 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.
5. Батукаев А. А. Совершенствование технологии ускоренного размножения винограда методом *in vitro* и применение регуляторов роста в условиях *in vitro* и *in vivo*/ А. А. Батукаев Дисс. на соис. уч. ст. д. с/х. н. Москва -1999.408с.
6. Батукаев М. С. Влияние регуляторов роста на рост и развитие эксплантов винограда и плодовых культур *in vitro* / М. С. Батукаев, Д. О. Палаева, А. А. Батукаев //Ежеквартальный научно-практический журнал проблемы развития АПК региона - №2 (46), - 2021. – С.18 - 22.

7. Бутенко Р. Г. Клеточная инженерия. Учебное пособие для биологических специальностей ВУЗов./ Р. Г. Бутенко, М. В., Гусев, А. Ф. Киркин, и др. - М.: Высшая школа, 1987.
8. Калашникова Е. А. Получение клеточных культур *Clchoriumintybusl.* In vitro как источника инулина/ Е. А. Калашникова, С. К. Темирбекова, Ю. В. Афанасьева, и др.//Вестник российской сельскохозяйственной науки – 2022. -№1. – С. 37-41.
9. Канделаки Н. Д. Влияние минеральных удобрений на урожай винограда и качество вина / Н. Д. Канделаки, Н. Р. Кенчиатвили // Виноделие и виноградарство. – М.: Пищевая промышленность, 2011. – № 6. – 33с.
10. Кудряшова А. Г. Экономическая эффективность применения микроудобрений на Терско-Кумских песках Чеченской Республики / Г. П. Малых, А. С. Магомадов, Т. А. Зубова, А. Г. Кудряшова // Научное наследие Я. И. Потапенко – основа современной науки о винограде и вине: материалы Международной научно практической конф., посвященной 110-летию со дня рождения Я. И. Потапенко. – Новочеркасск: ВНИИВиВ, 2014. – С. 255-259.
11. Макарова А. Г. Влияние макро- и микроудобрений на продуктивность и качество столового сорта винограда августин на песчаных почвах /А. Г. Макарова //Всероссийский НИИ виноградарства и виноделия имени Я. И. Потапенко – филиал ФГБНУ «Федеральный Ростовский аграрный научный центр» с.80-85.
12. Першина Л. А. Методическое пособие по организации и проведению работ по культивированию изолированных органов и тканей растений/ Л. А. Першина. - Ротипринт Института катализа СО АН СССР г. Новосибирск 1991. – С. 19.
13. Сохранение вегетативно размножаемых культур в in vitro и крио коллекциях. Методические указания /Под ред.Т. А. Гавриленко 2-е изд. расш. и доп. - Санкт-Петербург.: 2017. – 75с.

References

1. Agakhanov M. M. Genetic diversity and breeding value of samples of ampelographic collection of VIR/ M. M. Agakhanov //Abstract of the diss. at the sois. uch. art. Candidate of Biological Sciences, St. Petersburg. 2022. – 26 p.
2. Batukaev A. A. Introduction to culture in vitro, reproduction and adaptation ex vitro of complex-resistant grape varieties / A. A. Batukaev, E. A. Sobralieva, M. Sh. Idrisova //Quarterly scientific and practical journal problems of the development of the agro-industrial complex of the region - №2 (38), - 2019. – Pp.25-30.
3. Batukaev A. A. Scientific substantiation of technologies for growing seedlings and ensuring the physiological needs of grapes in trace elements in the agroecological conditions of the Tersko-Kuma sands: monograph / Batukaev A. A., Magomadov A. S. – Grozny. - 167c.
4. Batukaev A. A. Improving the technology of growing grape seedlings and increasing the productivity of grape plantations / A. A. Batukaev, A. S. Magomadov, G. P. Malykh, M. S. Batukaev // Bulletin of the Chechen State University. - 2014. - No. 1. - pp. 223-227.
5. Batukaev A. A. Improving the technology of accelerated reproduction of grapes by in vitro method and the use of growth regulators in vitro and in vivo/ A. A. Batukaev Diss. at the sois. uch. art., Doctor of Agricultural Sciences Moscow - 1999.408p
6. Batukaev M. S. The influence of growth regulators on the growth and development of explants of grapes and fruit crops in vitro / M. S. Batukaev, D. O. Palaeva, A. A. Batukaev //Quarterly scientific and practical journal problems of the development of the agro-industrial complex of the region - №2 (46), - 2021. – Pp.18-22.
7. Butenko R. G. Cellular engineering. Textbook for biological specialties of universities. / R. G. Butenko, M. V., Gusev, A. F. Kirkin, et al. - M.: Higher School, 1987.

8. Kalashnikova E. A. Obtaining cell cultures *Clchoriumintybus*l. In vitro as a source of inulin/ E. A. Kalashnikova, S. K. Temirbekova, Yu. V. Afanasyeva, et al.//Bulletin of Russian Agricultural Science – 2022. -No. 1. – pp. 37-41.

9. Kandelaki N. D. The influence of mineral fertilizers on the grape harvest and the quality of wine / N. D. Kandelaki, N. R. Kenchiatvili // Winemaking and viticulture. – M.: Food industry, 2011. – No. 6. – 33с.

10. Kudryashova A. G. Economic efficiency of the use of micro fertilizers on the Tersko-Kuma sands of the Chechen Republic / G. P. Malykh, A. S. Magomadov, T. A. Zubova, A. G. Kudryashova // Scientific heritage of Ya. I. Potapenko – the basis of modern science of grapes and wine: materials of the International scientific and Practical conference dedicated to the 110th anniversary of the birthday of Ya. I. Potapenko. – Novocherkassk: VNIIViV, 2014. – pp. 255-259.

11. Makarova A. G. The influence of macro- and micro-fertilizers on the productivity and quality of the table grape variety Augustine on sandy soils / A. G. Makarova //All-Russian Research Institute of Viticulture and Winemaking named after Ya. I. Potapenko - branch of the Federal State Budgetary Institution "Federal Rostov Agrarian Scientific Center" pp.80-85.

12. Pershina L. A. Methodological guide for the organization and conduct of work on the cultivation of isolated organs and tissues of plants/ L. A. Pershina. - Rotiprint of the Institute of Catalysis SB of the USSR Academy of Sciences, Novosibirsk, 1991. – p. 19.

13. Preservation of vegetatively propagated crops in in vitro and cryo collections. Methodical instructions /Edited by T. A. Gavrilenko 2nd ed. and dop. - St. Petersburg.: 2017. – 75с.

© Н.С. Тагиров, Л.Г. Магомедов, У.А. Абдуллаева, Н.Т. Шабанова, А.А. Батукаев, К.У. Куркиев, 2023. *International agricultural journal*, 2023, № 3, 741-752.

Для цитирования: Н.С. Тагиров, Л.Г. Магомедов, У.А. Абдуллаева, Н.Т. Шабанова, А.А. Батукаев, К.У. Куркиев Адаптация IN VIVO клеточных культур различных сортов винограда в нестерильных условиях // *International agricultural journal*. 2023. № 3, 741-752.



Φoto1



Φoto2



Φoto3



Φoto4