

МОДЕЛИРОВАНИЕ КЛИМАТИЧЕСКИХ УСЛОВИЙ ДЛЯ АДАПТАЦИИ РАСТЕНИЙ ВИНОГРАДА *IN VITRO* К УСЛОВИЯМ *IN VIVO*

Павлова И.А., канд. биол. наук, Клименко В.П., д-р с.-х. наук

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Всероссийский национальный научно-исследовательский институт виноградарства и виноделия «Магарач» РАН» (Ялта)

Реферат. Применение климатической камеры KBWF Binder 240 позволяет задавать и моделировать определённые условия культивирования растений винограда на основе сочетания параметров таких факторов, как освещённость, фотопериод, влажность, температура. Проведены исследования по моделированию климатических условий для обеспечения плавного перехода растений *in vitro* к нестерильным условиям культивирования. На основе изменения показателей: фотопериода, температуры, влажности разработан режим культивирования растений винограда в климатической камере. Цикл рассчитан на семь суток, способствует ускорению процессов адаптации к условиям *in vivo*, снижению стрессовой нагрузки и сохранению высокой жизнеспособности растений винограда. Может использоваться для получения оздоровленного посадочного материала винограда методом клонального микроразмножения на заключительном этапе адаптации растений *in vitro* к условиям *in vivo*.

Ключевые слова: климатическая камера, температура, влажность, фотопериод, культивирование, сорт винограда, режим, жизнеспособность

Summary. KBWF Binder 240 climate chamber makes it possible to set and simulate certain conditions for grapevine cultivation based on combination of such parameters as light, photo-period, humidity, and temperature. Studies have been conducted to simulate climatic conditions to ensure smooth transition of *in vitro* plants to non-sterile cultivation conditions. Through changes in the indicator values of photo-period, temperature and humidity a schedule was developed for grapevine cultivation in a climatic chamber. The seven days cycle accelerates adaptation processes to *in vivo* conditions, reduces stress load and maintains high vitality of grapevine plants. It can be used to obtain healthy planting material of grapevines by clonal micropropagation at the final stage of *in vitro* plant adaptation to *in vivo* conditions.

Key words: climatic chamber, temperature, humidity, photo-period, cultivation, grape variety, mode, viability

Введение. Производство сертифицированного посадочного материала винограда в настоящее время – одно из главных направлений в виноградарстве. Приоритетным направлением в производстве оздоровленного посадочного материала винограда является применение технологии клонального микроразмножения *in vitro*, которая характеризуется высоким коэффициентом размножения, позволяет провести оздоровление и за короткое время получить массив полноценных саженцев винограда [1-4]. Применение климатической камеры KBWF позволяет моделировать режимы культивирования для разных этапов технологии клонального микроразмножения винограда. Регулятор MBI обеспечивает высокую точность при изменении циклов влажности, температуры и освещенности. Это позволяет моделировать широкий климатический диапазон в течение очень длительного времени. В институте «Магарач» ранее для разных этапов технологии было разработано шесть режимов культивирования растений *in vitro* в климатической камере [4-5].

Одним из самых важных этапов технологии, от которого напрямую зависит эффективность процесса размножения, является адаптация растений к нестерильным условиям. Основная задача состоит в смягчении стрессовой нагрузки и обеспечении плавного пере-

хода к культивированию в новых условиях. Ранее был разработан и апробирован режим адаптации, позволяющий обеспечивать частичное одревеснение побегов, что в дальнейшем увеличивает жизнеспособность растений в адаптационный и после адаптационный период [4]. В данном случае была поставлена задача ускорить адаптационные процессы растений к пониженной влажности.

Объекты и методы исследований. Объект исследования – культивирование растений *in vitro*, моделирование климатических условий для адаптации растений винограда *in vitro* к условиям *in vivo*. Материалом для исследований служили растения *in vitro* сортов: Кокур белый, Альминский, Памяти Голодриги, Маршал Фош, Цитронный Магарача по 20-30 штук каждого.

В процессе исследований использовали как принятые в биотехнологии методы, так и методы, разработанные в отделе селекции института «Магарач» [5-8]. Культивирование растений осуществлялось на свету при 16-часовом фотопериоде интенсивностью 1500 люкс и температуре +27 °С. Растения с 5-6 междоузлиями в открытых культуральных сосудах помещали в климатическую камеру в моделируемые условия культивирования, в зависимости от режима на 3; 5; 7 суток. После этого растения в течение 8-9 дней содержали в световой комнате, затем их пересаживали в почвенный субстрат с небольшим добавлением перлита. В дальнейшем растения культивировали в открытых контейнерах, без увлажнения воздушного пространства, с искусственным затенением от прямых солнечных лучей.

Обсуждение результатов. Применение климатической камеры позволяет задавать определённую освещённость и моделировать определенные условия культивирования на основе сочетания таких факторов, как фотопериод, влажность, температура. Для решения поставленной задачи было разработано несколько режимов адаптации растений к нестерильным условиям. Первый режим заключался в операциях по постепенному понижению влажности (до 60 %) при постоянном фотопериоде и температуре (табл. 1, 2).

Программа рассчитана на трое суток. Испытания данного режима провели на растениях двух сортов винограда Альминский, Памяти Голодриги. В жёстком режиме культивирования все растения сохранили жизнеспособность, при этом побег стал более твёрдым, лист плотным. В дальнейшем растения были пересажены в почвенный субстрат без плёночного укрытия, где они сохраняли жизнеспособность, однако резкое снижение влажности оказалось мощным стрессовым фактором, что привело к остановке роста. В следующей повторности увеличили цикл программы до пяти суток, с увеличением интервалов между изменением показателя влажности. Этого периода оказалось достаточно для высыхания среды, что привело к гибели растений.

Следующим этапом исследований было моделирование условий, способствующих ускорению адаптационных процессов на основе изменения показателей трёх факторов: фотопериода, температуры, влажности. Изменения влажности и температуры были привязаны к фотопериоду. Разница между температурными показателями на свету и в темноте составляла 5 градусов; влажности – 5 %. Процесс имел волновой характер, с постепенным понижением влажности до 60 %, и был рассчитан на пять суток.

Режим протестирован на растениях винограда двух сортов: Альминский и Памяти Голодриги. Растения культивировали в климатической камере в течение 5 суток в открытых культуральных стаканах со средой. Для предотвращения пересыхания среды добавляли по 20 мл дистиллированной воды в каждый сосуд перед началом культивирования и в середине цикла. Большинство растений изучаемых сортов после культивирования сохранили жизнеспособность. При этом побег у них стал более крепким, листочки более плотными, у 80 % растений сохранилась зелёная верхушка. Приживаемость в почвенном субстрате составила 50 %.

После тридцати дней культивирования жизнеспособность растений снизилась и составила всего 32 % от общего количества высаженного материала. Несмотря на низкий процент развития растений предложенный режим адаптации после определённых доработок может быть эффективным средством ускорения адаптивных процессов.

Таблица 1 – Программирование контроллера для температуры, освещения и вентиляции

Секция №	Температура W-1	Вентилятор FAN	Время Time	Контакты реле Sk								Начальная секция для цикла №	Количество повторов Cy	Отклонение температуры		Параметр постоянный Pa
				8	7	6	5	4	3	2	1			минимум T _{min}	максимум T _{max}	
01	25	****	00:30:00	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	-1999	+9999	1
02	25	****	08:00:00	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	-2	2	1
03	25	****	08:00:00	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	-2	2	1
04	25	****	08:00:00	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	-2	2	1
05	25	****	08:00:00	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	-2	2	1
06	25	****	08:00:00	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	-2	2	1
07	25	****	08:00:00	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	-2	2	1
08	25	****	08:00:00	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	-2	2	1
09	25	****	08:00:00	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	-2	2	1
10	25	****	08:00:00	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	-2	2	1
11	25	****	00:00:01	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	-1999	+9999	1

Таблица 2 – Программирование контроллера для влажности

Секция №	Температура W-1	Вентилятор FAN	Время Time	Контакты реле Sk								Начальная секция для цикла №	Количество повторов Cy	Отклонение температуры		Параметр постоянный Pa
				8	7	6	5	4	3	2	1			минимум T _{min}	максимум T _{max}	
01	25	****	00:30:00	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	-1999	+9999	1
02	25	****	08:00:00	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	-10	10	1
03	25	****	08:00:00	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	-10	10	1
04	25	****	08:00:00	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	-10	10	1
05	25	****	08:00:00	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	-10	10	1
06	25	****	08:00:00	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	-10	10	1
07	25	****	08:00:00	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	-10	10	1
08	25	****	08:00:00	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	-10	10	1
09	25	****	08:00:00	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	-10	10	1
10	25	****	08:00:00	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	-10	10	1
11	25	****	00:00:01	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	-1999	+9999	1

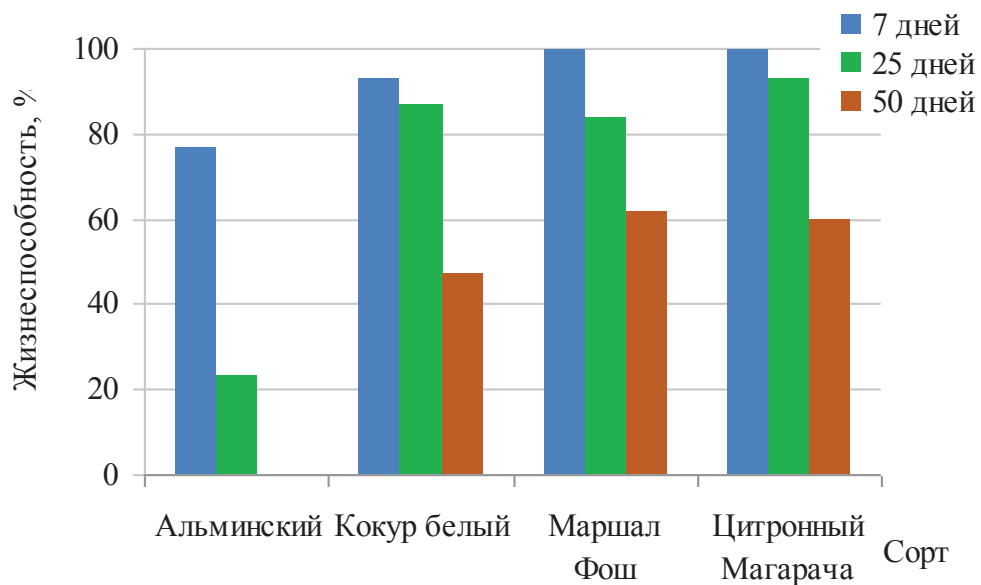
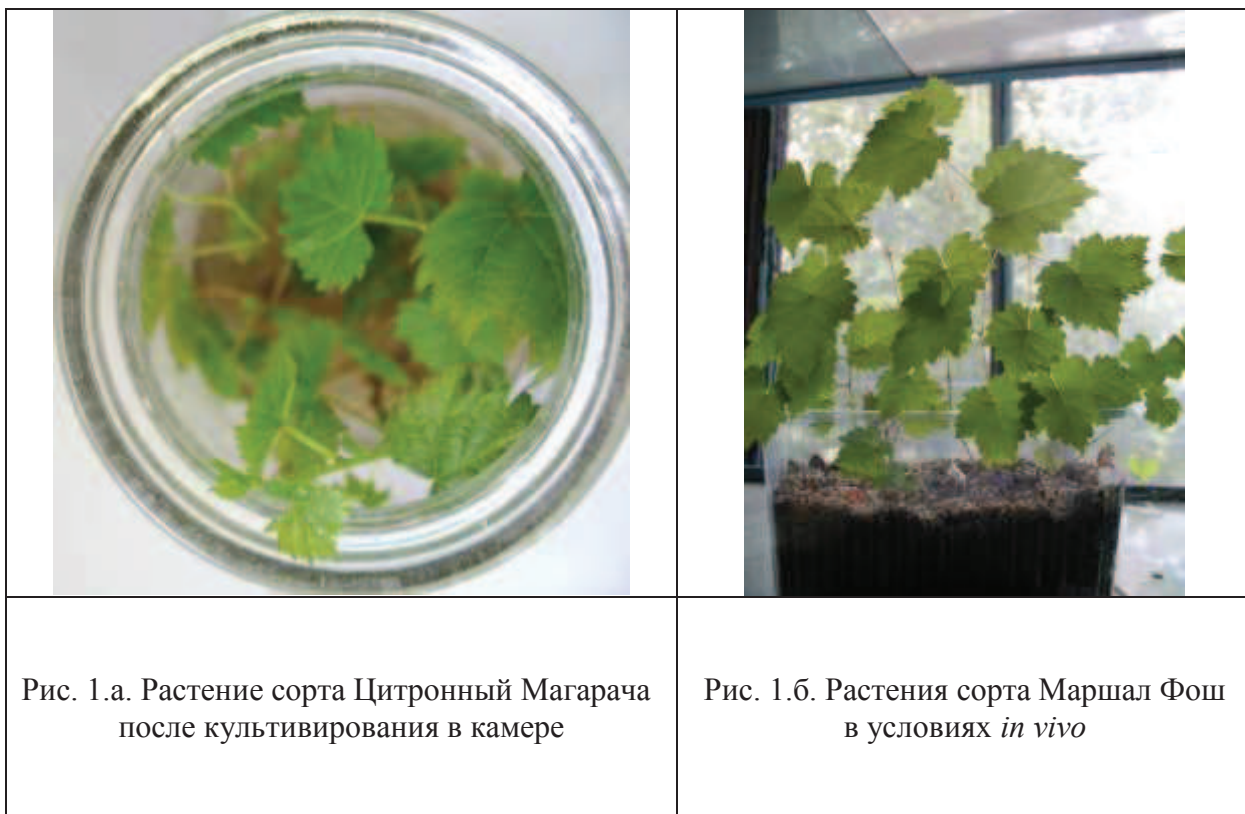


Рис. 2. Жизнеспособность растений винограда при переходе в нестерильные условия культивирования

На следующем этапе исследования увеличили цикл культивирования в камере до 7 суток. Тестирование разработанного режима адаптации растений *in vitro* в моделируемых нестерильных условиях культивирования проводили на четырех сортах винограда: Цитронный Магарача, Маршал Фош, Кокур белый, Альминский. После климатической камеры все образцы сохранили высокую жизнеспособность (рис. 1 а).

В дальнейшем после пересадки в почвенный субстрат наблюдали небольшое снижение жизнеспособности (рис. 2). Высокие показатели жизнеспособности отмечены у растений сортов Цитронный Магарача, Маршал Фош, Кокур белый (рис. 1 б). Растения сорта Альминский оказались менее жизнеспособными, хотя в предыдущем эксперименте они показали высокую жизнеспособность по сравнению с другими сортами. Изначально растения этого сорта по своим морфологическим показателям были хуже: имели более хрупкий вытянутый побег, мелкую листовую пластинку, закрученную верхушку. Для успешного хода адаптации растения должны быть без видимых аномалий, с хорошо развитой верхушечной меристемой, иметь прямостоячий побег длиной не менее трёх сантиметров, длину междоузлий, соответствующую среднему диаметру листа, листья зелёные, наличие не менее трёх корешков.

Выводы. В результате проведённых исследований было разработано и апробировано три режима культивирования в климатической камере для ускорения адаптационных процессов у растений винограда при переходе из условий *in vitro* к условиям *in vivo*. Лучшие результаты по показателям жизнеспособности растений отмечены, при применении режима, разработанного на основе изменения показателей трёх факторов: фотопериода, температуры, влажности; цикл семь суток. Данный режим может использоваться для получения оздоровленного посадочного материала винограда методом клонального микроразмножения на заключительном этапе адаптации растений *in vitro* к условиям *in vivo*.

Таким образом, использование камеры KBWF Binder 240 позволяет моделировать климатические условия, способствующие ускорению адаптационных процессов с сохранением относительно высокой жизнеспособности растений винограда.

Литература

1. Решетников В.Н., Спиридович Е.В., Носов А.М. Биотехнология растений и перспективы её развития // Физиология растений и генетика. 2014. Т. 46, № 1. С. 3-18.
2. Дорошенко Н.П. Оздоровление, клональное микроразмножение и депонирование винограда в культуре *in vitro*//«Магарач». Виноградарство и виноделие. 2015. № 3. С. 49-52.
3. Бугаенко Л.А., Л.В. Иванова-Ханина. Перспективы использования метода клонального микроразмножения *in vitro* у винограда // Научные труды учёных Крымского государственного агротехнологического университета. 2004. Вып. 83. С. 153-157.
4. Клименко В.П., Павлова И.А.Создание посадочного материала винограда высоких биологических категорий качества на основе использования современных агробиотехнологий // «Магарач». Виноградарство и виноделие. 2018. № 4. С. 34-36.
5. Клименко В.П., Павлова И.А. Оптимизация условий оздоровления, роста и развития растений винограда, полученных с помощью биотехнологических методов // Сборник научных трудов Института биоэнергетических культур и сахарной свеклы НААН Украины. 2012. Вып. 16. С. 261-264.
6. Бутенко Р.Г. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнология на их основе. Москва, 1999. 159 с.
7. Методические рекомендации по клональному микроразмножению винограда / П.Я. Голодрига [и др.]. Ялта: Магарач, 1986. 56 с.
8. Пат. 17919А Україна, МПК 6 А01Н4/00, А01Н1/04. Спосіб вирощування рослин з важкопророщуваного насіння і відбору стійких генотипів на рівні зародків / Зленко В.А., КотіковІ.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.