

Научная статья/Research Article

УДК 634.8

DOI: 10.36718/1819-4036-2023-11-10-18

Наталья Петровна Дорошенко¹, Валентина Георгиевна Пузырнова²^{1,2}Всероссийский НИИ виноградарства и виноделия им. Я.И. Потапенко – филиал Федерального Ростовского аграрного научного центра, Новочеркасск, Ростовская область, Россия¹n.doroschenko2013@yandex.ru; ORCID: 0000-0002-7284-120X²valentina.puzirnova@yandex.ru; ORCID: 0000-0003-3930-1639

ВЫЗРЕВАНИЕ РАСТЕНИЙ ДЛЯ СОЗДАНИЯ КОЛЛЕКЦИИ ВИНОГРАДА *IN VITRO*

Цель исследования – разработка способа создания коллекции генофонда винограда *in vitro* при совместном применении биотехнологических методов: модификации питательной среды и культивировании растений в условиях пониженной положительной температуры. В процессе культивирования при повышенном содержании сахарозы в питательной среде (50–70 г/л) появлялась осенняя окраска листьев и происходило вызревание побегов у различных сортов винограда: Сынун черный, Виерул, Цимлянский черный (клон 2-3), Каберне Совиньон, Кумшацкий, Рупестрис дю Ло, Цимладар, более слабое у сортов Красностоп золотовский, Баклановский, Сибирьковский. Это способствовало продлению сроков беспересадочного хранения растений. Достаточно высокая жизнеспособность растений при концентрации сахарозы 70,0 г/л в течение первых 5 месяцев культивирования постепенно снижалась при культивировании их в течение 8–9 месяцев. Установлена возможность регенерации *in vitro* растений из вызревших микрочеренков при культивировании их в течение одного года. Для повышения сохранности и жизнеспособности растений осуществляли хранение вызревших пробирочных растений в фармацевтическом шкафу при пониженной положительной температуре 1–8 °С. Растения хранились в плотно закрытых пробирках на твердой культуральной среде. При хранении в этих условиях в течение 3–4 лет растения имели длину вызревшей части побегов 49,8–70,3 %. Лучшее вызревание по сравнению с аборигенными – у межвидовых сортов винограда и подвоев. Через месяц культивирования одревесневших микрочеренков с живыми тканями на твердой питательной среде Мурасиге и Скуга выявлены единичная регенерация побегов и восстановление растений. Культивирование восстановленных растений в стандартных условиях на твердой питательной среде Мурасиге и Скуга с добавлением регулятора роста «Мелафен» в течение 3 месяцев способствовало дальнейшей регенерации и улучшению ростовых процессов как корней, так и побегов. Произошло полное восстановление растений. Доказана возможность беспересадочного хранения пробирочных растений винограда в течение 3–4 лет при сочетании двух факторов: повышенной концентрации сахарозы в составе питательной среды и пониженной положительной температуры 1–8 °С.

Ключевые слова: виноград, *in vitro*, коллекция генофонда винограда, сахароза, вызревание винограда, жизнеспособность растений

Для цитирования: Дорошенко Н.П., Пузырнова В.Г. Вызревание растений для создания коллекции винограда *in vitro* // Вестник КрасГАУ. 2023. № 11. С. 10–18. DOI: 10.36718/1819-4036-2023-11-10-18.

Natalya Petrovna Doroshenko¹, Valentina Georgievna Puzirnova²^{1,2}All-Russian Research Ya.I. Potapenko Institute for Viticulture and Winemaking – Branch of the Federal State Budget Scientific Institution “Federal Rostov Agricultural Research Centre”, Novocherkassk, Rostov Region, Russia¹n.doroschenko2013@yandex.ru; ORCID: 0000-0002-7284-120X²valentina.puzirnova@yandex.ru; ORCID: 0000-0003-3930-1639

RIPENING PLANTS TO CREATE A GRAPES COLLECTION *IN VITRO*

The purpose of the study is to develop a method for creating a collection of the grape gene pool *in vitro* using the combined use of biotechnological methods: modification of the nutrient medium and cultivation of plants under conditions of low positive temperature. During the cultivation process with an increased content of sucrose in the nutrient medium (50–70 g/l), autumn color of the leaves appears and shoots ripen in various grape varieties: Sypun Cherniy, Vierul, Tsimlyansky Cherniy (clone 2–3), Cabernet Sauvignon, Kumshatsky, Rupestris du Lo, Tsimladar, less in varieties Krasnostop zolotovskiy, Baklanovskiy, Sibirkoviy. This helped to extend the period of non-transplant storage of plants. The fairly high viability of plants at a sucrose concentration of 70.0 g/l during the first 5 months of cultivation gradually decreased when they were cultivated for 8–9 months. The possibility of *in vitro* regeneration of plants from mature microcuttings when cultivated for one year has been established. To increase the safety and viability of plants, matured test tube plants were stored in a pharmaceutical cabinet at a low positive temperature of 1–8 °C. Plants were stored in tightly closed tubes on solid culture medium. When stored under these conditions for 3–4 years, the plants had a length of the mature part of the shoots of 49.8–70.3 %. Better ripening compared to native ones occurs in interspecific grape varieties and rootstocks. After a month of cultivating lignified microcuttings with living tissues on the solid nutrient medium of Murashige and Skuga, single shoot regeneration and plant restoration were revealed. Cultivation of the restored plants under standard conditions on solid nutrient medium Murashige and Skuga with the addition of the growth regulator Melafen for 3 months contributed to further regeneration and improvement of growth processes of both roots and shoots. The plants were completely restored. The possibility of continuous storage of test tube grape plants for 3–4 years has been proven with a combination of two factors: an increased concentration of sucrose in the nutrient medium and a low positive temperature of 1–8 °C.

Keywords: grapes, *in vitro*, grape gene pool collection, sucrose, grape ripening, plant viability

For citation: Doroshenko N.P., Puzirnova V.G. Ripening plants to create a grapes collection *in vitro* [et al.] // Bulliten KrasSAU. 2023;(11): 10–18. (In Russ.). DOI: 10.36718/1819-4036-2023-11-10-18.

Введение. На современном этапе развития общества сохранение биоразнообразия растений является глобальной проблемой, так как изменение климата, экологические катастрофы, войны и антропогенное воздействие приводят к уничтожению растительного генофонда и наносят невосполнимый урон биологическому разнообразию Земли.

Микроклональное размножение широко используется в разных странах для создания высококачественного посадочного материала различных сельскохозяйственных культур, тем самым эффективно способствуя развитию сельского хозяйства в настоящее время и в обозримом будущем. Благодаря применению данного метода, появилась возможность создания банков *in vitro* редких и ценных генотипов растений [1–3].

При хранении коллекций *in vitro* в оптимальных условиях ($t = 20\text{--}25$ °C) возникает необходимость частого переноса растений на свежую питательную среду, что повышает стоимость хранения образца и увеличивает риск его инфицирования. Кроме того, частое пассирование микропобегов стимулирует активное деление

клеток, что может приводить к возникновению соматоклональных вариантов.

Хранение в условиях минимального роста – один из самых эффективных способов содержания коллекций [4–6]. Главный методический подход к депонированию растений *in vitro* – достижение состояния максимально замедленного метаболизма, способного поддерживать жизнеспособность растительных тканей.

Замедление роста обычно достигается за счет модификации сред [7] или условий культивирования. Наиболее часто для сохранения растений в коллекции применяют пониженные положительные температуры [8], снижение интенсивности освещения, уплотняют питательную среду путем повышения в ней содержания агара [9]. Для торможения роста растений помимо этого в питательную среду добавляют осмотики сорбит [10], манит, ретарданты (например хлорохлинхлорид), гормоны (регуляторы роста) и др. [11]. Следует отметить, что во всех рассмотренных способах продолжительность беспересадочного хранения увеличивается практически вдвое и составляет около 12 месяцев. Однако биологические особенности растений позволяют более

продолжительное беспересадочное хранение растений – до 2–3 лет [12].

Известна возможность получения растений *in vitro* с вызревшей лозой [13]. Авторы отмечают, что теоретически растения с вызревшей лозой *in vitro* (микросаженцы) можно в течение нескольких лет хранить плотно упакованными в ящиках без освещения при температуре 1–7 °С, перевозить на большие расстояния и создавать коллекцию сортов. Однако это не подтверждено фактическими данными.

Цель исследования – разработка способа создания коллекции генофонда винограда *in vitro* при совместном применении биотехнологических методов: модификации питательной среды и культивировании растений в условиях пониженной положительной температуры.

Задачи: разработка длительного (до 2–3 лет) депонирования растений винограда *in vitro* с вызревшей лозой, позволяющего за счет увеличения продолжительности беспересадочного хранения, сокращения трудозатрат и исключения дорогостоящих реактивов повысить экономическую эффективность хранения генофонда винограда *in vitro* и обеспечить сохранность генетической стабильности образцов.

Материалы и методы. Исследование проводили по общепризнанным в биотехнологии методикам на классических, донских аборигенных, подвойных сортах и сортах винограда селекции института в стационарных лабораторных условиях в период 2014–2021 гг.

Для опытов отбирали растения, регенерированные из апикальных меристем размером 0,1–0,2 мм и размноженные в культуре *in vitro*. В операционной комнате в ламинарном боксе «Фортран» осуществляли микрочеренкование растений. Длина микрочеренка: 10–12 мм, 1–2 мм над глазком, остальная под глазком.

Полученные микрочеренки высаживали по одному в пробирку на твердую питательную

среду Мурасиге и Скуга следующего состава мг/л: макроэлементы: NH_4NO_3 – 138, KNO_3 – 950, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ($\text{MgSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) – 185, KH_2PO_4 – 68, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ – 166; микроэлементы: H_3BO_3 – 6,2, $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ($\text{MnSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) – 22,3, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ – 0,025, $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ – 0,025, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 8,6, Na_2MoO_4 – 0,25, KJ – 0,83; хелат железа: железо серноокисное 7-водное ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) – 27,8, трилон-Б- $\text{Na}_2\text{ЭДТА}$ – 37,3; витамины: мезоинозит – 50, тиамин HCl – 0,2; ИУК – 0,1–3 мг/л; рН среды перед автоклавированием – 5,7–5,9 (рис. 1).

Культивирование осуществляли в культуральной комнате при освещенности 3,0 тыс. люкс, фотопериоде 16/8 ч, температуре $25\text{--}27 \pm 2$ °С, влажности воздуха 70–75 %.

Повторность опыта 3-кратная, в каждой повторности по 14 растений.

Показатели, учитываемые при регенерации и сохранении растений: приживаемость, гибель от инфекции, гибель из-за отсутствия развития, число корней, длина корней, средняя длина корня, ризогенная зона, высота растений, количество листьев всего и на 1 см побега, скорость роста, коэффициент полярности.

Жизнеспособность растений оценивали по количеству некрозов тканей листьев и побегов: 0 баллов – визуальная гибель растения; 1 балл – некроз более 50 % тканей растения; 2 балла – некроз менее 50 % тканей; 3 балла – растения без некроза.

Результаты и их обсуждение. Установлено, что в процессе культивирования происходит вызревание побегов растений в пробирках, которое зависит от содержания сахарозы в составе питательной среды. Наибольшее число растений сорта Баклановский с вызреванием побегов выявлено при концентрации сахарозы 50–60 г/л (табл. 1).

Таблица 1

Показатели вызревания *in vitro* растений сорта Баклановский при различном содержании сахарозы в составе питательной среды (2014 г.)

Сахароза, г/л	Продолжительность хранения, дней	Вызревших растений, шт.	Длина вызревшей части побегов, см
20,0	330	1	6,0
30,0	330	2	2,5
40,0	330	3	5,3
50,0	330	6	5,5
60,0	330	1	4,0



Рис. 1. Вызревание растений сорта Сибирьковый в процессе хранения

Вызревание лозы произошло и при культивировании растений сортов Крестовский и Сибирьковый (табл. 2). Лучшее вызревание выявлено при концентрации сахаразы 60,0 г/л, что

позволило получить 140 одноглазковых микрочеренков. Этого количества достаточно для регенерации растений, массового их тиражирования и перезакладки коллекции.

Таблица 2

Число вызревших микрочеренков при продолжительном культивировании растений в зависимости от содержания сахаразы в питательной среде (2011–2012 гг.)

Сорт	Концентрация сахаразы, г/л						Всего
	10	20	30	40	50	60	
Крестовский	–	–	9	–	4	73	86
Сибирьковый	–	–	13	6	16	67	102
По двум сортам	–	–	22	6	20	140	188

В процессе продолжительного бесперсачного хранения пробирочных растений на питательной среде с повышенными концентра-

циями сахаразы (50–60 г/л) появлялась осенняя окраска листьев и происходило вызревание побегов у 11 различных сортов винограда (табл. 3).

Таблица 3

Показатели вызревания побегов некоторых сортов винограда при содержании сахаразы в питательной среде 60,0 г/л

Сорт	Продолжительность хранения, дней	Вызревших растений, шт.	Длина вызревшей части побегов, см
Сыпун черный	300	11	3,9
Виерул	300	11	4,0
Цимлянский черный (2-3)	300	8	3,4
Кумшацкий	300	5	5,1
Цимладар	300	5	2,4
Баклановский	300	3	4,2
Каберне Совиньон	330	6	5,3
Кумшацкий	330	6	4,8
Рупестрис дю Ло	330	6	3,6
Красностоп золотовский	330	4	2,6
Сибирьковый	330	2	3,0

Факт вызревания побегов в условиях депонирования является положительным для создания коллекции. Вызрело по 11 растений сортов Сыпун черный и Виерул, 8 растений сорта Цимлянский черный (клон 2-3), по 5–6 растений сор-

тов Каберне Совиньон, Кумшацкий, Рупестрис дю Ло, Цимладар. Более слабое вызревание отмечено у растений сортов Красностоп Золотовский, Баклановский, Сибирьковский.

Таблица 4

Показатели жизнеспособности растений различных сортов при хранении их на питательной среде с содержанием сахарозы 70,0 г/л (2013 г.)

Сорт	Сохранилось, шт/%	Высота, см	Листьев, шт.			Жизнеспособность, баллы
			зеленых	пожелтевших	сухих	
Хранение в течение 159 дней						
Цимлянский черный (клон 2-3)	19/67,8	9,8	5,6	2,3	2,5	1,9
Косоротовский	18/64,2	7,5	5,8	2,4	2,8	2,1
Кукановский	9/32,1	9,0	5,5	1,9	3,6	2,1
Сибирьковский	15/53,6	7,8	4,8	2,0	3,1	1,9
Рупестрис дю Ло	9/32,1	5,2	4,4	1,0	1,0	2,0
Хранение в течение 247 дней						
Цимлянский черный (клон 2-3)	17/60,7	10,4	3,7	2,4	4,0	1,1
Косоротовский	17/60,7	8,6	4,1	4,9	2,9	1,1
Кукановский	9/32,1	9,7	3,0	3,0	4,0	1,1
Сибирьковский	7/25,0	8,8	5,5	3,1	5,5	1,0
Рупестрис дю Ло	7/25,0	5,7	4,0	1,9	2,5	1,1
Хранение в течение 263 дней						
Косоротовский	7/25,0	–	3,7	4,6	5,0	1,0
Кукановский	7/25,0	–	2,0	4,0	6,6	1,0
Сибирьковский	7/25,0	–	3,0	2,7	7,0	1,0
Рупестрис дю Ло	4/14,2	–	3,5	2,5	2,5	1,2
Цимлянский черный (клон 2-3),	0	сухие	0	2,0	7,3	0

Пониженная положительная температура – фактор, замедляющий ростовые процессы. В связи с этим дополнительно к культивированию при повышенном содержании сахарозы осуществляли хранение вызревших пробирочных растений в фармацевтическом шкафу при пониженной положительной температуре 1–8 °С. Растения хранились в плотно закрытых пробирках с твердой питательной средой.

Вызревшие растения хранили в течение года в фармацевтическом шкафу, а затем они были расчеренкованы и высажены на свежую питательную среду. Выявлено, что микрочеренки сохранили регенерационную способность. Та-

ким образом, установлена возможность регенерации *in vitro* растений из вызревших микрочеренков, что способствует продлению сроков беспересадочного хранения.

В фармацевтическом шкафу в течение 1 года хранили вызревшие растения сортов Памяти Кострикина, Виерул, Феркаль, Рупестис дю Ло, SO₄, в течение 2 лет – растения сортов Крестовский и Сибирьковский, в течение 3 лет – растения сортов Денисовский, Сибирьковский, Фиолетовый ранний, 4 года хранили растения сортов Баклановский, Виерул, Сыпун черный, Цимладар, Сибирьковский (рис. 2). Характеристика их состояния представлена в таблице 5.



Рис. 2. Хранение растений в фармацевтическом шкафу

Таблица 5

Показатели состояния растений после хранения при температуре 8 °С в течение 3–4 лет

Сорт	Длительность хранения, лет	Растений с вызреванием, шт.	Высота растений, см	Вызревание побегов	
				см	%
Межвидовые сорта					
Баклановский	4	8	10,7	4,0	49,9
Виерул	4	8	10,4	7,0	67,8
Денисовский	3	3	14,6	10,3	70,3
Фиолетовый ранний	3	3	7,3	4,3	60,9
Аборигенные донские сорта винограда					
Сибирьковский	3	1,0	11,0	6,0	54,5
Сыпун черный	4	11,0	9,4	5,8	64,1
Цимладар	4	6	6,9	4	68,9
Цимлянский черный (клон 2-3)	4	5	9,7	5,3	55,0
Подвойный сорт					
Рупестрис дю Ло	3	6	6,3	4,3	67,7

Растения после хранения были одревесневшими с различной степенью вызревшей части. Среда в пробирках не высохла. Длина вызревшей части, как это следует из данных таблицы 5, колебалась от 49,8 до 70,3 %. Лучшее вызревание по сравнению с аборигенными отмечено у межвидовых сортов винограда. Вызревание у

подвоев также было высоким. У сортов Виерул и Рупестрис дю Ло оно составило 67,8–67,8 %. Более значительное вызревание отмечено у сортов Фиолетовый ранний и Денисовский. Среди аборигенных сортов винограда по степени вызревания выделился Цимладар.

Растения сортов Баклановский, Виерул, Фиолетовый ранний, Денисовский, Сыпун черный, Цимладар и Цимлянский черный были расчерченкованы. Одревесневшие микрочеренки с живыми тканями были высажены на твердую питательную среду Мурасиге и Скуга.

Учет, проведенный через месяц, показал, что произошла единичная регенерация побегов у

сортов Баклановский, Сыпун черный. Кроме этого, отмечено образование побега без корней у сорта Фиолетовый ранний, корней (4 шт.) у сорта Цимладар. У остальных одревесневших микрочеренков развитие отсутствовало. Состояние регенерации растений представлено в таблице 6.

Таблица 6

Показатели регенерации растений в стандартных условиях культивирования (30 дней) после 3–4 лет хранения при температуре 1–8 °С

Сорт	Продолжительность хранения, лет	Растения		Корень	
		Число, шт.	Длина побега, см	Число, шт.	Длина, см
Баклановский	4	2	2,5	1	2,3
			0,5	1	0,5
Фиолетовый ранний	3	1	0,3	–	–
Сыпун черный	4	1	1,0	1	0,8
Цимладар	4	1	–	4	

Дальнейшее культивирование этих восстановленных растений в стандартных условиях культуральной комнаты при освещенности 2,0–3,0 тыс. люксов, фотопериоде 16 ч, температуре 25–27 ± 2 °С, влажности воздуха 70–75 % на твердой питательной среде Мурасиге-Скуга с

добавлением регулятора роста «Мелафен» в концентрации 10⁻⁷ способствовало дальнейшей регенерации и улучшению ростовых процессов как корней, так и побегов, что показано в таблице 7. Происходило полное восстановление растений.

Таблица 7

Показатели ростовых процессов восстановленных растений при культивировании в течение 3 месяцев

Сорт	Корни			Высота, см	Число листьев всего, шт.	Коэффициент полярности
	Число, шт.	Длина, см	Ризогенная зона, см			
Фиолетовый ранний	2,1	0,7	1,7	1,5	2,0	0,7
Баклановский	3,0	2,4	7,2	4,5	4,2	1,6
Сыпун черный	4,6	1,6	7,3	4,6	5,1	1,5
Цимладар	4,0	0,9	3,6	1,7	2,0	2,1

На основании полученных данных впервые доказана возможность беспересадочного хранения пробирочных растений винограда при температуре 1–8 °С в течение 3–4 лет.

Заключение

1. В процессе продолжительного беспересадочного культивирования растений на питательной среде с повышенными концентрациями сахарозы появлялось осенняя окраска листьев и происходило вызревание побегов. Наибольшее число растений с вызреванием побегов обнаружено при концентрации сахарозы 50–70 г/л.

2. Степень вызревания *in vitro* зависит от сортовых особенностей растений: высокая у сортов Сыпун черный, Виерул, Цимлянский черный (клон 2-3); средняя у сортов Каберне Совиньон, Кумшацкий, Рупестрис дю Ло, Цимладар; слабая у растений сортов Красностоп Золотовский, Баклановский, Сибирьковский.

3. Для дальнейшего замедления ростовых процессов и сохранения уже вызревших растений необходимо осуществлять культивирование их при пониженной положительной температуре.

4. Выявлено, что в результате хранения при температуре 1–8 °С в течение 3–4 лет растения имели длину вызревшей части побегов

49,8–70,3 %. Лучшее вызревание по сравнению с аборигенными отмечено у межвидовых сортов винограда и подвоев.

5. Учет, проведенный через месяц культивирования, показал, что при посадке одревесневших микрочеренков с живыми тканями на твердую питательную среду Мурасиге-Скуга произошли единичная регенерация побегов и восстановление растений.

6. Культивирование этих восстановленных растений в стандартных условиях культуральной комнаты на твердой питательной среде Мурасиге-Скуга с добавлением регулятора роста «Мелафен» в концентрации 10^{-7} способствовало дальнейшей регенерации и улучшению ростовых процессов как корней, так и побегов. Произошло полное восстановление растений.

7. На основании полученных данных впервые доказана возможность беспересадочного хранения пробирочных растений винограда в течение 3–4 лет при сочетании двух факторов: повышенной концентрации сахарозы в составе питательной среды и пониженной положительной температуры 1–8 °С.

Список источников

1. *Vitis vinifera* L. germplasm diversity: a genetic and ampelometric study in ancient vineyards in the South of Basilicata region (Italy) / T. Labagnara [et al.] // *Vitis*. 2018. 57. № 1. P. 1–8.
2. Полулях А.А., Волынкин В.А., Лиховской В.В. Генетические ресурсы винограда института «Магарач». Проблемы и перспективы сохранения // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2017. № 21 (6). С. 608–616. DOI: 10.18699/VJ17.276.
3. Биотехнологические коллекции растений и криобанки – важная часть Национального банка-депозитария живых систем / А.М. Носов [и др.] // Мат-лы Междунар. науч. конф., посвящ. 85-летию Центрального ботанического сада НАН Беларуси (6–8 июня 2017 г.). Минск, 2017. С. 284–290.
4. Cruz-Cruz C.A., Gonzalez-Arao M.T., Engelmann F. Biotechnology and Conservation of Plant Biodiversity. Resources. 2013. 2: 73–95. DOI: 10.3390/resources2020073.
5. *In vitro* techniques for grapevine germplasm conservation / D. Bosco [et al.] // *Acta Hort.* 2015; 1082:201–205.

6. Looking for old grapevine varieties / C. Jiménez [et al.] // *Vitis*. 2019. Vol. 58. № 2. P. 59–60.
7. Муррофанова И.В. Минимализация роста декоративных растений под воздействием химических факторов в культуре *in vitro* // Биология клеток растений *in vitro* и биотехнология: тез. докл. VIII междунар. конф. (9–13 сентября 2003 г., г. Саратов). Саратов: Изд-во торгово-промышленной палаты, 2003. С. 202.
8. Крицкая Т.А., Кашин А.С. Особенности длительного депонирования культуры *in vitro* некоторых редких и исчезающих видов растений Саратовской области // Известия Саратовского университета. Сер. «Химия. Биология. Экология». 2016. Т. 16, вып. 1. С. 74–80.
9. Дорошенко Н.П., Пузырнова В.Г., Венценосцева Н.С. Плотность питательной среды при культивировании винограда *in vitro* // Русский виноград. 2019. Т. 9. С. 13–19.
10. Дорошенко Н.П., Пузырнова В.Г. Влияние осмотика сорбит на ростовые процессы винограда в культуре *in vitro* // Плодоводство и виноградарство Юга России. 2020. № 64 (4). С. 190–209.
11. Пат. RU 2700880. Способ длительного беспересадочного хранения растений винограда в культуре *in vitro* / Дорошенко Н.П.; патентообладатель Федер. Ростов. аграр. научный центр. № 2017135774; заявл. 05.04.2019; опубл. 11.12.2019, Бюл. № 35.
12. Бутенко Р.Г. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнология на их основе. М.: ФБК-ПРЕСС, 1999. 160 с.
13. Зленко В.А., Котикова И.В., Трошин Л.П. Методы *in vitro* для размножения оздоровленного посадочного материала винограда // Магарач. Виноградарство и виноделие. 2003. № 3. С. 38–39.

References

1. *Vitis vinifera* L. germplasm diversity: a genetic and ampelometric study in ancient vineyards in the South of Basilicata region (Italy) / T. Labagnara [et al.] // *Vitis*. 2018. 57. № 1. P. 1–8.
2. Polulyah A.A., Volynkin V.A., Lihovskoj V.V. Geneticheskie resursy vinograda instituta «Magarach». Problemy i perspektivy sohraneniya // Vavilovskij zhurnal genetiki i selekcii.

2017. № 21 (6). S. 608-616. DOI: 10.18699/VJ17.276.
3. Biotehnologicheskie kollekcii rastenij i kriobanki – vazhnaya chast' Nacional'nogo banka-depozitariya zhivyh sistem / A.M. Nosov [i dr.] // mat-ly Mezhdunar. nauch. konf., posvyasch. 85-letiyu Central'nogo botanicheskogo sada NAN Belarusi (6–8 iyunya 2017 g.). Minsk, 2017. S. 284–290.
 4. Cruz-Cruz C.A., Gonzalez-Arao M.T., Engelmann F. Biotechnology and Conservation of Plant Biodiversity. Resources. 2013. 2: 73-95. DOI: 10.3390/resources2020073.
 5. *In vitro* techniques for grapevine germplasm conservation / D. Bosco [et al.] // Acta Hort. 2015; 1082:201-205.
 6. Looking for old grapevine varieties / C. Jiménez [et al.] // Vitis. 2019. Vol. 58. № 2. P. 59–60.
 7. Mitrofanova I.V. Minimalizaciya rosta dekorativnyh rastenij pod vozdejstviem himicheskikh faktorov v kul'ture *in vitro* // Biologiya kletok rastenij *in vitro* i biotehnologiya: tez. dokl. VIII mezhdunar. konf. (9–13 sentyabrya 2003 g., g. Saratov). Saratov: Izd-vo trgovopromyshlennoj palaty, 2003. S. 202.
 8. Krickaya T.A., Kashin A.S. Osobennosti dlitel'nogo deponirovaniya kul'tury *in vitro* nekotoryh redkih i ischezayuschih vidov rastenij Saratovskoj oblasti // Izvestiya Saratovskogo universiteta. Ser. «Himiya. Biologiya. `Ekologiya». 2016. T. 16, vyp. 1. S. 74–80.
 9. Doroshenko N.P., Puzyrnova V.G., Vencenoseva N.S. Plotnost' pitatel'noj sredy pri kul'tivirovanii vinograda *in vitro* // Russkij vinograd. 2019. T. 9. S. 13–19.
 10. Doroshenko N.P., Puzyrnova V.G. Vliyanie osmotika sorbit na rostovye processy vinograda v kul'ture *in vitro* // Plodovodstvo i vinogradarstvo Yuga Rossii. 2020. № 64 (4). S. 190–209.
 11. Pat. RU 2700880. Sposob dlitel'nogo besperedochnogo hraneniya rastenij vinograda v kul'ture *in vitro* / Doroshenko N.P.; patentoobladatel' Feder. Rostov. agrar. nauchnyj centr. № 2017135774; zayavl. 05.04.2019; opubl. 11.12.2019, Byul. № 35.
 12. Butenko R.G. Biologiya kletok vysshih rastenij *in vitro* i biotehnologiya na ih osnove. M.: FBK-PRESS, 1999. 160 s.
 13. Zlenko V.A., Kotikova I.V., Troshin L.P. Metody *in vitro* dlya razmnozheniya ozdorovlennogo posadochnogo materiala vinograda // Magarach. Vinogradarstvo i vinodelie. 2003. № 3. S. 38–39.

Статья принята к публикации 05.09.2023 / The article accepted for publication 05.09.2023.

Информация об авторах:

Наталья Петровна Дорошенко¹, главный научный сотрудник лаборатории биотехнологии винограда, доктор сельскохозяйственных наук

Валентина Георгиевна Пузырнова², младший научный сотрудник лаборатории контроля качества виноградовинодельческой продукции

Information about the authors:

Natalya Petrovna Doroshenko¹, Chief Researcher at the Laboratory of Grape Biotechnology, Doctor of Agricultural Sciences

Valentina Georgievna Puzyrnova², Junior Researcher, Laboratory of Quality Control of Grape and Wine Products

