



И.А. Павлова, к.б.н. ст.н.с. отдела селекции, генетики винограда и ампелографии;
В.В. Лиховской, к.с.-х.н., нач. отдела селекции, генетики винограда и ампелографии
Национальный институт винограда и вина «Магарач»

СЕЛЕКЦИЯ СТОЛОВОГО ВИНОГРАДА НА РАННЕСПЕЛОСТЬ С ПРИМЕНЕНИЕМ МЕТОДОВ *IN VITRO*

Одним из направлений современной селекции винограда является создание высококачественных столовых сортов винограда очень раннего срока созревания, конкурентоспособных на рынке сбыта [1, 2]. В качестве материнских форм в скрещиваниях используют ранние столовые сорта, что затрудняет получение жизнеспособного потомства. У таких сортов семена имеют низкую всхожесть и в обычных условиях прорастают единичные экземпляры. Использование методов *in vitro* для культивирования семян винограда позволяет создать оптимальные условия для прорастания, роста и развития растений [3, 4].

Цель данной работы заключалась в повышении всхожести семян винограда в селекции столового винограда на раннеспелость с применением методов *in vitro*.

Материалом для исследования служили семена, полученные в результате гибридизации сорта Флора с различными опылителями (Новый подарок, Ришелье, Сверхранний эlegant, Кодрянка, Кардинал, Находка Мариуполя), проведенной Лиховским

*Для ранних сортов винограда характерна низкая всхожесть семян. Применили методы *in vitro* для повышения жизнеспособности семян и увеличения выхода растений. По популяциям всхожесть семян достигла 49,9 %. По результатам проведенных исследований заявлен новый столовый сорт винограда, на получение которого ушло восемь лет.*

Ключевые слова: *in vitro*, семена, раннеспелость, гибридные формы.

В.В. на участках в г. Мариуполе в 2005 г.

С целью определения оптимальной даты сбора материала, семена изолировали на разных этапах созревания ягоды: в начале размягчения; в начале созревания и в период физиологической зрелости. Стерилизацию семян проводили 96%-ным спиртом в течение 40 сек., затем 8 мин. 0,1%-ным диоцидом с последующей 3-кратной промывкой автоклавированной дистиллированной водой на протяжении 10 мин. В условиях ламинарного бокса после стерилизации и механической манипуляции по отсеканию халазальной части фрагмент семени с предполагаемым зародышем вводили в культуру. Культивирование проводили в темноте при $t +20-25^{\circ}\text{C}$. Для культивиро-

вания использовали только выполненные семена, содержащие эндосперм. Наличие эндосперма в семенах определяли визуально. Пустые семена отбраковывались. Культивирование семян проводили в темноте на модифицированной среде NN (1969), содержащей БАП в концентрации 0,5 мг/л [5].

По мере прорастания семян проводили дальнейшие операции. Для последующего роста и развития проростков в стерильных условиях их пересаживали в стаканчики (150 мл) на среду Н, содержащую БАП в концентрации 0,2–0,4 мг/л [6, 7]. Культивирование проростков, растений осуществлялось на свету при 16-часовом фотопериоде интенсивностью 1500 люкс и температуре $+27^{\circ}\text{C}$.



Таблица 1
Прорастание семян винограда в условиях *in vitro* в зависимости от этапа сбора

Популяция	Кол-во проростков, шт.	% прорастания			% прорастания после обновления среза
		I	II	III	
Флора х Новый подарок	22	13,6	13,6	9,2	63,6
Флора х Сверхранний эlegant	23	8,9	30,4	17,4	43,3
Флора х Находка Мариуполя	21	18,4	22,1	9,3	50,2
Флора х Ришелье	7	0	28,6	0	71,4
Флора х Кодрянкa	27	7,1	25,0	14,3	53,6
Флора х Кардинал	14	7,1	50,0	28,6	14,3

Таблица 2
Прорастание семян винограда, развитие растений в условиях *in vitro*

Популяция	Кол-во семян, шт.	Кол-во проростков, шт.	% прорастания	Кол-во растений	% растений
Флора х Новый подарок	55	22	40,0	15	68,2
Флора х Сверхранний эlegant	49	23	46,9	19	82,6
Флора х Находка Мариуполя	63	21	33,3	20	95,2
Флора х Ришелье	79	7	8,9	5	71,4
Флора х Кодрянкa	73	27	37,0	14	51,9
Флора х Кардинал	70	14	20,0	8	57,1
Всего	389	114	29,3	81	71,1

Когда побеги у растений достигали 4–5 междоузлий, их в стерильных условиях расчленовывали на 1–2-глазковые экспланты и высаживали на среду Н с добавлением гумата Na (30 мг/л). Культивирование проводили как на безгормональной среде, так и с добавлением НУК в концентрации 0,1 мг/л [6, 7]. Через 30–35 дней вырастали растения с развитой корневой системой и крепким побегом. Адаптацию растений к условиям *in vivo* и доращивание проводили в условиях гидропонной культуры на гравийном субстрате.

После высадки семян в условия *in vitro* каждые пять дней проводили наблюдения за их всхожестью, развитием растений. Первые проростки были зафиксированы через несколько месяцев после начала культивирования семян (рис.1). Период прорастания в среднем занял около шести месяцев. Семена, изолированные и высаженные на питательную среду на разных этапах созревания ягоды, прорастали с неодинаковой частотой. Семена, изолированные в начале размягчения ягоды, имели более длинный период прорастания. Семена, выделенные в период физиологической зрелости ягоды, труднее вводились в условия *in vitro*, наблюдалось инфицирование материала, увеличивалась доля пустых семян. Особенно в популяции Флора х Ришелье в этот период было отмечено значительное число пустых семян. Наиболее оптимальным для сбора материала был второй этап, в период начала созревания ягоды (табл.1). В популяции Флора х Кардинал 50% проростков было получено из семян, изолированных в это время. Для остальных популяций основная масса проростков была получена после обновления среза семени в халазальной части с последующей пересадкой на свежую питательную среду аналогичного состава.

По популяциям прорастание семян значительно варьировало – от 8,9% (Флора х

Ришелье) до 49,9% (Флора х Сверхранний эlegant) (табл. 2) Отмечено, что значительная часть проростков развивалась в растения в результате непосредственного роста осевых органов. Отклонения от нормального развития, различные аномалии семядольных листьев, подсемядольного колена, каллусообразования, формирование множественных побегов, что характерно для проростков, развивающихся в условиях *in vitro*, фиксировались в единичных случаях [8]. Растения развивались с крепким побегом, относительно крупной листовой пластинкой и мощной корневой системой (рис. 2). Всего получено 114 растений, что составило 71,1% от проростков.

С целью сохранения полученных гибридных форм растения размножали микрочеренкованием, затем высаживали на адаптацию в гидропонную теплицу (рис. 3.). По техническим причинам не удалось избежать потерь материала. Все же 50 гибридных форм были адаптированы и выращены полноценные саженцы. Приживаемость материала на поле в Мариуполе составила 100%. По предварительной оценке, было выделено 7 перспективных гибридных форм и привито на пятом участке в п. Отрадное. Дальнейшие исследования, проведенные уже на ЮБК, позволили в популяции Флора х Находка Мариуполя одну из гибридных форм под кодом 16ЛНМ заявить как будущий столовый сорт раннего срока созревания (рис. 4). В 2013 году передана заявка на экспертизу сорта Сонячне гроно (16 ЛНМ) для регистрации в Государственном Реестре сортов растений,



Рис.1. Прорастание семян винограда в популяции Флора х Новый подарок



Рис. 2. Растения винограда популяции Флора х Находка Мариуполя



Рис. 3. Адаптация растений винограда к условиям *in vivo* в гидропонной теплице



Рис. 4. Плодоношение сорта Сонячне гроно (ЛНМ 16)



пригодных для распространения в Украине [9].

Таким образом, применение методов *in vitro* для повышения жизнеспособности потомства, полученного от гибридизации ранних сортов винограда, позволило повысить всхожесть семян до 49,9%, получить полноценные растения. По результатам проведенных исследований заявлен новый столовый сорт винограда, на получение которого ушло восемь лет.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Иванченко В.И., Лиховской В.В., Олейников Н.П. Технологические требования, предъявляемые к столовым сортам винограда // Состояние и перспективы развития виноградарства АР Крым. – Ялта. НИВиВ «Магарач», 2013. – С.38–72.

2. Анализ о совершенствовании конвейера столовых сортов винограда в Украине / Иванченко В.И.,

Лиховской В.В., Олейников Н.П. // Виноградарство и виноделие. Сб. научн. тр. НИВиВ «Магарач». – 2012. – Т. XLII. – С.18–22.

3. Новикова В.И. Культивирование зародышей винограда в условиях *in vitro* в связи с селекцией. Автореф. дис... канд. биол. наук. – Кишинев, 1979. – 23 с.

4. Павлова И.А., Клименко В.П. Дифференциация стеноспермокарпических сортообразцов винограда по экспрессии в культуре семян *in vitro* // Вісник Харківського національного аграрного університету. Серія Біологія. – 2003. – Вып. 3 (2). – С.92–96.

5. Nisch J.P., Nisch C. Haploid plants from pollen grains // Science. – 1969. – 163. – P. 85–87.

6. Пат. 17919А Україна, МПК 6 А01Н4/00, А01Н1/04. Спосіб вирощування рослин з важкопрощуваного насіння і відбору стійких генотипів на рівні зародків / Зленко В.А., Котіков І.В., Трошин Л.П., Павлова І.О. / Україна. – №95010191; Заявл. 11.01.95; Опубл. 03.06.97, Бюл. № 5. – С. 3.1.18.–3.1.19.

7. Деклар. пат. на кор. мод. № 14365. Україна. Спосіб отримання рослин винограду від вихідних форм з низькою фертильністю / Павлова І.О., Клименко В.П. – №10662; Заявл. 11.11.2005 р.; Опубл. 15.05.06, Бюл. № 5.

8. Павлова И.А., Клименко В.П. Преодоление нежизнеспособности гибридных семян при стеноспермокарпии у винограда // Вісник Харківського національного аграрного університету. Серія Біологія. – 2009. – Вып. 3 (18). – С.69–74.

9. Лиховской В.В., Олейников Н.П., Левченко С.В., Рыбаченко Н.В. Оценка хозяйственно-ценных признаков новых столовых сортов и форм винограда селекции НИВиВ «Магарач» // Horticultură, viticultură și vinificație, silvicultură și grădini publice, protecția plantelor / Lucrări științifice vol. 36, part. 1. – Chișinău: Centrul editorial UASM, 2013. – Vol. 36, – Part 1-a, P. 344–348.

Поступила 30.10.2013

© И.А.Павлова, 2013

© В.В.Лиховской, 2013