

Раздел 4.

**БИОТЕХНОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ**

УДК 634.8.581.16.04

doi: 10.31360/2225-3068-2022-82-90-103

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ WPM  
ДЛЯ КЛОНАЛЬНОГО МИКРОРАЗМНОЖЕНИЯ  
ПОДВОЕВ ВИНОГРАДА *IN VITRO***

**Косюк М.И., Павлова И. А.**

*Всероссийский национальный научно-исследовательский  
институт виноградарства и виноделия «Магарач» РАН,  
г. Ялта, Россия, Республика Крым, e-mail: mary.kosyuk@gmail.com*

Основным направлением развития отечественного питомниководства на сегодняшний день является создание оздоровленного посадочного материала высоких категорий качества, увеличение выхода элитных саженцев, а также увеличение разнообразия сортимента подвоев, учитывая различия почвенно-климатических зон возделывания виноградных насаждений. В связи с генетической специфичностью морфогенеза у сортов винограда различного происхождения, которая оказывает значительное влияние на эффективность технологии клонального микроразмножения, важно сосредоточиться на создании оптимальных условий для массового клонального размножения каждого конкретного генотипа на всех этапах технологии с сохранением его генетической однородности и стабильности. Среда культивирования является одним из основных факторов, влияющих на морфогенез растений в системе *in vitro*. Цель работы состояла в исследовании возможности использования среды WPM как базовой при проведении в дальнейшем модификации по оптимизации среды культивирования для эффективного клонального микроразмножения подвоев винограда. В качестве материала исследований использовали подвойные сорта винограда 'Феркаль' клон 242, 'Рюгжери 140', и 'Гравесак' (клоны № 11 и 12). Контролем служил подвой 'Кобер 5 ББ'. Исследование проводили на среде WPM с добавлением НАА ( $\alpha$ -нафтилукусная кислота) 0,05 мг/л. Результаты показали, что на данной среде у всех изученных подвоев наблюдается гармоничный рост, зафиксированы более высокие биометрические показатели по сравнению с контрольным сортом, также отмечено формирование более мощных морфологических структур. Таким образом, среда WPM может быть использована как базовая для разработки эффективной технологии клонального микроразмножения подвоев винограда 'Феркаль' клон 242, 'Рюгжери 140', 'Гравесак 11' и 'Гравесак 12' в системе *in vitro*. Учитывая особенности морфогенеза данных подвоев, необходимо оптимизировать среду культивирования для каждого отдельного сорта.

**Ключевые слова:** микрочеренкование, морфогенез, побегообразование, укоренение, *in vitro*, подвой 'Кобер 5 ББ', подвой 'Рюгжери 140', подвой 'Феркаль' клон 242, подвой 'Гравесак' (11 и 12).

**Введение.** Основной задачей современного питомниководства является производство сертифицированного высококачественного посадочного материала свободного от вирусных и бактериальных болезней и вредителей. Для достижения этой цели используются современные подходы, основанные на применении биотехнологических методов, а именно технологии клонального микроразмножения винограда *in vitro*, позволяющей в кратчайшие сроки получить массив полноценных, генетически идентичных оздоровлённых саженцев высоких категорий качества [13, 15, 27].

Виноградные насаждения произрастают в зонах с различными почвенно-климатическими условиями. Существуют зоны, характеризующиеся ограниченным плодородием в связи с повышенным содержанием активной извести или солей в почве. Правильный подбор подвоя винограда на данных участках позволит нейтрализовать негативное воздействие почвенных компонентов и при этом положительно воздействовать на рост и плодоношение привойной части растения. В районах с высоким уровнем морозоопасности рекомендуется подбор подвоев устойчивых к влиянию низких температур и способствующих также лучшей выживаемости привойной части в период заморозков. Для засушливых регионов и зон с ограниченной возможностью орошения рекомендуется применение подвоев винограда с высокими характеристиками засухоустойчивости [7].

Таким образом, кроме оздоровления посадочного материала и улучшения его качественных показателей важной стратегией развития отечественного питомниководства на сегодняшний день является расширение сортимента подвоев, учитывая различия почвенно-климатических зон возделывания виноградных насаждений. В последнее время в виноградарских хозяйствах возрастает спрос на посадочный материал привитый на солеустойчивые, карбонатоустойчивые, морозо- и засухоустойчивые подвои [14].

На данный момент существует ряд научных работ, связанных с решением отдельных проблем по сортоулучшению и клональному микроразмножению винограда (ФГБНУ «Северо-Кавказский зональный научно-исследовательский институт садоводства и виноградарства, ВНИИВиВ им. Я.И. Потапенко, ФГБОУ «Российский государственный аграрный университет МСХА им. К.А. Тимирязева», ГНУ Анапская зональная опытная станция ВиВ). В ФГБУН «ВНИИВиВ «Магарач» РАН» в разное время выделены клоны ряда сортов и подвоев, разработаны отдельные элементы технологии клонального микроразмножения, поддержания и сохранения растений винограда в условиях *in vitro*. Тем не менее, в данной технологии присутствует ряд проблем,

в частности, недостаточно высокий выход конечного продукта (посадочного материала), высокий уровень некроза микропобегов от инфекции, низкая адаптивность микрорастений, полученных *in vitro*, к нестерильным условиям среды и др. [5, 8, 12].

Актуальными являются исследования, направленные на создание оптимальных условий для массового клонального размножения каждого конкретного генотипа на всех этапах технологии, которые обеспечат высокий коэффициент размножения с сохранением генетической идентичности [11, 19–21].

Традиционно для размножения подвоев используют среды: MS [24], WPM, DKW, PG [16, 28]. Согласно литературным данным, для подвоя 'Кобер 5 ББ' на этапе микрочеренкования рекомендуется среда WPM, на которой отмечается гармоничный рост, заметное улучшение регенерирующей способности почки, укоренения побегов, увеличение размеров морфологических структур [4]. Исследования других учёных показали, что предварительное культивирование растений винограда на среде WPM способствует их лучшей выживаемости при адаптации [10].

Учитывая генетическую специфичность сортов винограда различного происхождения, необходимо проведение исследований по определению целесообразности применения среды WPM для перспективных подвоев винограда на этапе собственно размножения.

**Цель работы** – определить перспективность использования среды WPM как базовой в проведении в дальнейшем модификаций среды культивирования для эффективного клонального микроразмножения подвоев винограда в системе *in vitro*.

**Объекты и методы исследования.** Исследования проводили в лаборатории генетики, биотехнологий селекции и размножения Всероссийского национального научно-исследовательского института виноградарства и виноделия «Магарач» РАН. В качестве материала исследований использовались растения *in vitro* подвоев винограда 'Феркаль' клон 242, 'Рюгжери 140' и 'Гравесак' (клоны № 11 и 12). Контролем служили растения *in vitro* подвоя 'Кобер 5' ББ. Весь материал для эксперимента был культивирован на среде PG с добавлением НАА ( $\alpha$ -нафтилуксусная кислота) 0,05 мг/л.

'Берландиери' × Рипариа 'Кобер 5 ББ' – один из наиболее распространённых филлоксероустойчивых подвоев, используемый во многих виноградарских регионах России. Подвой сильнорослый, с хорошим вызреванием лозы и слабым пасынкообразованием. После прививки способен усиливать рост побегов привоя. Подвой характеризуется повышенной карбонатустойчивостью и способностью выдерживать до 20 % активной извести в почве [1, 6, 23].

‘Берландиери’ × Рупестрис ‘Рюгжери 140’ – филлоксероустойчивый сильнорослый подвой винограда, характеризующийся высокой морозостойкостью глазков и засухоустойчивостью. Отмечается, что подвой также не поражается грибными заболеваниями, такими как милдью и оидиум. Большое количество образующихся пасынков и поросли подразумевает необходимость в многократных пасынкованиях и обломках. Вызревание побегов ‘Рюгжери 140’ хорошее, но начинается позже в сравнении с другими подвоями. Устойчивость к активной извести несколько понижена в сравнении с подвоем ‘Кобер 5 ББ’ и составляет около 17 % [6, 17, 22].

‘Феркаль’ – филлоксероустойчивый среднерослый подвой винограда, образующий побеги с удлинёнными междоузлиями и характеризующийся низкой регенерационной способностью черенков и ризогенной активностью, лёгким обламыванием побегов при подвязке, потребностью в многократных пасынкованиях и обломках. Получен от скрещивания форм № 1 с подвоем 333 ЕМ. Показывает хорошую совместимость с привойными сортами, способствует хорошему сахаронакоплению и снижению кислотности ягод технических сортов. Является одним из самых карбонатоустойчивых подвоев и способен выдерживать до 50 % активной извести в почве [6, 18, 25].

‘Гравесак’ – высоко филлоксероустойчивый средне-сильнорослый подвой винограда, характеризующийся высокой засухоустойчивостью, образованием побегов с несколько укороченными междоузлиями, хорошим качеством вызревания черенков и высокой их ризогенной и каллусообразовательной способностью. Получен от скрещивания подвоев 161-49 ‘Кудерк’ × 3309 ‘Кудерк’. Способен несколько снижать силу роста сортов, привитых на этом подвое. Подвой обладает хорошей устойчивостью к известковому хлорозу и способен выдерживать до 20 % активной извести в почве [6, 23].

В процессе исследований использовали как принятые в биотехнологии методы, так и методы, разработанные в отделе селекции института «Магарач» [5, 8].

Исследование проводили на среде WPM с добавлением НАА ( $\alpha$ -нафтилуксусная кислота) 0,05 мг/л.

Операции по микрочеренкованию растений и посадке эксплантов побегов на питательные среды проводили в ламинарном боксе. В стерильных условиях двухглазковые экспланты побегов высаживали на питательную среду в культуральные сосуды объёмом 0,25 литров по 5 штук. Культивирование растений осуществлялось при 16-часовом фотопериоде, освещённости интенсивностью 2 000 люкс, температуре +25 °С.

Наблюдение и оценку биометрических показателей проводили спустя 45 дней после начала культивирования. Эффективность питательной среды оценивали по результатам укоренения и биометрическим показателям полученных растений. Рассматривали следующие показатели: длина побега, количество узлов на побег, количество корней. Статистическую обработку данных осуществляли с помощью программы Microsoft Excel.

**Результаты и их обсуждение.** Через 45 дней после посадки на питательную среду WPM было проведено визуальное обследование растений и учёт биометрических показателей. По результатам визуального обследования отмечалось гармоничное развитие растений, образование мощных побегов с крупными листьями и разветвлённой корневой системой (рис. 1).

Таблица 1

### Морфогенез подвоев винограда на среде WPM

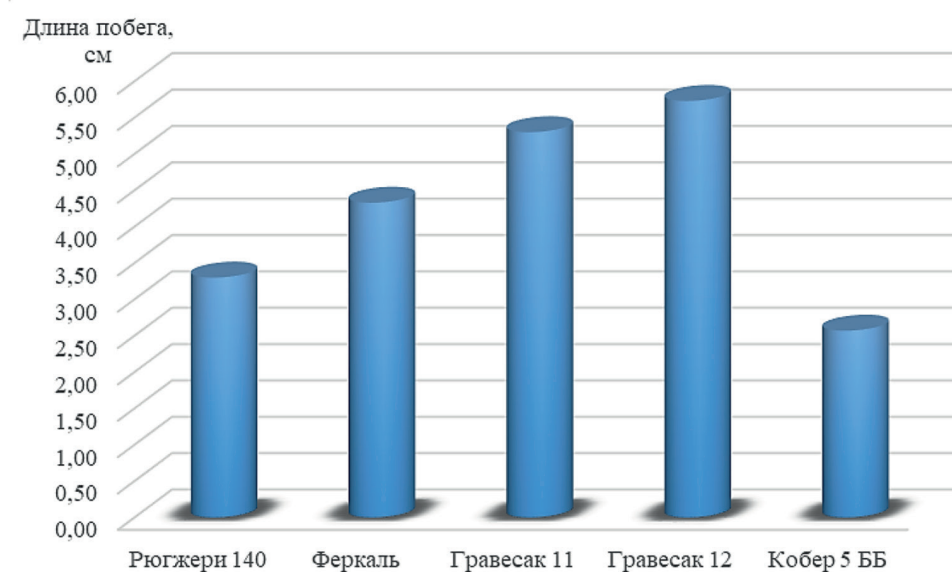
Подвой	Средняя длина побега, см	Среднее количество узлов, шт.	Процент укоренившихся растений, %	Среднее количество основных корней, шт.
‘Рюгжери 140’	3,30 ±1,33	3,42 ±1,05	100	4,50 ±1,64
‘Феркаль’ клон 242	4,33 ±1,49	4,26 ±1,35	100	4,70 ±1,42
‘Гравесак 11’	5,30 ±2,16	5,08 ±2,00	100	3,72 ±1,26
‘Гравесак 12’	5,73 ±2,47	4,88 ±2,13	94	3,04 ±1,46
‘Кобер 5 ББ’	2,57 ±1,50	2,84 ±1,63	60	1,76 ±0,80

Согласно полученным данным, исследуемые подвои по всем показателям морфогенеза показали результат, значительно превышающий контроль (подвой ‘Кобер 5 ББ’).

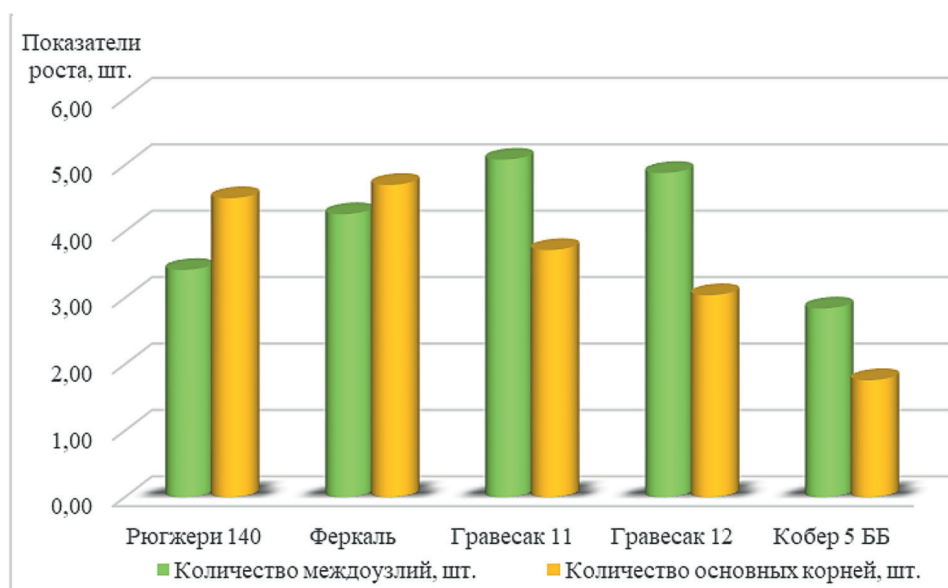
Наиболее активное побегообразование зафиксировано у подвоя ‘Гравесак 12’ – средняя длина побега составляет 5,73 см (рис. 1). Подвой ‘Гравесак 11’ также показал высокий результат по силе роста побегов (5,30 см). Кроме того, отмечено, что растения данных подвоев склонны образовывать 2 и более побегов, что в дальнейшем позволит повысить выход саженцев и экономическую эффективность размножения.

По длине междоузлий достоверных различий между подвоями не выявлено. Средняя длина междоузлий варьирует от 1,17 см у сорта ‘Гравесак 12’, до 0,90 см – у сорта ‘Кобер 5 ББ’ (рис. 2).

Также установлено, что на среде WPM по скорости побегообразования и силе роста заметно выделяется подвой ‘Гравесак’. Подвои ‘Феркаль’ клон 242 и ‘Рюгжери 140’ показали более слабые результаты, но при этом заметно обогнали по силе роста контрольный подвой ‘Кобер 5 ББ’.



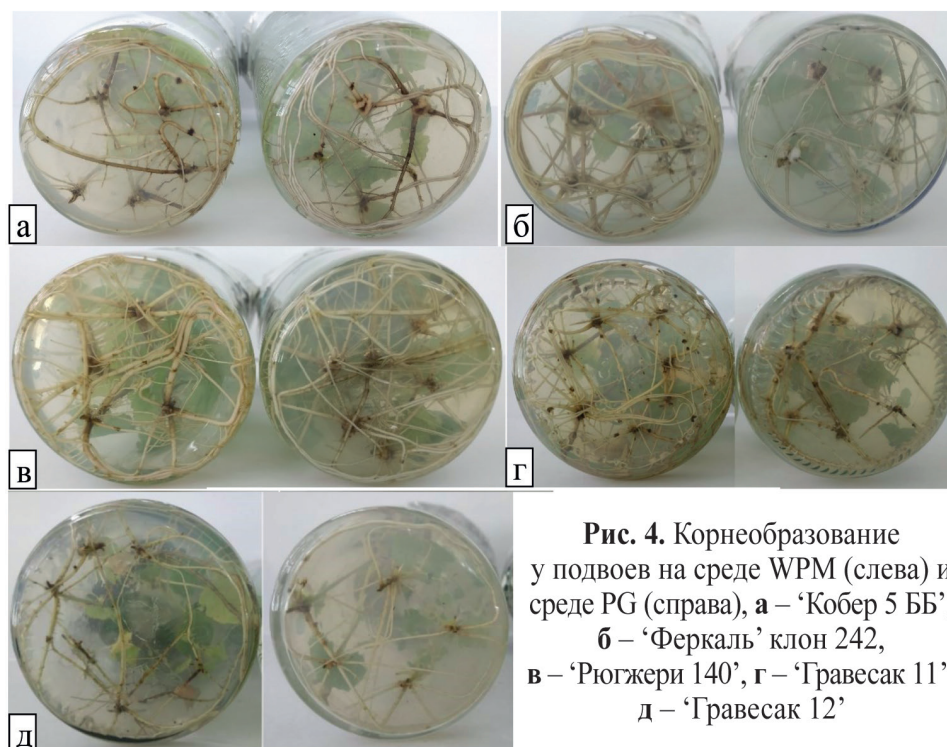
**Рис. 1.** Побегообразование подвоев винограда на среде WPM



**Рис. 2.** Морфогенез подвоев винограда на среде WPM



**Рис. 3.** Подвои винограда на среде WPM (слева) и среде PG (справа),  
а – ‘Кобер 5 ББ’, б – ‘Рюгжери 140’, в – ‘Феркаль’ клон 242,  
г – ‘Гравесак 11’, д – ‘Гравесак 12’



**Рис. 4.** Корнеобразование  
у подвоев на среде WPM (слева) и  
среде PG (справа), а – ‘Кобер 5 ББ’,  
б – ‘Феркаль’ клон 242,  
в – ‘Рюгжери 140’, г – ‘Гравесак 11’,  
д – ‘Гравесак 12’

Согласно литературным данным, показатели длины побега растений подвоя 'Кобер 5 ББ' на среде WPM в зависимости от её гормонального состава колебались от 6,3 см до 7,3 см [16]. При этом средняя длина междоузлий варьировала от 1,19 см до 1,81 см (рис. 2). По результатам проведенного эксперимента контрольный подвой показал более низкие результаты скорости побегообразования – средняя длина побега 2,57 см при длине междоузлий 0,90 см.

По укоренению побегов подвоя 'Рюгжери 140', 'Феркаль' клон 242 и 'Гравесак 11' показали 100%-ный результат. У растений подвоя 'Гравесак 12' процент укоренения относительно остальных подвоев был ниже (80 %). Наиболее слабое укоренение показал контрольный подвой 'Кобер 5 ББ' (60 %).

Наибольшее количество основных корней развивалось у растений подвоя 'Феркаль' клон 242 – в среднем 4,7 штук на растение. Результаты, полученные по остальным исследуемым подвоем, также значительно превышают контроль и варьируют от 4,5 штук у подвоя 'Рюгжери 140' до 3,04 штук, у подвоя 'Гравесак 12'. Отмечается, что все подвои кроме контрольного образовывали мощную разветвленную корневую систему, способствующую более активному поглощению питательных веществ из среды.

Таким образом, лучший результат по скорости ризогенеза показал подвой 'Феркаль' клон 242. Также высокие результаты получены по сорту 'Рюгжери 140'.

На этапе получения асептической культуры для укоренения образовавшихся побегов и при последующем размножении полученных растений методом микрочеренкования использовали среду PG, которая является универсальной для культивирования винограда *in vitro* [12]. Относительно культивированных на среде PG, растения всех исследуемых подвоев, кроме контрольного, на среде WPM были более мощными, лучше развитыми, наблюдалось начало одревеснения побегов. Как видно на рисунке 3, растения подвоев 'Гравесак 11' и 'Гравесак 12' на среде PG образовывали тонкие слабые побеги, склонные к кущению, с мелкими листовыми пластинами. Также отмечалось более слабое корнеобразование данных растений. Такие растения обладают низкой адаптивной способностью. На среде WPM явно прослеживается увеличение силы роста побегов, корневой системы и увеличение площади листовой пластины растений указанных подвоев.

У подвоев 'Феркаль' клон 242, 'Рюгжери 140', 'Гравесак 11' и 'Гравесак 12' на среде WPM отмечается активное корнеобразование. Растения образовывали мощную разветвленную корневую систему,



заметно превышающую по силе роста растения на среде РГ (рис. 4). Подвой 'Кобер 5 ББ' на среде WPM, показал слабое развитие корневой системы, растения образовывали в среднем 1–2 коротких тонких корня. У некоторых растений этого подвоя корнеобразование на среде WPM отсутствовало.

Согласно данным литературных источников, растения подвоя 'Кобер 5 ББ' на среде WPM по биометрическим показателям превосходили растения на среде РГ [16]. По результатам проведённого эксперимента был получен обратный результат. Растения подвоя 'Кобер 5 ББ' на среде WPM показали заметно более слабый рост надземной части и корневой системы, образовывали более тонкие побеги и мелкие листовые пластины, в сравнении с растениями, высаженными на среду РГ в те же сроки. При этом результаты эксперимента, полученные по остальным подвоям, подтверждают литературные данные о том, что среда WPM более благоприятно влияет на ростовые процессы подвоев винограда, чем среда РГ.

Опираясь на полученные данные, можно сделать вывод, что среда WPM может быть использована в качестве базовой для разработки эффективной технологии клонального микроразмножения подвоев винограда 'Феркаль' 242 клон, 'Рюгжери 140', 'Гравесак 11' и 'Гравесак 12', но в будущем требуется подбор концентрации регуляторов роста для ускорения ростовых процессов растений. Для подвоя 'Кобер 5 ББ' по результатам проведённого эксперимента более приемлемой является среда РГ, обеспечивающая мощный рост побегов и корневой системы, развитие крупных листовых пластин и начало одревеснения побегов растений данного сорта, что в дальнейшем будет способствовать снижению стресса во время прохождения периода адаптации к условиям *in vivo*.

Учитывая заметные расхождения полученных данных с данными литературных источников, в дальнейшем необходимо проведение повторных экспериментов для выявления оптимальной питательной среды для подвоя 'Кобер 5 ББ'.

**Выводы.** На развитие растений в системе *in vitro* оказывает влияние множество факторов. Одним из важнейших факторов является состав питательной среды, поскольку из неё растения получают основные элементы питания, используемые в дальнейшем для роста и развития. Кроме того, большое влияние оказывают биологические особенности сорта, которые определяют модель поведения растений данного сорта в определенных условиях. Среда WPM может быть использована в качестве базовой для разработки эффективной технологии клонального микроразмножения подвоев винограда 'Феркаль' клон 242, 'Рюгжери 140', 'Гравесак 11' и 'Гравесак 12' на этапе микрочеренкования. Учитывая особенности морфогенеза данных подвоев, в дальнейшем необходимо

оптимизировать условия культивирования для каждого отдельного сорта с целью повышения продуктивности и экономической эффективности технологии.

*Работа выполнена в рамках государственного задания №.0561-2019-0001 и аспирантской работы*

#### Список литературы

1. Аскеров Э.С. Перспективные сортоподвойные комбинации винограда в Южном Дагестане. Актуальные проблемы гуманитарных и естественных наук. 2013; 10(1) : 66-69.
2. Батукаев А.А., Гаплаев М.Ш. Теоретические и практические основы оздоровления и размножения плодово-ягодных культур и винограда биотехнологическим методом. Актуальные проблемы биотехнологии: оздоровление и размножение плодовых, ягодных, дикорастущих культур и винограда: сб. трудов Всеросс. науч.-практич. конф.: Махачкала, 2019; 95-112.
3. Бугаенко Л.А., Иванова-Ханина Л.В. Морфогенез винограда в культуре *in vitro*. Учёные записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». 2011; 24(63) : 2 : 73-82.
4. Гавриленко И.В., Матяш Ю.С., Гавриленко А.В., Шанин Д.А., Павлова И.А., Лиховской В.В. Оптимизация питательных сред для клонального микроразмножения сорта-подвоя винограда Кобер 5 ББ. «Магарач». Виноградарство и виноделие». 2020; 22(4) : 298-303. DOI: 10.35547/IM.2020.19.99.002.
5. Голодрига П.Я., Зленко В.А., Чекмарев Л.А., Бутенко Р.Г., Левенко Б.А., Пилин Н.М. Методические рекомендации по клональному микроразмножению винограда. Ялта: Магарач. 1986, 56 с.
6. Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию. «Сорта растений» (официальное издание). Москва. 2022; 1 : 645 с.
7. Дикань А.П., Вильчинский В.Ф., Верновский Э.А., Заяц И.Я. Виноградарство Крыма. Симферополь. 2020, 408 с.
8. Дорошенко Н.П. Оздоровление, клональное микроразмножение и депонирование винограда в культуре *in vitro*. «Магарач». Виноградарство и виноделие. 2015; 3 : 49-51.
9. Клименко В.П., Павлова И.А. Оптимизация условий для оздоровления роста и развития растений, полученных с помощью биотехнологических методов. Наукові праці Інституту біоенергетичних культур і цукрових буряків НААН України. Київ, 2012; 16 : 261-264.
10. Корнацкий С.А., Седельникова О.В., Гусева О.А. Проблемы унификации методологических и технологических подходов к микроразмножению винограда. Теоретические и прикладные проблемы АПК. 2020; 40(3) : 33-38. DOI: 10.32935/2221-7312-2020-45-2-33-38.
11. Павлова И.А., Зленко В.А., Волынкин В.А. Применение методов биотехнологии для получения оздоровленного посадочного материала винограда. Сучасний стан та перспектив и розвитку насінництва в Україні: Наукові праці Південного філіалу «Кримський Агротехнологічний університет» Національного аграрного університету. Сімферополь. 2008; 107 : 161-164.
12. Павлова, И.А., Косюк М.И. Получение асептической культуры подвоев винограда. «Магарач». Виноградарство и виноделие. Ялта. 2022; 24(1) : 6-11. DOI 10.35547/IM.2022.40.55.001.

13. Ребров А.Н., Дорошенко Н.П., Трошин Л.П. Некоторые аспекты создания базисных маточников винограда в условиях Усть-Кундрюченского песчаного массива. Научный журнал КубГАУ. 2018; 135(01). URL: <http://ej.kubagro.ru/2018/01/pdf/12.pdf>.
14. Трошин Л.П., Маградзе Д.Н., Талаш А.И. Комплексная устойчивость – необходимое интегральное свойство современных генотипов винограда. Научный журнал КубГАУ. 2013; 86(02) : 473-485.
15. Чекмарев Л.А., Олейников Н.П., Лиховской В.В. Методические рекомендации по созданию базовых маточников винограда с использованием метода *in vitro*. Ялта. 2010, 19 с.
16. El-Agamy S.Z., El-Mahdy T.K., Mohamed A.A. *In vitro* propagation of some grape rootstocks. Acta Horticulturae. 2009; 839 : 125-131.
17. Issam M. QRUNFLEH, Tarek G. AMMARI, Saeid ABU-ROMMAN Some Growth Parameters of ‘Red Globe’ Grafted on 140 Ru (Ruggeri) Rootstock Grown on Silty Clay Loam Soil under Diluted Brackish Water Irrigation. Research Article (Original Paper). 2018; 208-214.
18. Jamwal M., Singh B., Sharma N., Kumar R., Sharma A., Sharma R.M., Parmar A.M. *In vitro* regeneration of grape (*Vitis vinifera* L.) cv. ‘Perlette’. World Journal of Agricultural Sciences. 2013; 9(2) : 161-166. DOI: 10.5829/idosi.wjas.2013.9.2.1712.
19. Kinfе B., Feyssa T., Bedada G. *In vitro* micropropagation of grape vine (*Vitis vinifera* L.) from nodal culture. African Journal of Biotechnology. 2017; 16(43) : 2083-2091. DOI: 10.5897/AJB2016.15803.
20. Křižan B., Ondrušiková E., Moudrá J. The effect of media composition on multiplication of grape rootstocks *in vitro*. Acta Universitatis Agrariae et Silviculturae Mendelianae Brunensis. 2012; 60(8) : 141-144. DOI: 10.4236/ajps.2015.611181.
21. Kwon J.H., Park Y.S., Kim S.H., Heo J.Y. Evaluation of Genetic Stability and Effects of Plant Growth Regulators for *in vitro* Propagation of Underutilized *Vitis amurensis* ‘Cheongsan’. Not Bot Horti Agrobo. 2019; 47(3) : 987-994. DOI: 10.15835/nbha47311599.
22. Donald L. Suarez, Nydia Celis, Ray G. Anderson, Devinder Sandhu Grape Rootstock Response to Salinity, Water and Combined Salinity and Water Stresses. Switzerland. 2019, 17 p.
23. Motha K., Singh S.K., Singh R., Ram C., Srivastav M., Verma M.K., Dev R. Comparative *in vitro* propagation of stress tolerant grape (*Vitis* spp.) rootstocks and assessment of clonal fidelity of plantlets. The Horticultural Society of India. 2017; 74(3) : 317-325. DOI: 10.5958/0974-0112.2017.00065.2.
24. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant. 1962; 15 : 473-97.
25. Suarez D.L., Celis N., Anderson R.G., Sandhu D. Grape Rootstock Response to Salinity, Water and Combined Salinity and Water Stresses. Agronomy. Switzerland. 2019; 9(321) : 1-18. DOI: 10.3390/agronomy9060321.
26. Toma R.S. Micropropagation response of three grape vines (*Vitis vinifera* L.) cultivars to ferrous, nitrate and growth regulators. Vegetos An International Journal of Plant Research. 2018; 31(3) : 126-131. DOI: 10.5958/2229-4473.2018.00084.8.
27. Yancheva S., Marchev P., Yaneva V., Roichev V., Tsvetkov I. *In vitro* propagation of grape cultivars and rootstocks for production of pre-basic planting material. Bulgarian Journal of Agricultural Science. 2018; 24(5) : 801-806.
28. Zlenko V.A., Troshin L.P., Kotikov I.V. An optimized medium for clonal micropropagation of grapevine. Vitis. 1995; 34 : 125-126.

### References

1. Askerov E.S. Promising varietal-double combinations of grapes in Southern Dagestan. Actual problems of humanities and natural sciences. 2013; 10(1) : 66-69.
2. Batukaev A.A., Gaplaev M.S. Theoretical and practical foundations of health improvement and reproduction of fruit and berry crops and grapes by biotechnological method. Actual problems of biotechnology: health improvement and reproduction of fruit, berry, wild crops and grapes: proceedings of the All-Russian Scientific and Practical Conference: Makhachkala, 2019; 95-112.
3. Bugaenko L.A., Ivanova-Khanina L.V. Morphogenesis of grapes in culture in vitro. Scientific notes of V.I. Vernadsky Tauride National University. Series "Biology, Chemistry". 2011; 24(63) : 2 : 73-82.
4. Gavrilenko I.V., Matyash Yu.S., Gavrilenko A.V., Shanin D.A., Pavlova I.A., Likhovskoi V.V. Optimization of nutrient media for clonal micropropagation of the Kober 5 BB grape rootstock variety. "Magarach". Viticulture and winemaking". 2020; 22(4) : 298-303. DOI: 10.35547/IM.2020.19.99.002.
5. Golodriga P.Ya., Zlenko V.A., Chekmarev L.A., Butenko R.G., Levenko B.A., Pilin N.M. Methodological recommendations on clonal micro-propagation of grapes. Yalta: Magarach. 1986, 56 p.
6. The State Register of breeding achievements approved for use. "Plant varieties" (official publication). Moscow. 2022; 1 : 645 p.
7. Dikan A.P., Vilchinsky V.F., Vernovsky E.A., Zayats I.Ya. Viticulture of the Crimea. Simferopol. 2020, 408 p.
8. Doroshenko N.P. Health improvement, clonal micropropagation and deposition of grapes in culture in vitro. "Magarach". Viticulture and winemaking. 2015; 3 : 49-51.
9. Klimentenko V.P., Pavlova I.A. Optimization of conditions for improving the growth and development of plants obtained using biotechnological methods. Naukovi prazi Institute of Bioenergetic cultures i tsukrovikh buryakiv NAAN Ukraine. Kyiv, 2012; 16 : 261-264.
10. Komatsky S.A., Sedelnikova O.V., Guseva O.A. Problems of unification of methodological and technological approaches to micro-propagation of grapes. Theoretical and applied problems of agriculture. 2020; 40(3) : 33-38. DOI: 10.32935/2221-7312-2020-45-2-33-38.
11. Pavlova I.A., Zlenko V.A., Volynkin V.A. Application of biotechnology methods for obtaining healthy planting material of grapes. Suchasny stan ta prospects and development of the nasinnitva in Ukraine: Naukovi prazi Pivdenного filialu "Krimsky Agrotehnologichny universit" National Agrarian universit. Simferopol. 2008; 107 : 161-164.
12. Pavlova I.A., Kosyuk M.I. Obtaining aseptic culture of rootstocks of grapes. "Magarach". Viticulture and winemaking. Yalta. 2022; 24(1) : 6-11. DOI: 10.35547/IM.2022.40.55.001.
13. Rebrov A.N., Doroshenko N.P., Troshin L.P. Some aspects of the creation of basic grape queen cells in the conditions of the Ust-Kundryuchensky sand massif. KubGAU Scientific Journal. 2018; 135(01). UPL: <http://ej.kubagro.ru/2018/01/pdf/12.pdf>.
14. Troshin L.P., Magradze D.N., Talash A.I. Complex stability is a necessary integral property of modern grape genotypes. KubGAU Scientific Journal. 2013; 86(02) : 473-485.
15. Chekmarev L.A., Oleynikov N.P., Likhovskoi V.V. Methodological recommendations for the creation of basic grape queen cells using the in vitro method. Yalta, 2010, 19 p.
16. El-Agamy S.Z., El-Mahdy T.K., Mohamed A.A. *In vitro* propagation of some grape rootstocks. Acta Horticulturae. 2009; 839 : 125-131.
17. Issam M. QRUNFLEH, Tarek G. AMMARI, Saeid ABU-ROMMAN Some Growth Parameters of 'Red Globe' Grafted on 140 Ru (Ruggeri) Rootstock Grown on Silty Clay Loam Soil under Diluted Brackish Water Irrigation. Research Article (Original Paper). 2018; 208-214.

18. Jamwal M., Singh B., Sharma N., Kumar R., Sharma A., Sharma R.M., Parmar A.M. In vitro regeneration of grape (*Vitis vinifera* L.) cv. 'Perlette'. World Journal of Agricultural Sciences. 2013; 9(2) : 161-166. DOI: 10.5829/idosi.wjas.2013.9.2.1712.
19. Kinfе B., Feyssa T., Bedada G. In vitro micropropagation of grape vine (*Vitis vinifera* L.) from nodal culture. African Journal of Biotechnology. 2017; 16(43) : 2083-2091. DOI: 10.5897/AJB2016.15803.
20. Křižan B., Ondrušiková E., Moudrá J. The effect of media composition on multiplication of grape rootstocks *in vitro*. Acta Universitatis Sagriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis. 2012; 60(8):141-144. DOI: 10.4236/ajps.2015.611181.
21. Kwon J.H., Park Y.S., Kim S.H., Heo J.Y. Evaluation of Genetic Stability and Effects of Plant Growth Regulators for *in vitro* Propagation of Underutilized *Vitis amurensis* 'Cheongsan'. Not Bot Horti Agrobo. 2019; 47(3) : 987-994. DOI: 10.15835/nbha47311599.
22. Donald L. Suarez, Nydia Celis, Ray G. Anderson, Devinder Sandhu Grape Rootstock Response to Salinity, Water and Combined Salinity and Water Stresses. Switzerland. 2019, 17 p.
23. Motha K., Singh S.K., Singh R., Ram C., Srivastav M., Verma M.K., Dev R. Comparative *in vitro* propagation of stress tolerant grape (*Vitis* spp.) rootstocks and assessment of clonal fidelity of plantlets. The Horticultural Society of India. 2017; 74(3) : 317-325. DOI: 10.5958/0974-0112.2017.00065.2.
24. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant. 1962; 15 : 473-97.
25. Suarez D.L., Celis N., Anderson R.G., Sandhu D. Grape Rootstock Response to Salinity, Water and Combined Salinity and Water Stresses. Agronomy. Switzerland. 2019; 9(321): 1-18. DOI: 10.3390/agronomy9060321.
26. Toma R.S. Micropropagation response of three grape vines (*Vitis vinifera* L.) cultivars to ferrous, nitrate and growth regulators. Vegetos An International Journal of Plant Research. 2018; 31(3) : 126-131. DOI: 10.5958/2229-4473.2018.00084.8.
27. Yancheva S., Marchev P., Yaneva V., Roichev V., Tsvetkov I. In vitro propagation of grape cultivars and rootstocks for production of pre-basic planting material. Bulgarian Journal of Agricultural Science. 2018; 24(5) : 801-806.
28. Zlenko V.A., Troshin L.P., Kotikov I.V. An optimized medium for clonal micropropagation of grapevine. Vitis. 1995; 34 : 125-126.

## **USE OF WPM NUTRIENT MEDIUM FOR CLONAL MICROPROPAGATION OF GRAPE ROOTSTOCKS *IN VITRO***

**Kosyuk M.I., Pavlova I. A.**

*Russian National Research Institute  
of Viticulture and Winemaking "Magarach" RAS,  
Yalta Russia, the Republic of Crimea, e-mail: mary.kosyuk@gmail.com*

The main direction in the development of domestic nursery today is a creation of healthy planting material of high quality categories, an increase in the yield of elite seedlings, as well as an increase in the diversity of rootstocks assortment, taking into account the differences in soil and climatic zones for cultivating grape plantations. Due to the genetic specificity of morphogenesis in grape cultivars of various origins, which has a significant impact on the effectiveness of the technology for clonal micropropagation, it is important to focus on creating

optimal conditions for the mass clonal reproduction for each specific genotype at all technology stages while maintaining its genetic uniformity and resistance. The culture medium is one of the main factors influencing the morphogenesis of plants in the *in vitro* system. The purpose of this work was to investigate the possibility of using the WPM medium as a base when further modification is carried out to optimize the cultivation medium for effective clonal micropropagation of grape rootstocks. The rootstock grape cultivars 'Fercal' clone 242, 'Ruggeri 140', and 'Gravesak' (clones No. 11 and 12) were used as research material. The control was the rootstock 'Kober 5 BB'. The study was carried out on a WPM medium with the addition of NAA ( $\alpha$ -naphthylacetic acid) 0.05 mg/l. The results have shown that in this medium, harmonious growth is observed in all the studied rootstocks, higher biometric indicators have been recorded compared to the control cultivar, and the formation of more powerful morphological structures has also been recorded. Thus, the WPM medium can be used as a base for the development of an effective technology for clonal micro-propagation of the rootstocks 'Fercal' clone 242, 'Ruggeri 140', 'Gravesak' 11 and 'Gravesak' 12 in the *in vitro* system. Taking into account the morphogenesis features of these rootstocks, it is necessary to optimize the cultivation environment for each cultivar.

**Key words:** microcutting, morphogenesis, shoot formation, rooting, *in vitro*, rootstock 'Kober 5 BB', rootstock 'Ruggeri 140', rootstock 'Fercal' clone 242, rootstock 'Gravesack' (11 and 12).

УДК 631.523:634.1:635.9

doi: 10.31360/2225-3068-2022-82-103-114

## ОСОБЕННОСТИ РАЗМНОЖЕНИЯ *OSMUNDA REGALIS* L. МЕТОДАМИ БИОТЕХНОЛОГИИ

Шхалахова Р.М., Маляровская В.И., Конинская Н.Г., Киселёва Н.С.

Федеральный исследовательский центр  
«Субтропический научный центр Российской академии наук»,  
г. Сочи, Россия, e-mail: [malyarovskaya@yandex.ru](mailto:malyarovskaya@yandex.ru)

В настоящее время во всем мире остро стоит вопрос сохранения биологического разнообразия, связанного с увеличением антропогенной нагрузки на окружающую среду. Одним из эффективных способов решения данной проблемы является привлечение методов биотехнологии, которые имеют ряд преимуществ перед традиционно используемыми подходами. Статья посвящена актуальной на сегодняшний день проблеме сохранения исчезающих видов растений природной флоры Западного Кавказа. Особое внимание уделено редкому исчезающему виду папоротника *Osmunda regalis* L., который внесён в Красную книгу РФ. Одна из проблем исчезновения осмунды королевской в том, что в естественных местах обитания споры этого вида папоротника быстро теряют жизнеспособность. Данное исследование посвящено изучению особенностей размножения *Osmunda regalis* в условиях *in vitro*. Объектом исследований служили гаметофиты папоротника, полученные из спор собранных растений,