








MPНТИ 68.35.53

<https://doi.org/10.26577/eb.2023.v97.i4.014>

Н.В. Ромаданова¹ , М.М. Аралбаева¹ , А.С. Земцова^{1*} ,
Н.В. Михайленко¹ , С.Ж. Казыбаева^{1,2} , Ж.Т. Тәуірбаева² ,
С.В. Кушнарченко¹ 

¹РГП «Институт биологии и биотехнологии растений», Казахстан, г. Алматы

²ТОО «Казахский научно-исследовательский институт плодовоовощеводства», Казахстан, г. Алматы

*e-mail: zemtsovaalina@gmail.com

СОЗДАНИЕ КОЛЛЕКЦИИ *IN VITRO* ГИБРИДОВ ВИНОГРАДА ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ МОЛЕКУЛЯРНОГО МАРКИРОВАНИЯ И ПОЛУЧЕНИЯ ВЫСОКОПРОДУКТИВНОГО СОРТА СТОЛОВОГО НАПРАВЛЕНИЯ

Целью эксперимента была оптимизация одного из этапов получения нового высокопродуктивного сорта винограда – введение и размножение в культуре *in vitro* побегов гибридов. В результате исследований в ТОО «Казахский научно-исследовательский институт плодовоовощеводства» создан гибридный фонд винограда столового направления. Проведены фенологические наблюдения и по комплексу хозяйственно-ценных признаков, выделены 3 гибридные формы винограда: KV-2/35, KII-1/29 и DV-10/11, готовые для передачи в первичное сортоиспытание. Установлено, что после 3 месяцев хранения черенков винограда при температуре 4°С процент прорастания побегов из спящих почек выше (50,4%) чем у черенков после 2 месяцев хранения (30,1%). Оптимальной длительностью стерилизации побегов, пророщенных из черенков в лабораторной комнате, является обработка в течение 5 мин в (0,1%) HgCl₂ (жизнеспособность – 27,2%). Для проросших в условиях питомника побегов оптимальной длительностью стерилизации, была обработка в течение 7 мин в (0,1%) HgCl₂ (жизнеспособность – 20,6%). Не выявлена контаминация винограда в условиях *in vitro* после контроля на специализированной среде 523. Для микроклонального размножения была выделена питательная среда: Мурасиге и Скуга с добавлением 30 г/л сахарозы, 1 мг/л 6-бензиламинопурина (БАП), 0,1 мг/л индолилмасляной кислоты, 0,1 мл/л гибберелловой кислоты (ГК), 1,5 г/л джелрайта, 4 г/л агара, рН 5,7. Установлено, что рН 5,7 является оптимальным для роста и развития *in vitro* побегов винограда. Добавление в питательную среду бактерицида Plant Preservative Mixture™ вызывало некроз пробирочных растений. Увеличение концентрации БАП до 1,0 мг/л активизировало появление новых побегов. Увеличение концентрации ГК и тидиазурона на коэффициент размножения и качество побегов влияния не оказало.

Ключевые слова: Виноград, гибриды, селекция, сорт, оптимизация микроклонального размножения, коллекция *in vitro*.

N.V. Romadanova¹, M.M. Aralbayeva¹, A.S. Zemtsova^{1*},
N.V. Mikhailenko¹, S.Zh. Kazybayeva^{1,2}, Zh.T. Tauirbaeva², S.V. Kushnarenko¹

¹Institute of Plant Biology and Biotechnology, Kazakhstan, Almaty

²Kazakh Scientific Research Institute of Fruit and Vegetable Growing, Kazakhstan, Almaty

*e-mail: zemtsovaalina@gmail.com

Creation of *in vitro* collection of grape hybrids for molecular marking and obtaining a highly productive variety of table direction

The aim of the experiment was to optimize one of the stages of obtaining a new highly productive grape variety – the introduction and propagation of *in vitro* hybrid shoots. As a result of research, a hybrid fund of table grapes was created in the Kazakh Scientific Research Institute of Fruit and Vegetable Growing. Phenological observations were also carried out on a complex of economically valuable traits, 3 hybrid forms of grapes were identified: KV-2/35, KII-1/29 and DV-10/11, ready for transfer to primary variety testing. It was found that after 3 months of storage of grape cuttings at a temperature of 4° C, the percentage of shoots germination from dormant buds is higher (50.4%) than that of cuttings after 2 months of storage (30.1%). The optimal duration of shoots sterilization sprouted from cuttings in the laboratory room is treatment for 5 minutes in (0.1%) HgCl₂ (viability – 27.2%). For shoots germinated in

the nursery, the optimal duration of sterilization was treatment for 7 minutes in (0.1%) $HgCl_2$ (viability – 20.6%). No contamination of grapes was detected *in vitro* after control on a specialized medium 523. For micropropagation, was optimal the nutrient medium: Murashige and Skug with the addition of 30 g/l sucrose, 1 mg/l 6-benzylaminopurine (BAP), 0.1 mg/l indolylbutyric acid, 0.1 ml/l gibberellic acid (GA), 1.5 g/l of Gelrite™, 4 g/l of agar, pH 5.7. It was found that pH 5.7 is optimal for the growth and development *in vitro* of grape shoots. The addition of the bactericide Plant Preservative Mixture™ to the nutrient medium caused necrosis of test tube plants. An increase in the concentration of BAP to 1.0 mg/l activated the appearance of new shoots. An increase in the concentration of GA and thidiazuron had no effect on the multiplication factor and the quality of the shoots.

Key words: grapes, hybrids, selection, variety, optimization of micropropagation, *in vitro* collection.

Н.В. Ромаданова¹, М.М. Аралбаева¹, А.С. Земцова^{1*},
Н.В. Михайленко¹, С.Ж. Казыбаева^{1,2}, Ж.Т. Тәуірбаева², С.В. Кушнаренко¹

¹Өсімдіктер биологиясы және биотехнологиясы институты, Қазақстан, Алматы қ.

²Қазақ Бау-бақша шаруашылығы ғылыми-зерттеу институты, Қазақстан, Алматы қ.

*e-mail: zemtsovaalina@gmail.com

Асхана бағытындағы жоғары өнімді сортты алу үшін молекулалық маркерлеуді жүргізу және жүзім будандарының *in vitro* коллекциясын құру

Эксперименттің мақсаты жаңа жоғары өнімді жүзім сортын алу кезеңдерінің будан өскіндерін *in vitro* жағдайына енгізу және көбейту сатыларын оңтайландыру. Зерттеу нәтижесінде «Қазақ жеміс-көкөніс шаруашылығы ғылыми-зерттеу институты» ЖШС-де асхана бағытындағы жүзімнің гибриді қоры құрылды. Шаруашылық-құнды белгілер кешені бойынша фенологиялық бақылаулар жүргізіліп, бастапқы сұрыптық сынаққа беруге дайын жүзімнің 3 гибриді түрі бөлінді: KV-2/35, KII-1/29 және DV-10/11. Жүзім кесінділерін 4°C температурада 3 ай сақтағаннан кейін (50,4%), тыныштық күйдегі бүршіктерден өскіндердің өну пайызы 2 ай сақтағаннан кейінгі (30,1%) кесінділерге қарағанда жоғары екендігі анықталды. Зертханалық бөлмедегі кесінділерден алынған өскіндердің зарарсыздандырудың оңтайлы ұзақтығы $HgCl_2$ (0,1%) ерітіндісінде 5 минуттық өңдеу болып табылады (өміршеңдік – 27,2%). Жылыжай жағдайында алынған өскіндер үшін зарарсыздандырудың оңтайлы ұзақтығы $HgCl_2$ (0,1%) ерітіндісінде 7 минуттық өңдеу екендігі анықталды (өміршеңдігі – 20,6%). Жүргізілген бақылаудан кейін мамандандырылған 523 қоректік ортасында *in vitro* жағдайында жүзімде контаминация анықталмады. Микрокональды көбейту мақсатында қоректік орта өзінді: Мурасиге және Скугқа 30 г/л сахароза, 1 мг/л 6-бензиламинопурина (БАП), 0,1 мг/л индолильмама қышқылы, 0,1 мг/л гиббереллин қышқылы (ГК), 1,5 г/л джелрайт, 4 г/л агар қосындысы, рН 5,7. рН 5,7 жүзім өскіндерінің *in vitro* жағдайында өсуі мен дамуы үшін оңтайлы екендігі анықталды. Қоректік ортаға Plant Preservative Mixture™ бактерицидінің қосылуы *in vitro* өсімдіктерінде некроз тудыратындығы анықталды. БАП концентрациясының 1,0 мг/л дейін артуы жаңа өскіндердің пайда болуын белсендірді. ГК және тидиазурон концентрациясын өзгерту өсімдіктердің көбею коэффициентіне және өскіндердің сапасына әсер еткен жоқ.

Түйін сөздер: жүзім, будандар, сұрыптау, сорт, микрокональды көбейтуді оңтайландыру, *in vitro* коллекциясы.

Введение

Виноград культурный (*Vitis vinifera* L.) – кустарник со сладкими плодами (ягодами). Ягоды винограда значимый пищевой продукт, сырьё для виноделия, в том числе растение используется как декоративное. Плоды и продукты переработки винограда характеризуются ценными вкусовыми, пищевыми (диетическими) и лечебными качествами. Ягоды богаты сахарами, органическими кислотами, минеральными веществами, пектинами, а также витаминами А, В1, В2, В6, С, Р, РР. Помимо этого, виноград служит источником незаменимых для человека ами-

нокислот. Аминокислоты участники жизненно важных процессов в организме (синтез белков, витаминов, гормонов, мочевины, регулирование липидного обмена, стимулирование интенсивности ростовых процессов и других). Полифенольные вещества, содержащиеся в винограде, ускоряют метаболизм. Антоцианы, катехины, пектиновые вещества и флавонолы снижают губительное воздействие радиации на организм, являются антиоксидантами [1].

Виноград выращивается человеком с доисторических времен. Известно множество его сортов и гибридов. Международная организация винограда и вина сообщает что в мире

на виноградники приходится 9,5-10,0 млн. га, объемы производства винограда достигают 60-70 млн. т. в год. Производительность столового винограда в мире на сегодняшний день составляет 7 млн. т. Первенство по выращиванию столовых сортов винограда занимает Италия – до 1,5 млн. т в год, затем СНГ – до 1,0 млн. и Турция – до 0,8 млн. т. Высоких результатов урожайности добились в США, Италии и Аргентине. Лидирует по качеству считается итальянский столовый виноград.

Промышленное виноградарство в Казахстане берёт своё начало с 30-х годов прошлого века. На данный момент по данным баланса земель (Основные положения Генеральной схемы организации территории Республики Казахстан (далее – РК)) на 1 ноября 2020 года, в РК числится 15,9 тыс. га. виноградников, 98% из них сосредоточено в Туркестанской, Алматинской, Жамбылской и Кызылординской областях [1,2]. В Казахстане реализуется программа восстановления виноградников. В отчете Комитета по управлению земельными ресурсами Министерства сельского хозяйства РК за 2020 год сообщается, что государство частично субсидирует затраты на освоение и реконструкцию новых площадей, но, несмотря на это, площади виноградников не увеличиваются [3]. В результате, валовой сбор винограда в Казахстане всего 71,7 тыс. тонн [1].

Для снижения импортозависимости необходимо увеличить площадь земель под выращивание винограда, а также нарастить объем производства винограда в том числе отечественных сортов. Широкий ассортимент сортов и форм винограда позволяет осуществлять селекционный отбор и внедрение современных высокопродуктивных сортов для увеличения валового сбора и повышения его качества. Применение ДНК-технологий на этапах селекционного процесса позволяют создать новый устойчивый к патогенам и негативным факторам внешней среды сорт [4]. Молекулярно-генетическая характеристика важна при создании устойчивых сортов к возбудителям различных болезней. Для винограда наиболее вредоносными заболеваниями являются – парша (возбудитель *Venturia pirina* Adern.) и милдью (возбудитель *Plasmopara viticola* (Berk. & Curt.) Berl. & de Toni.) [5]. Большую опасность для виноградарства представляют грибковые заболевания, которые вызывают опадание листьев, повреждение плодов, в конечном итоге могут привести к полной гибели урожая [6]. Молеку-

лярные маркеры, сцепленные с ценными генами, обеспечивают новый инструментарий для селекционеров [7]. Отбор перспективных гибридов с помощью ДНК маркирования позволит создать высокопродуктивный сорт винограда с эксклюзивными качественными показателями [8].

Для дальнейшего продвижения перспективных гибридов и полученного сорта, потребуется их массовое внедрение в селекционный процесс. Главная проблема виноградарства – производство саженцев с помощью прививания растений на огромных площадях маточников, их постоянное обновление и перезакладка является длительным и затратным процессом. Решением данной задачи служат методы биотехнологии, а именно метод массового клонирования растений в культуре *in vitro*, которые позволяют быстро и эффективно размножить донорные растения [9]. Для получения качественного посадочного материала используется микроклональное размножение как надежный метод размножения растений – одно донорное растение позволяет получить до миллиона саженцев. Научные исследования в области микроклонального размножения винограда проводятся многими учеными по всему миру [10,11], в том числе и в Казахстане [12]. В лаборатории криосохранения гермоплазмы ИББР проводятся работы по масс-клонированию различных плодовых, орехоплодных, ягодных культур, в том числе и винограда. Сотрудники лаборатории проводят оздоровление растений *in vitro* различными способами и получают свободные от патогенов саженцы [13-19].

В данной статье описан один из этапов (введение и размножение в культуре *in vitro* гибридов винограда) получения нового крупноплодного, устойчивого к грибным заболеваниям, адаптированного к природно-климатическим условиям южных регионов Казахстана сорта винограда. Авторы планируют провести агробиологическую оценку, отбор гибридных растений с помощью ДНК маркирования, которые позволят создать высокопродуктивный сорт винограда столового направления, отвечающий современным требованиям производства и потребителя для передачи на Государственное сортоиспытание. Полученный сорт планируется размножить в культуре *in vitro*, и получить саженцы для закладки селекционных питомников.

Целью исследования является оптимизация одного из этапов получения нового высокопродуктивного сорта винограда – введение и размножение в культуре *in vitro* побегов гибридов.

Задачи исследования:

1. Оценка и отбор перспективных гибридов винограда по хозяйственно-ценным признакам в полевых условиях и по устойчивости к опасным грибным заболеваниям.

2. Разработка технологии масс-клонального размножения и сохранения отобранных перспективных гибридов винограда.

Сотрудники исследовательской группы имеют научный задел в области выведения новых сортов, изучения и оздоровления растений от инфекционных возбудителей. С помощью методов микроклонального размножения и молекулярного маркирования исследователи получают свободные от патогенов саженцы.

Новизна исследования состоит в том, что впервые для винограда в условиях Казахстана проведено микроклональное размножение с последующим молекулярным маркированием на устойчивость к грибным заболеваниям. Отбор гибридных семян, устойчивых к стрессам и заболеваниям, отличающихся высоким качеством плодов на ранних этапах развития, повысит эффективность селекционного процесса. Существенным моментом данного исследования послужила возможность организации массового производства из растений *in vitro* саженцев в контейнерной культуре с закрытой корневой системой нового сорта и перспективных гибридов высокой категории чистоты, которое будет внедрено для закладки селекционного питомника.

Материалы и методы исследований

Полевые исследования гибридов винограда

Для инициации в культуру *in vitro* использовали черенки 18 отобранных образцов (гибриды) винограда, полученных методом гибридизации и размноженных вегетативным способом на опытных участках ТОО «Казахский научно-исследовательский институт плодовоовощеводства» (КазНИИПО) в Алматинской и Туркестанской областях (рисунок 1): 7/17, DV-10/11, III-02-22, III-7/15, IV-4/74, IV-6/9, КП-1/29, KIV-1/64, KV-2/9, KV-2/35, KVI-1/10, V-7/9, VII-6/72, VIII-3/45, XI-13/90, XI 14/9, XII-9/3, XII-17/2. Фенологические наблюдения, агробиологические учеты, определение силы роста, степень вызревания побегов, зимостойкость, продуктивность побегов, расчетная урожайность, увологическая оценка урожая были проведены по общепринятым методикам [20-23].

Введение в культуру *in vitro* винограда

Черенки размером 40-50 см срезали в ноябре со спящими почками и апреле-мае с проросшими побегами (1-2 см) (рисунок 2). Основания черенков, срезанных в ноябре, погружали в емкость с водой на глубину 15 см. Верхушки черенков, не погруженные в воду, закрывали плотной, не пропускающей свет тканью для предотвращения преждевременного прорастания побегов. Черенки хранили в холодильной комнате при температуре 4°C в течение 2-3 месяцев, каждые 2-3 недели у черенков обновляли срезы и меняли воду.



Рисунок 1 – Полевая коллекция гибридных форм винограда

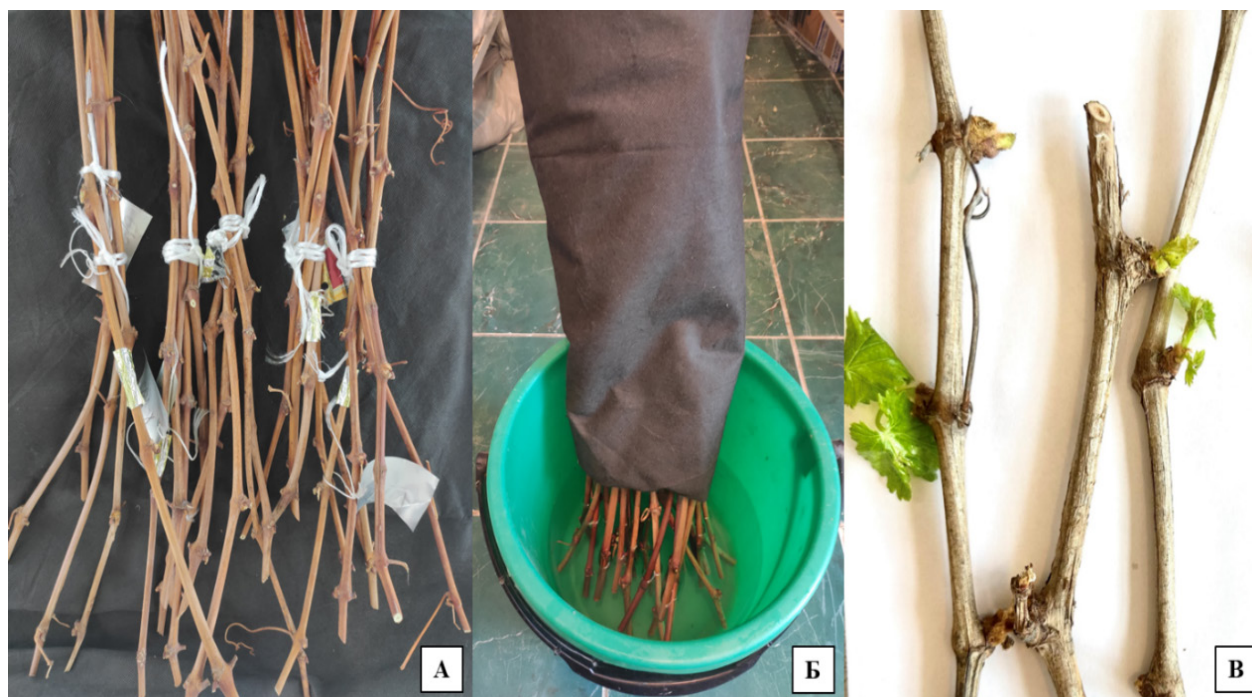


Рисунок 2 – Черенки гибридов винограда

А – Черенки, срезанные в ноябре месяце со спящими почками;
Б – Хранение черенков в холодильной комнате; В – Проросшие черенки в полевых условиях

По истечении 2 и 3 месяцев черенки извлекли из холодильной комнаты, обработали мыльным раствором под проточной водой, после чего провели поверхностную стерилизацию раствором (1:1) отбеливателя «Белизна» в течение 5 мин. Проращивание черенков осуществляли в лабораторной комнате при естественном освещении в емкостях с водой при температуре $24 \pm 1^\circ\text{C}$, у черенков еженедельно меняли срез, ежедневно обновляли воду.

Для инициации в культуру *in vitro* использовали побеги размером 1-2 см, пророщенные из спящих почек в лабораторных условиях и побеги такого же размера, взятые в полевых условиях. Побеги промывали с мылом, после чего обрабатывали 0,1% HgCl_2 в стерильных условиях ламинарного бокса в течение 5, 7 и 10 мин.

Микроклональное размножение винограда

Оптимизирован состав питательной среды для инициации винограда в культуру *in vitro* и микроклонального размножения. При приготовлении питательной среды использовали минеральные компоненты по Мурасиге и Скугу (МС) [25]. Варьировали состав и концентрацию фитогормонов, а также кислотность питательной среды:

1) МС с добавлением 30 г/л сахарозы, 1 мг/л 6-бензиламинопурина (БАП), 0,1 мг/л индолил-

масляной кислоты (ИМК), 0,5 мл/л гибберелловой кислоты (ГК), 1,5 г/л джелрайта, 4 г/л агара, pH 5,7; 2) МС с добавлением 30 г/л сахарозы, 1 мг/л БАП, 0,1 мг/л ИМК, 0,1 мл/л ГК, 1,5 г/л джелрайта, 4 г/л агара, pH 5,3; 3) МС с добавлением 30 г/л сахарозы, 0,5 мг/л БАП, 0,1 мг/л ИМК, 0,1 мл/л ГК, 1,5 г/л джелрайта, 4 г/л агара, pH 5,7; 4) МС с добавлением 30 г/л сахарозы, 0,5 мг/л БАП, 0,1 мг/л ИМК, 1 мг/л ГК, 1,5 г/л джелрайта, 4 г/л агара, pH 5,7; 5) МС с добавлением 30 г/л сахарозы, 0,5 мг/л БАП, 0,1 мг/л ИМК, 0,1 мл/л ГК, 1,5 г/л джелрайта, 4 г/л агара, pH 5,3; 6) МС с добавлением 30 г/л сахарозы, 0,5 мг/л БАП, 0,1 мг/л ИМК, 0,1 мл/л ГК, 2 мг/л Plant Preservative Mixture™ (PPM™), 1,5 г/л джелрайта, 4 г/л агара, pH 5,7; 7) МС с добавлением 30 г/л сахарозы, 1 мг/л БАП, 0,1 мг/л ИМК, 0,1 мл/л ГК, 1,5 г/л джелрайта, 4 г/л агара, pH 5,7; 8) МС с добавлением 30 г/л сахарозы, 1 мг/л БАП, 0,1 мг/л ИМК, 0,1 мл/л ГК, 1 мг/л тидиазурона (ТДЗ), 1,5 г/л джелрайта, 4 г/л агара, pH 5,7; 9) МС с добавлением 30 г/л сахарозы, 0,8 мг/л БАП, 0,1 мг/л ИМК, 0,1 мл/л ГК, 1,5 г/л джелрайта, 4 г/л агара, pH 5,7; 10) МС с добавлением 30 г/л сахарозы, 0,8 мг/л БАП, 0,1 мг/л ИМК, 0,1 мл/л ГК, 1 мг/л ТДЗ, 1,5 г/л джелрайта, 4 г/л агара, pH 5,7.

Растения *in vitro* культивировали при температуре $24 \pm 1^\circ\text{C}$, освещенность $40 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, фотопериод 16/8. Пересадку проводили с интервалом 3-5 недель.

Все побеги, инициированные в культуру *in vitro* были протестированы на наличие эндофитной микрофлоры на специализированной среде 523: 10 г/л сахарозы, 8 г/л гидролизата казеина, 4 г/л дрожжевого экстракта, 2 г/л K_2HPO_4 , 0,15 г/л $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 6 г/л джелрайта, pH 6,9 [23]. Побеги, у которых в течение 1-2 недель обнаруживали помутнение среды или же рост колоний, отбраковывались из-за наличия контаминации.

Коэффициент размножения (КР) *in vitro* побегов рассчитывали по формуле: $R = a/bc$ («а» – количество новых побегов, «в» – количество исходных побегов; «с» – количество пассажей).

В исследованиях по расчету КР использовали по 5 *in vitro* побегов, эксперимент проводили трехкратно ($n=15$). Статистический анализ проводили, согласно методикам, описанным в пособии Г.Ф. Лакина и в программном пакете SYSTAT [26].

Результаты и обсуждение

Полевые исследования гибридов винограда

В КазНИИПО проводится селекционная работа по увеличению сортимента винограда по созданию новых столовых сортов, отличающимися: крупными плодами, разным сроком созревания, устойчивостью к болезням, хорошей транспортабельностью, которые могли бы конкурировать с известными коммерческими сортами. В результате данной работы создана гибридная коллекция винограда столового направления, из которой отбираются лучшие образцы, готовые для передачи на сортоиспытание. Следует отметить, в 2023 году в первой декаде марта температура воздуха днем поднималась до $+10+15^\circ\text{C}$, однако в апреле-мае в период цветения возвратные заморозки до -3°C привели к гибели молодых растений винограда в Алматинской области. В результате фенологические наблюдения 2023 года проводили только в Туркестанской области. У всех гибридных форм степень перезимовки была выше 60%, распускание почек у гибридных форм выявлено с 19 по 24 марта.

По итогам фенологических наблюдений в 2021-22 гг. в Алматинской и Туркестанской областях из селекционного фонда выделено 5 перспективных гибридных форм винограда. По средней массе гроздей 450-480 г отобраны ги-

бридные формы: KV-2/35, КП-1/29. По урожайности с куста – 5,7 кг выделена гибридная форма – KV-2/35. Проведена дегустационная оценка гибридных форм по содержанию сахара в ягодах во время съема урожая. Сахаристость сока ягод у гибридных форм KV-2/35 – 19%, DV-10/11 и КП-1/29 – 18%. В результате по комплексу хозяйственно-ценных признаков для передачи в первичное сортоиспытание выделены 3 гибридных формы винограда: KV-2/35, КП-1/29 и DV-10/11.

Введение в культуру *in vitro* винограда

По результатам исследования по проращиванию побегов из спящих почек у гибридов винограда были сделаны выводы, что у черенков после 2 месяцев хранения при температуре 4°C процент проросших побегов составил – 30,1%, тогда как после 3 месяцев хранения процент прорастания был несколько выше – 50,4%. Прорастание было достаточно медленное, первые побеги появились только на 18 день.

Было выявлено, что оптимальной длительностью стерилизации побегов, полученных из пророщенных в лабораторных условиях черенков винограда, является обработка в (0,1%) HgCl_2 в течение 5 мин. При данной обработке некроз побегов составил – 58,2%, инфицированность – 14,6%, процент жизнеспособности – 27,2%. При обработке в HgCl_2 длительностью 7 мин процент некроза увеличивался до 78,9%, при 10-минутной обработке до 95,4%. Для побегов, проросших в условиях питомника оптимальной длительностью стерилизации, была обработка в (0,1%) HgCl_2 в течение 7 мин (жизнеспособность 20,6%) (рисунок 3А).

Ключевой момент микроклонального размножения – контроль чистоты эндофитной инфицированности пробирочных растений. В результате проверки на специализированной среде 523 было установлено, что все введенные в культуру *in vitro* побеги винограда, были асептическими (рисунок 3Б).

Микроклональное размножение винограда

Оптимизированный состав, с верно подобранными концентрациями компонентов оказывает решающее значение на КР и качество развития растений при инициации в культуру *in vitro* и микроклональном размножении [11-13,17,19,27-28]. В результате данного исследования были протестированы 10 вариаций питательных сред, коэффициент размножения винограда, на которых представлен в таблице 1.

Для микроклонального размножения винограда было испытано 2 варианта кислотности

питательной среды: 5,3 и 5,7. В результате установлено, что pH 5,7 является оптимальным.

Многие виды растений характеризуются высоким уровнем контаминации при инициации в культуру *in vitro* [16,24,29]. Бактерицид широкого действия РРМ™ позволяет освободить пробирочные растения от эндофитной

инфекции, тем не менее в данном исследовании это привело к некрозу *in vitro* побегов [20,31]. В дальнейшем было выявлено, что процент инфицированности побегов оказался достаточно низким, поэтому не было необходимости в последующей оптимизации концентрации РРМ™.

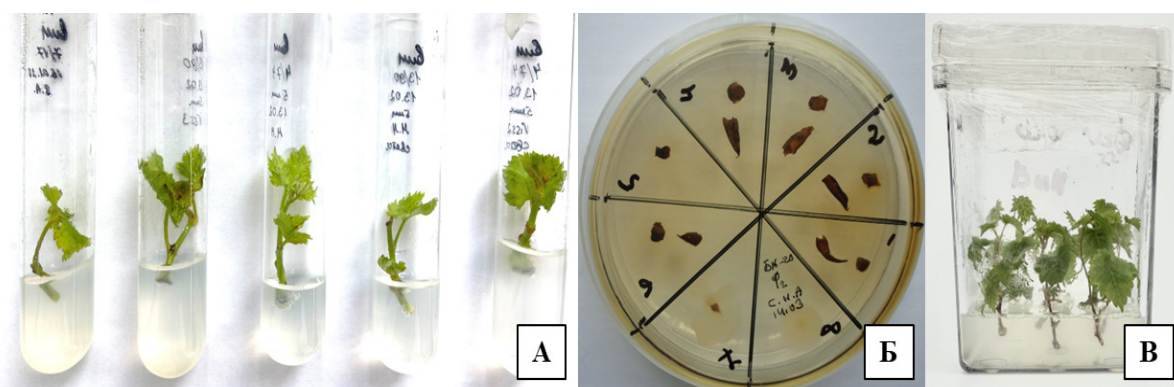


Рисунок 3 – Введение винограда в культуру *in vitro*

- А – Развитие побегов после стерилизации в растворе $HgCl_2$ в течение 5 мин;
 Б – Проверка растений на наличие инфицированности на среде 523;
 В – Побеги гибрида винограда KV-2/35 на питательной среде № 7

Таблица 1 – Влияние состава питательной среды на коэффициент размножения винограда в культуре *in vitro*

Вариант питательной среды	Кол-во культивируемых побегов, шт.	Кол-во регенерировавшихся побегов, шт.	Среднее значение Коэффициент размножения, $P=a/bc$	DV-10/11		KV-2/35	
				Кол-во культивируемых побегов, шт.	Кол-во регенерировавшихся побегов, шт.	Среднее значение Коэффициент размножения, $P=a/bc$	Среднее значение Коэффициент размножения, $P=a/bc$
1	15	30	$2,0 \pm 0,3^a$	15	31	$2,1 \pm 0,2^a$	
2	15	18	$1,2 \pm 0,3^{bc}$	15	18	$1,2 \pm 0,3^{bc}$	
3	15	23	$1,5 \pm 0,6^b$	15	24	$1,6 \pm 0,6^b$	
4	15	23	$1,5 \pm 0,3^b$	15	23	$1,5 \pm 0,3^b$	
5	15	15	$1,0 \pm 0,2^c$	15	17	$1,1 \pm 0,2^c$	
6	15	9	$0,6 \pm 0,4^d$	15	10	$0,7 \pm 0,4^{cd}$	
7	15	31	$2,1 \pm 0,3^a$	15	32	$2,1 \pm 0,3^{ac}$	
8	15	30	$2,0 \pm 0,1^a$	15	30	$2,0 \pm 0,1^a$	
9	15	27	$1,8 \pm 0,1^{ab}$	15	27	$1,8 \pm 0,1^{ab}$	
10	15	27	$1,8 \pm 0,2^{ab}$	15	28	$1,9 \pm 0,2^a$	

Источник: исследования авторов.

Примечание – значения P, обозначенные разными буквами, достоверно различаются между собой при $p \leq 0,05$

Из литературных источников известно, что на регуляцию роста *in vitro* побегов влияет БАП. Были исследованы следующие его concentra-

ции – 0,5 мг/л, 0,8 мг/л и 1,0 мг/л, установлено, что увеличение концентрации этого фитогормона приводит к образованию новых побегов. На

повышение КР влияет также естественный гормон роста ГК. Увеличение концентрации ГК в данных экспериментах на КР и качество побегов влияния не оказало. При добавлении в питательную среду ТДЗ, который также является регулятором роста и способствует органогенезу растений, каких-либо изменений во внешнем состоянии и увеличении КР у побегов не было отмечено.

Установлено, что для гибридов DV-10/11 и KV-2/9 КР на питательных средах: № 1, 7, 8 был максимальным. В результате выделена питательная среда №7, на которой показатели КР и качества пробирочных растений у обоих образцов было наилучшими. Кроме того, на этом варианте питательной среды внешнее состояние растений было несколько лучше, побеги *in vitro* отличались интенсивной окраской, не было отмечено витрифицированных побегов и некроза работа по оптимизации состава питательной среды продолжается (рисунки 3В).

Выводы

В результате многолетней селекционной работы в ТОО «КАЗНИИИПО» создан гибридный фонд винограда столового направления. Проведены фенологические наблюдения и по комплексу хозяйственно-ценных признаков 3 гибридных форм винограда: KV-2/35, КП-1/29 и DV-10/11, которые готовы для передачи в первичное сортоиспытание.

В результате исследований по проращиванию побегов из спящих почек у гибридов винограда было установлено, что после 3 месяцев хранения при температуре 4°C процент прорастания выше (50,4%), чем у черенков после 2 месяцев хранения (30,1%).

Наиболее оптимальной длительностью стерилизации побегов, полученных из пророщенных в лабораторном помещении черенков, является обработка в течение 5 мин в (0,1%) $HgCl_2$ (процент регенерации – 27,2%). При обработке в $HgCl_2$ длительностью 7 мин и 10 мин отмечен высокий процент некроза: 78,9% и 95,4% соответственно. Для побегов, проросших в питомнике оптимальной длительностью стерилизации, была обработка в течение 7 мин в (0,1%) растворе $HgCl_2$ (20,6% жизнеспособных побегов).

Не выявлена контаминация *in vitro* побегов винограда после контроля чистоты на специализированной среде 523.

Для микроклонального размножения были протестированы 10 вариантов питательных сред. Установлено, что pH 5,7 является оптимальным для роста и развития *in vitro* побегов. Добавление в питательную среду бактерицида РРМ™ вызывало некроз пробирочных растений. Увеличение концентрации БАП до 1,0 мг/л благоприятствовало появлению новых побегов. Увеличение концентрации ГК и ТДЗ на КР и качество побегов влияния не оказало.

Выявлено, что для гибридов винограда DV-10/11 и KV-2/9 высокий КР был на питательной среде: № 1, 7, 8. Была выделена питательная среда №7, качество растений и КР было наилучшим для обоих образцов.

Источник финансирования

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки Республики Казахстан в рамках Научно-технической программы BR18574149, ИРН проекта: 0123РК00028

Литература

- 1 Chupradit S., Huy D.T.N., Hachem K., Shichiyakh R.A., Bokov D., Mahmudiono T., Al-Rekaby H.Q. Kadhim M.M., Than-gavelu L. Agrobiological evaluations of newly introduced grapes varieties under climatic conditions of the south of Kazakhstan// *Braz. J. Biol.* – 2022.- P. 84.
- 2 Основные положения Генеральной схемы организации территории Республики Казахстан от 30 декабря 2013 года. <https://adilet.zan.kz/rus/docs/P1300001434>
- 3 Отчет Комитета по управлению земельными ресурсами МСХ РК за 2020 год <https://adilet.zan.kz/rus/docs/G16F0000236>
- 4 This P., Jung A., Voccacci P., Borrego J., Botta R., Costantini L. et al. Development of a standard set of microsatellite reference alleles for identification of grape cultivars // *Theoretical and Applied Genetics.* – 2004. – Vol. 109(7). – P. 1448-58.
- 5 Koladenkova K., Esmacel Q., Jacquard C., Nowak J., Clément Ch., Ait Barka E. *Plasmopara viticola* the Causal Agent of Downy Mildew of Grapevine: From Its Taxonomy to Disease Management // *Frontiers in Microbiology.* – 2022
- 6 Gessler C., Pertot I., Perazzolli M. *Plasmopara viticola*: a review of knowledge on downy mildew of grapevine and effective disease management // *Phytopathologia Mediterranea.* – 2011. – Vol. 50. P. 3-44.
- 7 Foria S., Monte C., Testolin R., Di Gaspero G., Cipriani G. Pyramiding resistance genes in grape: a breeding program for the selection of elite cultivars // *Acta Horticulturae.* – 2019. – Vol. 1248. – P. 549-554.

- 8 Eibach R., Zyprian E., Welter L., Töpfer R. The use of molecular markers for pyramiding resistance genes in grapevine breeding // *Vitis*. – 2007. – Vol. 46(3). – P. 120-124.
- 9 Plant Tissue Culture, Development, and Biotechnology. Eds. R.N. Trigiano and D.J. Gray. CRC Press. Taylor & Francis Group. USA, 2011. – 583 p.
- 10 Al-Aizaria A.A., Al-Obeeda R.S., Mohamed M.A.H. Improving micropropagation of some grape cultivars via boron, calcium and phosphate // *Electronic Journal of Biotechnology*. – 2020. – Vol. 48. – P. 95-100.
- 11 Kryukov L.A., Vodolazhsky D.I., Kamenetsky-Goldstein R. Micropropagation of Grapevine and Strawberry from South Russia: Rapid Production and Genetic Uniformity // *Agronomy*. – 2022. – Vol. 12(2). – P. 308.
- 12 Рябушкина Н.А., Жунусова Ж.М., Ерболова Л., Берестнева Л.А., Галиакпаров Н.Н. Микрклональное размножение перспективных сортов винограда, созданных в Казахстане // *Biotechnology Theory and practice*. – 2012. – № 1. – С. 41–50.
- 13 Kovalchuk I.Yu., Uspanova G.K., Chukanova N.I., Turdiyev T.T., Frolov S.N. Optimization of clonal micro-propagation of some grape varieties // *Bulletin of the National Engineering Academy of the Republic of Kazakhstan*. – 2013. – № 2 (48). – P. 126-131.
- 14 Kushnarenko SV, Romadanova NV, Aralbayeva MM, Zholamanova SZ, Alexandrova AM, Karpova O. Combined ribavirin treatment and cryotherapy for efficient Potato Virus M and Potato Virus S eradication in potato (*Solanum tuberosum* L.) *in vitro* shoots // *In Vitro Cell. Dev. Biol.-Plant*. – 2017. – Vol. 53(361). – P. 1-8.
- 15 Ромаданова Н.В., Нурманов М.М., Махмутова И.А., Кушнаренко С.В. Производство супер-элитных саженцев сортов и клоновых подвоев яблони // *Вестник науки Казахского агротехнического университета им. С. Сейфуллина (междисциплинарный)*. – 2017. – № 3(98). – С. 4-13.
- 16 Romadanova N.V., Mishustina S.A., Matakova G.N., Kuhsnarenko S.V., Rakhimbaev I.R., Reed B.M. *In vitro* collection of *Malus* shoot cultures for cryogenic bank development in Kazakhstan // *Acta Horticulturae*. – 2016a. – Vol. 1113. – P. 271-277.
- 17 Romadanova N.V., Mishustina S.A., Gritsenko D.A., Omasheva M.Y., Galiakparov N.N., Reed B.M., Kushnarenko S.V. Cryotherapy as a method for reducing the virus infection of apples (*Malus* sp.) // *CryoLetters*. – 2016b. – Vol. 37(1). – P. 1-9.
- 18 Romadanova N., Kushnarenko S., Karasholakova L. Development of a common PVS2 vitrification method for cryopreservation of several fruit // *In Vitro Cellular & Developmental Biology*. – 2017. – Vol. 53(4). – P. 382-393.
- 19 Ромаданова Н.В., Кушнаренко С.В. Сохранение биоразнообразия растений методами биотехнологии // *Труды по прикладной ботанике*. – 2023. – № 184(1). – С. 239-248.
- 20 Лазаревский М.А. Изучение сортов винограда. Ростов-на-Дону: Изд-во РГУ, 1965. – 151 с.
- 21 Петров В.С., Алейникова Г.Ю., Мarmorштейн А.А. Методы исследований в виноградарстве: Учебное пособие. Краснодар ФГБНУ СКФНЦСВВ, 2021. – 147 с.
- 22 Suter B., Irvine A.D., Gowdy M., Dai Z., Leeuwen C. Adapting Wine Grape Ripening to Global Change Requires a Multi-Trait Approach // *Frontiers in Plant Science*. – 2021. -Vol. 12. – P. 1-17.
- 23 Амирджанов А.Г. и др. Оценка продуктивности сортов винограда и виноградников: методические указания. 2-е изд., перераб. и доп. Ялта: ИВиВ «Магарач», 2002. – 46 с.
- 24 Viss P.R., Brooks E.M., Driver J.A. A simplified method for the control of bacterial contamination in woody plant tissue culture // *In Vitro Cell. Development Biol*. – 1991. Vol. 27. – P. 42.
- 25 Murashige T. and Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture // *Physiol Plant*. – 1962. – Vol. 15. – P. 473-479.
- 26 Лакин Г.Ф. Биометрия: Учебное пособие для биол. спец. вузов / 4-е изд., перераб. и доп. М.: Высш. школа, 1990. – 352 с.
- 27 Трускинов Э.В. Культура *in vitro* как современный способ воспроизведения, сохранения и интродукции вегетативно размножаемых растений // *Биолог. разнообразие. Интродукция растений*. – 2007. – С. 85.
- 28 Kinfe B., Feyssa T., Bedada G. *In vitro* micropropagation of grape vine (*Vitis vinifera* L.) from nodal culture // *African Journal of Biotechnology*. – 2017. – Vol. 16(43). P. 2083-2091.
- 29 Unger S., Büche C., Boso S., Kassemeyer H.-H. The Course of Colonization of Two Different *Vitis* Genotypes by *Plasmopara viticola* Indicates Compatible and Incompatible Host-Pathogen Interactions // *Phytopathology*. – 2007. – Vol. 97(7). – P. 780-86.
- 30 Kushnarenko S., Aralbayeva M., Rymkhanova N., Reed B.M. Initiation pretreatment with Plant Preservative Mixture™ increases the percentage of aseptic walnut shoots // *In Vitro Cellular and Developmental Biology*. – 2022. – Vol. 58(6). – P. 964–971.
- 31 Romadanova N.V., Tolegen A.B., Kushnarenko S.V., Zholdybayeva E.V., Bettoni J.C. Effect of Plant Preservative Mixture™ on Endophytic Bacteria Eradication from *In Vitro*-Grown Apple Shoots // *Plants*. – 2022. – Vol. 11(19). – P. 2624.
- 32 Brilli M., Asquini E., Moser M., Bianchedi P.L., Perazzolli M., Si-Ammour A. A multi-omics study of the grapevine-downy mildew (*Plasmopara viticola*) pathosystem unveils a complex protein coding- and noncoding-based arms race during infection // *Scientific Reports*. – 2018. – P. 8.
- 33 Riaz S., Tenscher A.C., Rubin J., Graziani R., Pao S.S., Walker M.A. Fine-scale genetic mapping of two Pierce's disease resistance loci and a major segregation distortion region on chromosome 14 of grape // *Theor. Appl. Genet*. – 2008. – Vol. 117(5). – P. 671-681.
- 34 Saifert L., Sánchez-Mora F.D., Assumpção W.T., Zanghelini J.A., Giacometti R., Novak E.I., Dal Vesco L.L., Nodari R.O., Eibach R., Welter L.J. Marker-assisted pyramiding of resistance loci to grape downy mildew // *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. – 2018. – Vol. 53(5). – P. 602- 610.
- 35 Sánchez-Mora F.D., Saifert L., Zanghelini J., Assumpção W.T., Guginski-Piva C.A., Giacometti R., Novak E.I., Klabunde G.H., Eibach R., Dal Vesco L., Nodari R.O., Welter L.J. Behavior of grape breeding lines with distinct resistance alleles to downy mildew (*Plasmopara viticola*) // *Crop Breeding and Applied Biotechnology*. – 2017. – Vol. 17(2). – P. 141- 149.

36 Sefc K.M., Lefort F., Grando Scott. K., Steinkellner H., Thomas M. Microsatellite markers for grapevine: A state of the art. Amsterdam: Kluwer Publishers, The Netherlands, 2001. – P. 407-438.

References

- 1 Amirdzhanova A.G. I dr. « Ocenka produktivnosti sortov vinograda I vinogradnikov: metodicheskie ukazaniya [Assesment of the productivity of grape varieties and vineyards]. » Yalta:IVIv «Magarach», (2002): 46. (In Russian)
- 2 Al-Aizaria A.A., Al-Obeeda R.S., Mohamed M.A.H. (2020). Improving micropropagation of some grape cultivars via boron, calcium and phosphate. *Electronic Journal of Biotechnology*, vol. 48, pp. 95-100.
- 3 Brilli M., Asquini E., Moser M., Bianchedi P.L., Perazzolli M., Si-Ammour A. (2018). A multi-omics study of the grapevine-downy mildew (*Plasmopara viticola*) pathosystem unveils a complex protein coding- and noncoding-based arms race during infection. *Scientific Reports*, vol. 8.
- 4 Chupradit S., Huy D.T.N., Hachem K., Shichiyakh R.A., Bokov D., Mahmudiono T., Al-Rekaby H.Q. Kadhim M.M., Than-gavelu L. (2022). Agrobiological evaluations of newly introduced grapes varieties under climatic conditions of the south of Kazakhstan. *Braz. J. Biol.*, 84.
- 5 Eibach R., Zyprian E., Welter L., Töpfer R. (2007). The use of molecular markers for pyramiding resistance genes in grapevine breeding. *Vitis*, vol. 46(3), pp. 120-124.
- 6 Foria S., Monte C., Testolin R., Di Gaspero G., Cipriani G. (2019). Pyramiding resistance genes in grape: a breeding program for the selection of elite cultivars. *Acta Horticulturae*, vol. 1248, pp. 549-554.
- 7 Gessler C., Pertot I., Perazzolli M. (2011). *Plasmopara viticola*: a review of knowledge on downy mildew of grapevine and effective disease management. *Phytopathologia Mediterranea*, vol. 50, pp. 3-44.
- 8 Kinfe B., Feyssa T., Bedada G. (2017). *In vitro* micropropagation of grape vine (*Vitis vinifera* L.) from nodal culture. *African Journal of Biotechnology*. vol. 16(43), pp. 2083-2091.
- 9 Koledenkova K., Esmael Q., Jacquard C., Nowak J., Clément Ch., Ait Barka E. (2022). *Plasmopara viticola* the Causal Agent of Downy Mildew of Grapevine: From Its Taxonomy to Disease Management. *Frontiers in Microbiology*, pp. 13.
- 10 Kovalchuk I.Yu., Uspanova G.K., Chukanova N.I., Turdiyev T.T., Frolov S.N. (2013). Optimization of clonal micro-propagation of some grape varieties. *Bulletin of the National Engineering Academy of the Republic of Kazakhstan*, vol. 2 (48), pp. 126-131.
- 11 Kryukov L.A., Vodolazhsky D.I., Kamenetsky-Goldstein R. (2022). Micropropagation of Grapevine and Strawberry from South Russia: Rapid Production and Genetic Uniformity. *Agronomy*, vol. 12(2), pp. 308.
- 12 Kushnarenko SV, Romadanova NV, Aralbayeva MM, Zholamanova SZ, Alexandrova AM, Karpova O. (2017). Combined ribavirin treatment and cryotherapy for efficient Potato Virus M and Potato Virus S eradication in potato (*Solanum tuberosum* L.) *in vitro* shoots. *In Vitro Cell. Dev. Biol.-Plant*, vol. 53(361), pp. 1-8.
- 13 Kushnarenko S., Aralbayeva M., Rymkhanova N., Reed B.M. (2022). Initiation pretreatment with Plant Preservative Mixture™ increases the percentage of aseptic walnut shoots. *In Vitro Cellular and Developmental Biology*, vol. 58(6), pp. 964–971.
- 14 Lazarevskii M.A. « Izucheniye sortov vinograda. [Study of grape varieties]. » Rosrov- na- Dony:Izd-vo RGU, (1965): 151. (In Russian)
- 15 Lakin G.F. «Biometriya: Uchebnoe posobie dlya biol.spec.vyzov/ 4-e izd., pererab. i dop. [Biometrics: Textbook for biol. specialist. universities / 4th ed., revised. and additional]. » M.: Vyssh. Shkola, (1990): 352
- 16 Murashige T. and Skoog F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol Plant*, vol. 15, pp. 473-479.
- 17 Osnovnye polozheniya general'noy skhemy organizatsii territorii respubliki Kazahstan ot 30 dekabrya 2013 goda. [The main provisions of the general scheme for organizing the territory of the Republic of Kazakhstan dated December 30, 2013] <https://adilet.zan.kz/rus/docs/P1300001434> (In Russian)
- 18 Otchet komiteta po upravleniyu zemel'nymi resursami MSKH RK za 2020 god. [Report of the Land Management Committee of the Ministry of Agriculture, 2020] (In Russian)
- 19 Petrov V.S., Aleynikova G.Y., Marmorshtein A.A. «Metody issledovaniy v vinogradarstve: Uchebnoe posobie [Research metods in viticulture] » Krasnodar FGBNU SCFNCSVV, (2021): 147. (In Russian)
- 20 Plant Tissue Culture, Development, and Biotechnology. (2011). Eds. R.N. Trigiano and D.J. Gray. CRC Press. Taylor & Francis Group. USA. 583 p.
- 21 Riaz S., Tenscher A.C., Rubin J., Graziani R., Pao S.S., Walker M.A. (2008). Fine-scale genetic mapping of two Pierce's disease resistance loci and a major segregation distortion region on chromosome 14 of grape. *Theor. Appl. Genet*, vol. 117(5), pp. 671-681.
- 22 Romadanova N.V., Nurmanov M.M., Mahmutova I. A., Kushnarenko S.V. « Proizvodstvo super elitnykh sazhencev sortov I klonovykh podvoyev yabloni [Production of super elite seedlings and clone rootstocks of apple trees] // Vestnik nauki Kazhskogo agrotehnicheskogo universiteta im. S. Seifullina (mezhdicciplinaryni). No. 3(98). (2017): 4-13. (In Russian)
- 23 Romadanova N.V., Mishustina S.A., Matakova G.N., Kuhsnarenko S.V., Rakhimbaev I.R., Reed B.M. (2016a). *In vitro* collection of *Malus* shoot cultures for cryogenic bank development in Kazakhstan. *Acta Horticulturae*, vol. 1113, pp. 271-277.
- 24 Romadanova N.V., Mishustina S.A., Gritsenko D.A., Omasheva M.Y., Galiakparov N.N., Reed B.M., Kushnarenko S.V. (2016b). Cryotherapy as a method for reducing the virus infection of apples (*Malus* sp.). *CryoLetters*, vol. 37(1), pp. 1-9.
- 25 Romadanova N., Kushnarenko S., Karasholakova L. (2017). Development of a common PVS2 vitrification method for cryopreservation of several fruit. *In Vitro Cellular & Developmental Biology*, vol. 53(4), pp. 382-393.

- 26 Romadanova N.V., Kushnarenko S.V. «Sohranenie bioraznoobraziya rastenii maetodami biotehnologii [Conservation of plant biodiversity by biotechnological methods].» // Trydy po prikladnoy botanike. No. 184(1). (2023): 239-248. (In Russian)
- 27 Romadanova N.V., Tolegen A.B., Kushnarenko S.V., Zholdybayeva E.V., Bettoni J.C. (2022). Effect of Plant Preservative Mixture™ on Endophytic Bacteria Eradication from *In Vitro*-Grown Apple Shoots. *Plants*, vol. 11(19), pp. 2624.
- 28 Ryabushkina N.A., Zhunusoca Zh. M., Erbolova L., Berestneva L.A., Galiakparov N.N. “ Mikroklonal'noe razmnozhenie perspektivnykh sortov vonograda sozdannykh v Kazahstane [Micropropagation of promising grape varieties created in Kazakhstan]. ”// *Biotechnology Theory and practice*. No 1. (2012): 41-50. (In Russian)
- 29 Saifert L., Sánchez-Mora F.D., Assumpção W.T., Zanghelini J.A., Giacometti R., Novak E.I., Dal Vesco L.L., Nodari R.O., Eibach R., Welter L.J. (2018). Marker-assisted pyramiding of resistance loci to grape downy mildew. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, vol. 53(5), pp. 602- 610.
- 30 Sánchez-Mora F.D., Saifert L., Zanghelini J., Assumpção W.T., Guginski-Piva C.A., Giacometti R., Novak E.I., Klabunde G.H., Eibach R., Dal Vesco L., Nodari R.O., Welter L.J. (2017). Behavior of grape breeding lines with distinct resistance alleles to downy mildew (*Plasmopara viticola*). *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, vol. 17(2), pp. 141- 149.
- 31 Sefc K.M., Lefort F., Grando Scott. K., Steinkellner H., Thomas M. (2001). Microsatellite markers for grapevine: A state of the art. Amsterdam: Kluwer Publishers, The Netherlands, pp. 407-438.
- 32 Suter B., Irvine A.D., Gowdy M., Dai Z., Leeuwen C. (2021). Adapting Wine Grape Ripening to Global Change Requires a Multi-Trait Approach. *Frontiers in Plant Science*, vol. 12:624867, pp. 1-17.
- 33 This P., Jung A., Boccacci P., Borrego J., Botta R., Costantini L. et al. (2004). Development of a standard set of microsatellite reference alleles for identification of grape cultivars. *Theoretical and Applied Genetics*, vol. 109(7), pp. 1448-58.
- 34 Truskinov E.V. “Kul'tura in vitro kak sovremennyj sposob vosproizvedeniya, sohraneniya i introdukcii vegetativno razmnozhaemykh rastenij [In vitro culture as a modern way of reproduction, conservation and introduction of vegetatively propagated plants]. » // *Biolog. raznoobrazie. Introdukciya rastenij*. (2007):85
- 35 Viss P.R., Brooks E.M., Driver J.A. (1991). A simplified method for the control of bacterial contamination in woody plant tissue culture. *In Vitro Cell. Development Biol.*, vol. 27, pp. 42.
- 36 Unger S., Büche C., Boso S., Kassemeyer H-H. (2007). The Course of Colonization of Two Different *Vitis* Genotypes by *Plasmopara viticola* Indicates Compatible and Incompatible Host-Pathogen Interactions. *Phytopathology*, vol. 97(7), pp. 780-6.