

**И.И.Рыфф**, к.б.н., ст.н.с. отдела защиты и физиологии растений,  
**Ю.А.Иванов**, аспирант,  
**С.П.Березовская**, к.с.-х.н., ст.н.с. отдела защиты и физиологии растений  
Национальный институт винограда и вина «Магарач»

## ВОЗМОЖНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО МЕТОДА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОЛЕУСТОЙЧИВОСТИ ВИНОГРАДА

*Следствием орошения виноградников в большинстве случаев является засоление. Возрастание солей в корневой зоне растений приводит к физиологической засухе. В таких условиях важен скрининг подвоев на солеустойчивость. Предлагается возможность использования биотехнологического метода при определении солетолерантности.*

*Ключевые слова: засоление, солетолерантность подвоев, in vitro.*

Основным недостатком, связанным с орошением виноградников, является риск возрастания содержания солей в корневой зоне. Главной причиной повреждения растений при засолении является осмотический стресс: растения не могут потреблять раствор с повышенной концентрацией солей. Осмотическое давление почвенного раствора оказывается выше, чем таковое в клетках корня, из-за недоступности воды наступает физиологическая засуха.

Помимо того, что соли препятствуют поглощению воды растением, они оказывают и токсичное действие. Причём наиболее опасным являются соль

хлористого натрия. Возрастающая концентрация натрия в клетках препятствует поглощению калия и азота, являющихся элементами минерального питания, что приводит к голоданию растения [1].

Сорта и подвои винограда различаются по своим реакциям на засоление, которое негативно влияет на рост и развитие растения, снижает урожай и ухудшает его качество. К сожалению, в настоящее время не уделяется надлежащего внимания подбору конкретного сорта для тех или почвенно-климатических условий, для создания экологических ниш в условиях стресса [2].

Под стрессом подразумевается фактор, нарушающий нормальное функционирование, происходит угнетение ростовых процессов, снижение интенсивности фотосинтеза, нарушение поглощения элементов питания [3].

Для винограда характерны стрессовые состояния, наступающие в условиях засухи, засоления и действия ряда других абиотических и биотических факторов.

Большое значение имеет солетолерантность подвоев винограда, при одинаковой влажности почвы менее устойчивые перестают усваивать воду, в связи с чем актуальным становится тестирование растений на солеустойчивость.

В данном исследовании скрининг предполагается проводить биотехнологическим методом *in vitro*.

Пожалуй, только в культуре ткани можно вести подобные исследования в достаточном количестве для статистического анализа.

**Целью настоящего исследования** является изучение реакций растений винограда при искусственном засолении в культуре ткани. В связи с поставленной целью возникают следующие задачи:

- выявить концентрацию соли, создающую условия засоления в культуре ткани;
- установить возможность дифференциации сортов винограда по различию их реакции на засоление *in vitro*.

Материалом для исследования служили подвои Солонис 1616, Руджери 140, 41 Б. Последние были выбраны в качестве основных объектов исследования согласно анализу литературных данных.

Растения выращивались в световой комнате с фотопериодом 16 ч (лампы дневного света ЛД-2), при температуре 26-29°C. Посадка эксплантов проводилась в ламинарном боксе. Условия искусственной засухи создавались путём введения в среду соли.

Для корректного проведения экспериментов методами *in vitro* необходимо предварительно получить достаточное количество однородного опытного материала - эксплантов подвоев, выращенных в условиях культуры ткани. Получение массового количества эксплантов с одинаковой степенью развития обеспечивает чистоту проведения дальнейших опытов. В связи с этим проводимую экспериментальную работу удобно представить в виде следующих трёх этапов:

- введение почек исследуемых сортов-подвоев в условия культуры ткани;
- микрклональное размножение растений;
- тестирование сортов-подвоев на экспериментальных средах с солью.

На первом этапе осуществлялась посадка почек, взятых с верхушек побегов винограда *in vivo*. Почки всех подвоев высаживались на агаризованную питательную среду Мурасиге-Скуга с добавлением цитокинина БАП (6-бензиламинопурина) в концентрации 2 мг/л, последний был необходим для активации клеточных делений. У всех изучаемых сортов через 20-24 дня наблюдалось распускание почек и образование побегов высотой около 1,5 см.

При отсутствии инфицированности отмечено 100% образование побегов.

После введения исследуемого материала в условия культуры ткани переходили к следующему этапу - пересадке полученных эксплантов на среду, способствующую корнеобразованию и дальнейшему росту побега. На этом этапе пересаженные экспланты выращивались на среде Мурасиге-Скуга с добавлением НУК ( $\alpha$ -нафтилуксусной кислотой) в концентрации 0,1 мг/л. На третьем этапе выросшие *in vitro* растеньица черенкуются на экспланты с одной почкой и пересаживаются на опытные среды, содержащие осмотический компонент.

При засолении растения выживают благодаря изменению активности метаболизма и морфологическим адаптациям [4]. Солеустойчивость обусловлена способностью накапливать соли, сохраняя при этом высокое содержание воды. В данной работе осуществлялся поиск таких концентраций хлорида натрия, которые представляют возможность тестирования сортов винограда по морфофизиологическим параметрам *in vitro*. Экспланты субкультивировали на питательных средах с различными уровнями засоления: 150, 100, 80 мМ хлористого натрия. На каждую среду было высажено по 50 эксплантов. На 21-й день был проведён анализ развития растений. На среде с концентрациями соли 150 и 100 мМ корневая система не образовывалась, рост растений ингибировался высоким содержанием соли, наблюдался 100% летальный исход. При добавлении в питательную среду 80 мМ хлорида натрия отмечалась 100% гибель подвоя 41 Б, высокая смертность у Руджери 140, Кобера 5ББ (выжило 30%). Только подвой Солонис х Рипариа 1616 проявил высокую устойчивость – 60% его эксплантов выжили и сохранили способность к росту. Реакции растений на засоление совпали с их устойчивостью в полевых условиях [5]. Это позволяет допустить возможность биотехнологического метода при тестировании сортов и подвоев винограда на устойчивость к засолению.

Разный процент смертности свидетельствует о неоднозначности реакции культивируемых растений на искусственное засоление *in vitro*, что связано с различной генотипичной зависимостью реакции на данный абиотический фактор.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Афанасьева Н.Б., Березина Н.А. Введение в экологию растений. – МГУ. – 2011. – 800 с.
2. Зармаев А.А. Агроэкологический паспорт сорта винограда // Виноделие и виноградарство, 2009. - № 1. – С.12-13.
3. Косаківська І.В. Фізіолого-біохімічні основи адаптації рослин до стресів. – К.: Сталь, 2003. – 163 с.
4. Urechean A. V. The influence of stress induced by NaCl on morphogenetic aspects of the callus initiated from immature maize embryos / V. Urechean // Bulgarian Journal of Plant Physiology. – 2003. – Special Issue. – P.336-352.
5. Энциклопедия виноградарства в 3-х т. /Под ред. А.И.Тимуша. – Т.2. – Кишинев: Изд-во Молд. Сов. Энциклопедии, 1986.

Поступила 12.02.2013

©И.И.Рыф, 2013

©Ю.А.Иванов, 2013

©С.П.Березовская, 2013