

УДК 634.8 (575.3)

DOI: 10.31040/2222-8349-2019-0-1-99-106

ЭЛЕМЕНТЫ ОПТИМИЗАЦИИ РИЗОГЕНЕЗА *IN VITRO* СОРТОВ ВИНОГРАДА РИЗАМАТ И ПОБЕДА

© Х.И. Бободжанова, Н.В. Кухарчик, А.Ё. Хаитов

Представлены данные по ризогенезу микропобегов винограда сортов Ризамат и Победа после периода покоя *in vitro* при температуре плюс 3–5°C в течение 5 месяцев. Оценено влияние концентрации ИМК (0.5 и 1.5 мг/л; контроль – 0 мг/л) и NH_4NO_3 (1/4 стандартной MS и без NH_4NO_3) на эффективность ризогенеза микропобегов исследуемых сортов винограда.

Показана высокая результативность инициации культуры *in vitro* и высокий коэффициент размножения. Отмечено достоверное положительное влияние хранения винограда при температуре плюс 3–5°C на морфометрические показатели микропобегов и коэффициент размножения.

Установлено достоверное ($p < 0.05$) влияние длительности культивирования и сорта на число листьев, совместное влияние длительности культивирования и сорта на число корней. В то время как длина корней зависела только от длительности культивирования. На длину побега отмечено значимое влияние сорта, длительности культивирования, а также их совместное действие.

Отмечено влияние концентрации NH_4NO_3 на эффективность ризогенеза микропобегов винограда исследуемых сортов. У сорта Ризамат процент ризогенеза во всех вариантах опыта высокий и варьирует в пределах от 65 до 100. В питательной среде с концентрацией NH_4NO_3 ¼ от стандартной ризогенез выше, чем в среде без аммонийного азота, и достигает 90–100%. Микропобеги винограда сорта Ризамат уже на 15-й день развития укоренились на 90%, а к 30 дню этот показатель составил 100%. Микропобеги сорта Победа, напротив, лучше укоренились на среде без аммонийного азота (100% укоренения к 30-му дню пассажа).

Отличаются и морфометрические показатели укорененных растений на разных концентрациях ИМК. Число корней отличается при трех концентрациях ИМК как для сорта Ризамат, так и для Победы, – максимальное значение отмечается при концентрации 1.5 мг/л. Концентрация ИМК достоверно влияла на количество корней обоих сортов.

Таким образом, в серии опытов показано влияние концентрации ИМК и NH_4NO_3 на эффективность ризогенеза микропобегов винограда сорта Ризамат и Победа.

Ключевые слова: Таджикистан, виноград, микроразмножение, ризогенез, индолил-3-маслянная кислота, морфометрические показатели.

Введение. В современной биотехнологии сохранение *in vitro* культур растений используется для снижения затрат на размножение, хранение коллекций оздоровленных растений, получение особо ценных генотипов, в том числе после гибридизации и трансгенеза. Виноград, как и многие другие плодовые растения, в естественных условиях имеет продолжительный период покоя, в течение которого растение характеризуется существенным изменением

физиологических процессов. Использование техники вынужденного периода покоя при выращивании растений в культуре *in vitro* позволяет оптимизировать отдельные этапы культивирования растений винограда. Известно несколько способов перевода растений, находящихся в культуре *in vitro*, в состояние минимальной вегетации, в том числе: выращивание растений при низких положительных температурах, использование гормональных или

БОБОДЖАНОВА Хуршеда Иномовна – к.б.н., Таджикский национальный университет, Центр биотехнологии, e-mail: bobojankh_7@bk.ru

КУХАРЧИК Наталья Валерьевна – д.с.-х.н., Институт Плодоводства НАН Республики Беларусь, e-mail: nkykhartchuk@gmail.com

ХАЙТОВ Ашурмахмад Ёрмахмадович, Таджикский национальный университет, Центр биотехнологии, e-mail: boss.khaitov@list.ru

осмотических ингибиторов [1–3]. Известен также способ, в котором для поддержания исходных культур используют постоянное выращивание растений при оптимальных условиях [4].

Развитие корневой системы в культуре *in vitro* определяется в первую очередь генотипом (способность к образованию корней в культуре *in vitro* коррелирует с укореняемостью черенков традиционными методами) [5]. Большое влияние на ризогенез оказывает состав питательной среды: минеральные компоненты на этапе укоренения и в предыдущих пассажах; источник и концентрация углеводов; консистенция среды; концентрация и соотношение биологически активных веществ и способ их воздействия на эксплант; степень развития и механические повреждения оснований черенка и ряд других факторов. Это свидетельствует о сложности процесса ризогенеза и трудности управления им, тем не менее, как показывают экспериментальные данные, при таком большом количестве факторов, влияющих на эффективность укоренения, существует столь же широкий спектр возможностей его оптимизации.

Обычно для инициации корнеобразования применяют ИМК, реже – другие ауксины (индолилуксусная кислота (ИУК), нафтилуксусная кислота (НУК), 2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота (2,4-Д) [5].

Оптимизация ризогенеза в культуре *in vitro* возможна и при изменении концентрации или соотношения форм азота в питательной среде. Наиболее часто для размножения плодовых и ягодных культур *in vitro* используется среда Мурасиге–Скуга (МС), отличающаяся, по данным Н.В. Катаевой и Р.Г. Бутенко [6], высоким содержанием неорганического азота. Н. Wainwright и А. W. Flegmann [7] считают, что концентрация KNO_3 и NH_4NO_3 должна составлять 6.7 мкМ. Ряд исследователей рекомендуют снижать содержание аммонийного азота на этапе ризогенеза винограда *in vitro* [8, 9].

Цель исследований: изучить влияние периода покоя *in vitro* при низких положительных температурах, а также концентрации ИМК и NH_4NO_3 на ризогенез микропобегов винограда.

Объекты и методы исследования. Объект исследования: сорта винограда Ризамат и Победа.

Ризамат – столово-изомный сорт винограда раннесреднего периода созревания. Получен в результате скрещивания Катта-Курган и Паркент.

Листья среднего размера, округлые, 5-лопастные, слаборассеченные, снизу голые. Черешковая выемка открытая, сводчатая, с округлым дном. Цветок у сорта обоеполый. Грозди крупные, конические, ветвистые, средней плотности. Ягоды очень крупные, весом до 14 г, цилиндрической формы, розовые, с одним более интенсивно окрашенным бочком, покрыты восковым налетом средней густоты. Вызревание побегов хорошее. Морозостойкость Ризамата слабая, устойчивость к оидиуму невысокая. Изюм из сорта винограда Ризамат отличается нарядным внешним видом и хорошим вкусом [10].

Победа – столовый сорт винограда, полученный скрещиванием сортов Забалканский × Мускат гамбургский. Вызревание побегов хорошее. Кусты сильнорослые. Урожайность высокая. Победа поражается грибными болезнями. Морозоустойчивость слабая. Листья средней величины, 5-лопастные, с удлинённой центральной лопастью. Цветки обоеполые. Грозди крупные, цилиндро-конические, от рыхлых до плотных, масса в среднем 450 г. Ягоды очень крупные, удлинённые, черные. Сорт хорошо переносит перевозки и долго хранится. Виноград используется в свежем виде и для сушки [10].

Методика исследований. Для культуры *in vitro* использовали меристемы, верхушечные и боковые почки, а также щитки. Выделение эксплантов осуществляли в период начала вегетации и активного роста побегов.

Для всех этапов культивирования использовали питательную среду Мурасиге и Скуга [11]. На этапе введения эксплантов в культуру *in vitro* использовалась среда МС в модификации [12], с добавлением мезоинозита (10 мг/л), 6-БАП – 1.1 мг/л, НУК – 0.09 мг/л. На этапе микроразмножения *in vitro* в питательную среду добавляли 6-БАП в концентрации 1,1 мг/л, на этапе ризогенеза – ИМК (0.5 мг/л). Концентрация сахарозы составляла – 20%, агара – 5 г/л, рН среды 5.7–5.8. Растения культивировали в пробирках размером 200×22 мм с объемом питательной среды 10 мл.

Были определены три варианта укоренения растений-регенерантов, полученных в процессе размножения *in vitro*.

Вариант 1. Условия укоренения растений *in vitro*: освещенность 2.5–3 тыс. люкс, температура плюс 21–23°C, фотопериод 16/8 часов. Длительность субкультивирования – 4 недели.

Вариант 2. Условия культивирования растений *in vitro*: период покоя (температура плюс 3–5°C в течение 5 месяцев без пассажирирования), укоренение (освещенность 2.5–3 тыс. люкс, температура плюс 21–23°C, фотопериод 16/8 часов), длительность укоренения – 4 недели.

Вариант 3. Условия культивирования растений *in vitro*: период покоя (температура плюс 3–5°C в течение 5 месяцев без пассажирирования), период вегетации (освещенность 2.5–3 тыс. люкс, температура плюс 21–23°C, фотопериод 16/8 часов), длительность культивирования 2 пассажа; затем пассаж укоренения (освещенность 2.5–3 тыс. люкс, температура плюс 21–23°C, фотопериод 16/8 часов).

В третьем варианте оценено влияние ИМК (0.5 и 1.5 мг/л; контроль – 0 мг/л) и концентрации NH_4NO_3 (1/4 от стандартной MS и без NH_4NO_3) на эффективность ризогенеза.

Статистическую обработку проводили, используя ANOVA, многофакторный дисперсионный анализ, критерий Дункана при $p=0.05$ для сравнения средних величин в программе Statistica 6.0.

Результаты исследования и их обсуждение. Начало роста введенных *in vitro* эксплантов отмечено через 20–25 дней. Для обоих сортов показана высокая результативность инициации культуры *in vitro*, не отмечено инфицированных и неразвивающихся эксплантов, наблюдаются единичные случаи некроза.

Лучшие показатели по инициации культуры *in vitro*, количество жизнеспособных эксплантов, равное 100%, получены для сорта Ризамат при использовании в качестве эксплантов меристемы и верхушечной почки. Использование боковых почек и щитков при инициации культуры *in vitro* имеет достаточно высокую результативность 81.2 и 87.5 % соответственно. Для сорта Победа отмечена 100%-я результативность при введении всех видов эксплантов.

При пассажирировании в течение 2 пассажей коэффициенты размножения сорта Ризамат и Победа отличаются и варьируют от 1.3 до 3.8.

Результативность микроразмножения исследованных сортов винограда после хранения в условиях низких положительных температур (третий вариант опыта) существенно отличается от растений, не подвергавшихся хранению. Коэффициент размножения микропобегов сорта Ризамат на первом, после холодного хранения, пассаже составил 3.4, на втором – 4.2; а для сорта Победа – 3.9.

Для ризогенеза использовали микропобеги длиной 1–2 см. Морфометрические характеристики микропобегов фиксировали на 15, 30 и 45-е сутки пассажа укоренения. При этом учитывали число и длину корней, длину побега и число листьев.

1 вариант. Процент укоренившихся растений сорта Ризамат через 15 дней составил 63.3%, через 30 дней – 80.0% и к концу пассажа на среде укоренения (45 дней) – 86.7%. Для сорта Победа процент укоренившихся растений через 15 и 30 дней составил 90.0%, однако к концу пассажа на среде укоренения (45 дней) часть растений погибла по причине некроза (в первую очередь корневой системы) и число укорененных растений снизилось до 46.7%, что свидетельствует о необходимости более ранней (через 30 дней) высадки растений сорта Победа на адаптацию. Морфометрические характеристики растений представлены на рис. 1.

Установлено достоверное ($p<0.05$) влияние длительности культивирования и сорта на число листьев, совместное влияние длительности культивирования и сорта на число корней. В то время как длина корней зависела только от длительности культивирования. На длину побега отмечено значимое влияние сорта, длительности культивирования, а также их совместное действие. К 45-му дню развития наблюдается существенный рост исследуемых показателей развития микропобегов, за исключением длины корней для обоих сортов, и их числа для сорта Победа.

2 вариант. У микропобегов винограда сорта Ризамат, хранившихся в течение 5 месяцев при низких положительных температурах, через 15 дней после пересадки на среду с концентрацией ИМК 0.5 мг/л отмечен 100%-й ризогенез. К 45-му дню развития отмечен единичный случай некроза (табл. 1). Для растений сорта Ризамат, не проходивших хранение при температуре плюс 3–5°C, на 45-й день укоренения отмечены меньшие средние значения числа корней (4.0 ± 0.47), числа листьев (4.77 ± 0.40), длины корней (0.95 ± 0.13 см).

3 вариант. На 15-й день развития растений на среде без ИМК процент укоренившихся растений низкий (20.0%) для обоих сортов винограда. К 30-му дню культивирования процент укорененных растений увеличивается до 40.0% для сорта Ризамат и до 26.7% для сорта Победа; к 45-му дню – до 60.0% для сорта Ризамат и до 46.7% для сорта Победа (табл. 2).

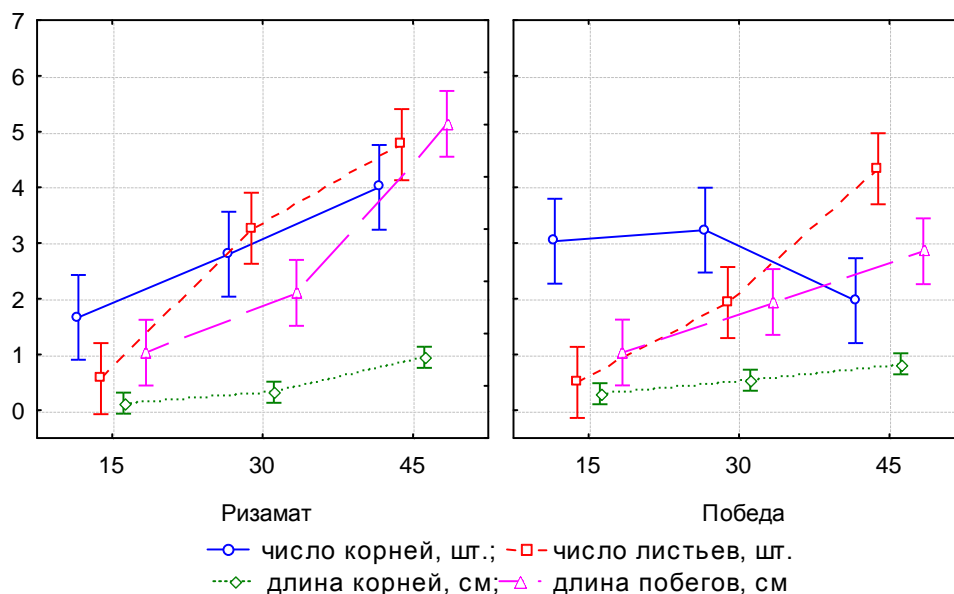


Рис. 1. Морфометрические показатели растений-регенерантов винограда ($n=30$) сортов Ризамат и Победа *in vitro* на питательной среде с концентрацией ИМК 0.5 мг/л (по горизонтали указаны дни развития, по вертикали – длина (см) и число (шт.))

Т а б л и ц а 1

Динамика морфометрических показателей растений-регенерантов винограда сорта Ризамат ($n=19$) на модифицированной питательной среде с концентрацией ИМК 0.5 мг/л (вариант культивирования 2)

Длительность пассажа, дни	Морфометрические показатели			
	число, шт.		длина, см	
	корней	листьев	корней	побега
15	3.53±0.40a*	2.95±0.45a	0.54±0.13a	1.30±0.13a
30	4.68±0.57ab	5.63±0.68b	1.23±0.30a	3.37±0.41b
45	6.30±0.78b	7.85±1.09b	2.24±0.44b	5.42±0.69c

П р и м е ч а н и е. *Одинаковое буквенное значение в столбцах означает недостоверность различий между средними значениями.

Т а б л и ц а 2

Влияние концентраций ИМК и длительности пассажа на ризогенез растений-регенерантов ($n=15$) винограда сортов Ризамат и Победа (вариант культивирования 3)

Концентрация ИМК, мг/л	Длительность пассажа, дни	Растений-регенерантов, %			
		Ризамат		Победа	
		с каллусом	укоренившихся	с каллусом	укоренившихся
0	15	13.3	20.0	6.7	20.0
	30	13.3	40.0	6.7	26.7
	45	6.7	60.0	0	46.7
0.5	15	20.0	46.7	26.7	33.3
	30	6.7	66.7	40.0	53.3
	45	0	80.0	26.7	66.7
1.5	15	46.7	53.3	13.3	26.7
	30	0	93.3	0	100.0
	45	0	93.3	0	100.0

Морфометрические показатели растений-регенерантов ($n=15$) винограда сортов Ризамат и Победа в зависимости от концентрации ИМК и длительности культивирования *in vitro* (вариант культивирования 3)

Концентрация ИМК, мг/л	Длительность пассажа, дней	Морфометрические показатели			
		число, шт.		длина, см	
		корней	листьев	корней	побега
Ризамат					
0	15	0.20±0.11a*	2.47±0.32abcdef	0.02±0.01a	0.83±0.08abc
	30	0.47±0.16ab	4.20±0.67defgh	1.84±0.62d	1.25±0.18abcd
	45	0.67±0.15ab	6.27±1.04h	2.85±0.69c	2.33±0.40ef
0.5	15	0.60±0.19ab	2.20±0.40abcd	0.06±0.02a	0.85±0.09abc
	30	1.47±0.35bc	3.67±0.42cdefg	0.67±0.15abc	1.39±0.23bcd
	45	2.07±0.37c	5.47±0.52gh	1.51±0.29cd	2.79±0.47f
1.5	15	0.86±0.22ab	1.00±0.22a	0.07±0.02a	0.63±0.05ab
	30	3.00±0.48d	2.73±0.51abcdef	0.47±0.13ab	0.95±0.12abc
	45	3.07±0.35d	4.47±0.58fgh	0.96±0.14abcd	2.17±0.30ef
Победа					
0	15	0.20±0.11a	2.33±0.37abcdef	0.02±0.01a	0.53±0.05a
	30	0.27±0.15a	3.20±0.41bcdef	0.37±0.32ab	0.91±0.10abc
	45	0.80±0.25ab	4.47±0.51fgh	0.95±0.52abcd	1.65±0.27cde
0.5	15	0.46±0.19ab	1.47±0.43ab	0.05±0.02a	0.51±0.13a
	30	0.67±0.18ab	2.6±0.67abcdef	0.6±0.25abc	0.88±0.14abc
	45	1.33±0.40bc	4.40±1.28efgh	0.87±0.33abc	1.84±0.43de
1.5	15	0.47±0.24ab	1.53±0.49abc	0.03±0.01a	0.73±0.09ab
	30	3.87±0.52de	2.27±0.73abcde	0.70±0.18abc	0.94±0.10abc
	45	4.13±0.52e	4.40±0.93efgh	1.13±0.21bcd	2.34±0.43ef

Примечание. *Одинаковое буквенное значение в столбцах означает недостоверность различий между средними значениями.

На среде с концентрацией ИМК 0.5 мг/л на 15-й день развития процент укоренившихся растений для сорта Ризамат составляет 46.7, для сорта Победа – 33.3%. К 30-му дню развития для сорта Победа укоренение составляет 53.3%, но наблюдается образование каллуса (до 40%). У сорта Ризамата укоренилось 66.7% растений. К 45-му дню ризогенез сорта Ризамат составил 80%, сорта Победа – 66.7, при значительном развитии каллуса – 26.7% растений.

На среде, содержащей 1.5 мг/л ИМК, к 30-му дню культивирования растения имеют максимальный показатель укоренения 93.3 и 100% для сорта Ризамат и Победа соответственно, не увеличивающийся к 45-му дню пассажа.

Отличаются и морфометрические показатели укорененных растений на разных концентрациях ИМК (табл. 3). Число корней отличается при трех концентрациях ИМК как для сорта Ризамат, так и для Победы, – максимальное отмечается при концентрации 1.5 мг/л. Концентрация ИМК достоверно влияла на число корней обоих сортов.

Установлено также влияние концентрации NH_4NO_3 на эффективность ризогенеза микропобегов винограда сортов Ризамат и Победа. Для сорта Ризамат процент ризогенеза во всех вариантах опыта высокий и варьирует в пределах от 65 до 100%. При этом в питательной среде с концентрацией $\frac{1}{4}$ NH_4NO_3 ризогенез выше, чем в среде без аммонийного азота, и достигает 90–100%. Микропобеги винограда сорта Ризамат уже на 15-й день развития укоренялись на 90%, а 30 дню этот показатель составил 100%. Микропобеги сорта Победа, напротив, лучше укоренялись на среде без аммонийного азота (100% укоренения к 30-му дню пассажа) (рис. 2).

Морфометрические показатели развития растений-регенерантов на питательных средах с разной концентрацией аммонийного азота отличаются у исследованных сортов винограда (табл. 4). Установлено достоверное влияние концентрации аммонийного азота на число и длину корней.

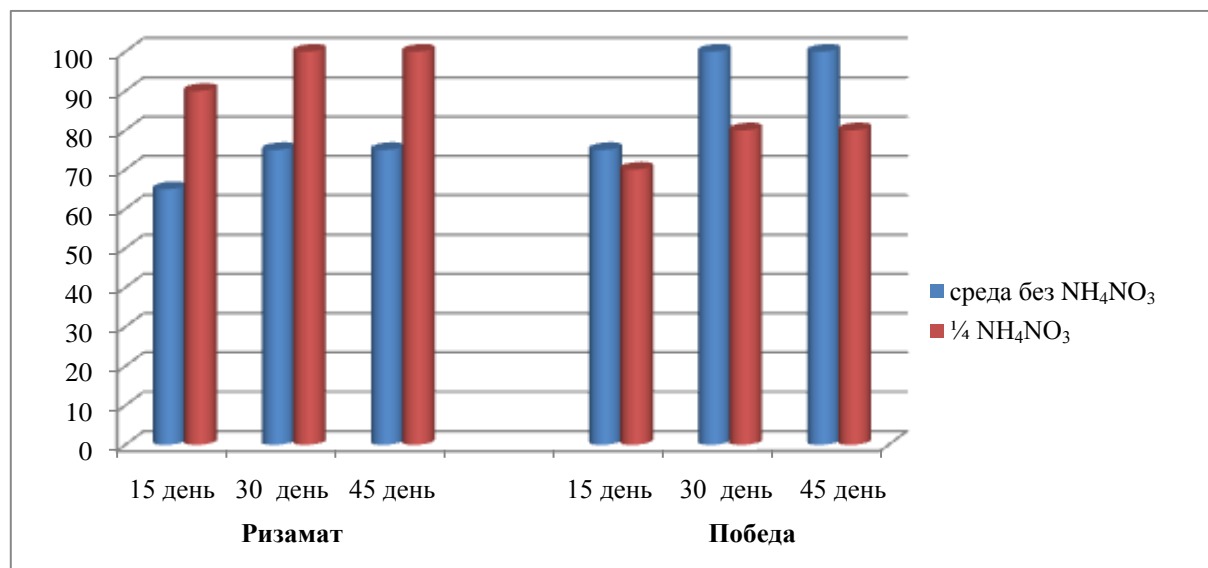


Рис. 2. Динамика ризогенеза микропобегов ($n=20$) винограда сортов Ризамат и Победа (*in vitro*) на питательной среде с разной концентрацией аммонийного азота (по горизонтали указаны дни развития, по вертикали – процент укоренения)

Т а б л и ц а 4

Динамика морфометрических показателей растений-регенерантов ($n=20$) винограда сортов Ризамат и Победа в зависимости от концентрации NH_4NO_3 , и длительности культивирования (вариант культивирования 3)

Длительность культивирования, дней	Концентрация NH_4NO_3	Морфометрические показатели			
		Число, шт.		Длина, см	
		корней	листьев	корней	побега
Ризамат					
15	среда без NH_4NO_3	1.50±0.41a*	1.80±0.27a	0.09±0.02a	0.74±0.05a
	1/4 NH_4NO_3	2.10±0.33ab	2.20±0.22ab	0.21±0.03a	0.76±0.06a
30	среда без NH_4NO_3	2.50±0.49abc	4.20±0.53c	0.63±0.12abc	1.26±0.13abc
	1/4 NH_4NO_3	4.05±0.44cd	5.25±0.29cd	1.06±0.12cd	1.66±0.17abc
45	среда без NH_4NO_3	5.05±0.98d	6.20±0.74de	1.68±0.25e	2.89±0.32bcd
	1/4 NH_4NO_3	7.30±0.54e	9.45±0.54f	4.47±0.29g	5.91±1.99e
Победа					
15	среда без NH_4NO_3	2.1±0.43ab	2.10±0.32a	0.35±0.06ab	0.95±0.05ab
	1/4 NH_4NO_3	2.3±0.47abc	1.40±0.22a	0.45±0.09ab	1.08±0.07abc
30	среда без NH_4NO_3	3.8±0.51bcd	4.50±0.35c	1.30±0.16de	2.04±0.22abcd
	1/4 NH_4NO_3	3.3±0.63abcd	3.65±0.63bc	0.79±0.14bcd	2.22±0.29abcd
45	среда без NH_4NO_3	4.35±0.56d	7.25±0.69e	2.56±0.27f	3.85±0.39d
	1/4 NH_4NO_3	3.73±0.76bcd	4.65±0.80c	1.19±0.28de	3.09±0.60cd

Примечание. *Одинаковое буквенное значение в столбцах означает недостоверность различий между средними значениями.

Морфометрические характеристики растений-регенерантов статистически достоверно отличались на 45-й день культивирования на среде с концентрацией $\frac{1}{4}$ аммонийного азота для сорта Ризамат по всем показателям. Лучшие морфометрические показатели отмечены для сорта Победа на 45-й день культивирования в среде без NH_4NO_3 , однако достоверное влияние выявлено только на число листьев и длину корней.

Так, например, число корней значительно отличается при разных концентрациях аммонийного азота для сорта Ризамат к 30-му дню развития и составляет на питательной среде без NH_4NO_3 2.5 ± 0.49 и на среде с $\frac{1}{4}$ NH_4NO_3 4.05 ± 0.44 , длина корней составляет 4.47 ± 0.29 см на 45-й день развития у растений сорта Ризамат. В этом же варианте опыта отмечается максимальное число листьев и длина побега.

Для сорта Победа большинство морфометрических показателей лучше на среде без аммонийного азота.

Выводы. Показана высокая (81.2–100%) результативность инициации культуры *in vitro* и высокий коэффициент размножения для винограда Ризамат и Победа. Отмечено достоверное положительное влияние хранения винограда при температуре плюс 3–5°C на морфометрические показатели микропобегов и коэффициент размножения *in vitro*.

Установлено достоверное ($p < 0.05$) влияние длительности культивирования и сорта на число листьев, совместное влияние длительности культивирования и сорта на число корней. В то время как длина корней зависела только от длительности культивирования. На длину побега отмечено значимое влияние сорта, длительности культивирования, а также их совместное действие: увеличение длины корней выявлено к 45-му дню развития для обоих сортов *in vitro*.

Отмечено влияние концентрации ИМК и NH_4NO_3 на эффективность ризогенеза, число и длину корней растений-регенерантов винограда сортов Ризамат и Победа.

Максимальный показатель ризогенеза растений-регенерантов, хранившихся при температуре плюс 3–5°C, в течение 5 месяцев (93.3 и 100% для сорта Ризамат и Победа соответственно), отмечен при концентрации ИМК 1.5 мг/л на 30-й день развития и не увеличивался к 45-му дню пассажа.

Все морфометрические характеристики растений-регенерантов сорта Ризамат статистически значимо отличались на 45-й день культивирования, при уменьшении концентрации аммонийного азота.

Оптимальные показатели ризогенеза (процент ризогенеза, длина и число корней) для сорта Ризомат установлены к 30-му дню развития при концентрации ИМК 1.5 мг/л, а также снижении на $\frac{3}{4}$ концентрации NH_4NO_3 .

Оптимальные показатели ризогенеза (процент ризогенеза, длина и число корней) для сорта Победа установлены на 45-й день развития при концентрации ИМК 1.5 мг/л, и на 30 день развития на питательной среде без NH_4NO_3 .

Литература

1. Способ длительного хранения *in vitro* растений осины. Шестибратов К.А., Видягина Е.О. URL: <http://www.findpatent.ru/patent/252/2522823.html>
2. Дорошенко Н.П. Оздоровление, клональное микроразмножение и депонирование винограда в культуре *in vitro* // Виноградарство и виноделие. 2015. № 3. С. 49–51.
3. Дорошенко Н.П. Создание и хранение коллекции винограда *in vitro* // Русский Виноград. 2016. Т 3. С. 8–14.
4. Узере Л. А.. Криосохранение и хранение генофонда. Биотехнология растений: культура клеток. М., 1989. 204 с.
5. Кухарчик Н.В. и др. Размножение плодовых и ягодных растений в культуре *in vitro*. Минск: Белорусская наука, 2016. 208 с.
6. Бургутин А.Б., Бутенко Р.Г., Катаева Н.В., Голодрига. Быстрое клональное размножение виноградного растения // Сельскохозяйственная биология. 1983. № 7. С. 48–50.
7. Wainwright H., Flegmann A.W. The mikropropagation of gooseberry (*Ribesuva – crisper* L.): I. Establishment // J. Holtikultural Science. 1985. Vol. 60. № 2. P. 215–221.
8. Дорошенко Н.П. Особенности клонального микроразмножения винограда. Новочеркасск: Изд-во ФГБНУ ВНИИВиВ Я.И. Потапенко. 2014. 204 с.
9. Медведева Н.И., Поливара Н.В., Трошин Л.П. Методические рекомендации по микроразмножению винограда *in vitro* // Научный журнал КубГАУ. 2010. №08(62). URL: <http://ej.kubagro.ru/2010/08/pdf/31.pdf>
10. Сорта винограда // Все о винограде. URL: <http://vinograd.info/sorta/sorta-vinograda>
11. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // Physiol. Plant. 1962. Vol. 15, N 3. P. 473–497.
12. Абдулалишоева, С.Ф., Бободжанова Х.И., Кухарчик Н.В. Использование методов биотехнологии при сохранении ценных сортов винограда // Материалы междунар. науч. конф. Биотехнологические приемы в сохранении биоразнообразия и селекции растений. 2014. С. 14–17.

References

1. Shestobratov K.A., Vidyagina E.O. Method for long-term *in vitro* conservation of aspen plants. Patent RF, no. 2522823, 2014. Available at: <http://www.findpatent.ru/patent/252/2522823.html>
2. Doroshenko N.P. Regeneration, clonal micropropagation and deposit of grapes in *in vitro* culture. *Vinogradarstvo i vinodelie*, 2015, no. 3, pp. 49–51.
3. Doroshenko N.P. Creation and storage of grape collection *in vitro*. *Russkiy vinograd*, 2016, vol. 3, pp. 8–14.
4. Withers L.A. Cryoconservation and storage of the gene pool. *Plant biotechnology: Cell culture*. Russian edition. Moscow, 1989. 204 p.
5. Kukharchik N.V., Kastritskaya M.S., Semenas S.E. Propagation of fruit and berry plants in *in vitro* culture. Minsk, Beloruskaya navuka, 2016. 208 p.
6. Burgutin A.B., Butenko R.G., Kataeva N.V., Golodriga P.Ya. Rapid clonal propagation of grape plants. *Selskokhozyaystvennaya biologiya*, 1983, no. 7, pp. 48–50.
7. Wainwright H., Flegmann A.W. The micropropagation of gooseberry (*Ribesuva crispa* L.): I. Establishment. *J. Horticultural Science*, 1985, vol. 60, no. 2, pp. 215–221.
8. Doroshenko N.P. Peculiar features of grape clonal micropropagation. *Novocherkassk, Vserossiyskiy nachno-issledovatel'skiy institut vinogradarstva i vinodeliya imeni Ya.I. Potapenko*. 2014. 204 p.
9. Medvedeva N.I., Polivara N.V., Troshin L.P. Methodical recommendation on *in vitro* microclonal propagation of grapes. *Nauchnyy zhurnal Kubanskogo gosudarstvennuy agrarnogo universiteta Krasnodar, Kubanskiy gosudarstvennyy agrarnyy universitet*, 2010, no. 8 (62). Available at: <http://ej.kubagro.ru/2010/08/pdf/31.pdf>
10. Grape varieties. All about grapes. Available at: <http://vinograd.info/sorta/sorta-vinograda>
11. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.*, 1962, vol. 15, no. 3, pp. 473–497.
12. Abdulishoeva S.F., Bobodzhanova Kh.I., Kukharchik N.V. Using biotechnological methods to store valuable grape varieties. *Materialy mezhdunarodnoy nauchnoy konferentsii «Biotekhnologicheskie priemy v sokhraneni bioraznoobraziya i selektsii rasteniy»*. Minsk, 2014, pp. 14–17.

**OPTIMIZATION ELEMENTS OF RISOGENESIS OF *IN VITRO*
GRAPE VARIETIES RIZAMAT AND POBEDA**

© Kh. I. Bobodzhanova¹, N.V. Kukharchyk², A.E. Khaitov¹

¹Tajik National University, Center of biotechnology,
17, Rudaki ave., bilding 3, 734025, Dushanbe, Tajikistan

²Institute for Fruit Growing,
2, ulitsa Kovaleva, 223013, Minsk region, Republic of Belarus

The article presents data on the rhizogenesis of the microgrove grapes of the Rizamat and Pobeda varieties, after a rest period *in vitro* at 4°C for 5 months. The effect of indolyl-3-butyric acid (0.5 and 1.5 mg / l, control – 0 mg/l) and the concentration of NH₄NO₃ (1/4 standard MS and without NH₄NO₃) on the efficiency of rhizogenesis of micro shoots of the studied grape varieties have been evaluated.

The high productivity of culture initiation *in vitro* and a high multiplication factor are shown. A reliable positive effect of grapes storage at +4°C on the morphological indices of micro shoots and the multiplication factor was noted.

A reliable (p < 0.05) effect of the duration of cultivation and variety on the number of leaves was established, the combined effect of the duration of cultivation and variety on the number of roots. While the length of the roots depended only on the duration of cultivation, on the length of the shoot a significant influence of the variety, the duration of cultivation as well as their joint action was noted.

The influence of NH₄NO₃ concentration on the efficiency of rhizogenesis of micro shoots of grapes of the studied varieties was noted. The percentage of rhizogenesis for Risamat variety, in all variants of the experiment is high and varies from 65 to 100. In a nutrient medium with a concentration of ¼ NH₄NO₃ the rhizogenesis is higher than in a medium without ammonium nitrogen and reaches 90–100%. Micro shoots of grapes of Rizamat variety on the 15th day of development already took root by 90%, and on the 30th day was 100%. Micro shoots of the Pobeda variety, on the contrary, took root on a medium without ammonium nitrogen (100% rooting by the 30th day of the passage).

The morphological characteristics of rooted plants differ at different concentrations of indolyl-3-butyric acid. The number of roots differs at three concentrations of indolyl-3-butyric acid for both Risamat and Pobeda varieties, the maximum is observed at a concentration of 1.5 mg / l. The concentration of indolyl-3-butyric significantly influenced the number of roots of both varieties.

Thus, in a series of experiments, the influence of the concentration of indolyl-3-butyric acid and NH₄NO₃ on the efficiency of rhizogenesis of microgrooves of the Rizamat and Pobeda grapes has been shown.

Key words: Tajikistan, grapes, micropropagation, rhizogenesis, indolyl-3-butyric acid, morphological indices.