



**МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ  
ПО СОЗДАНИЮ БАЗОВЫХ  
МАТОЧНИКОВ ВИНОГРАДА  
С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ  
МЕТОДА *IN VITRO***

2010



## СОДЕРЖАНИЕ

Введение.....	4
1. Отбор посадочного материала, транспортировка и сохранение растений в пробирках .....	5
2. Требования к влажности, температуре воздуха и режим аэрации с окружающей средой в школке .....	7
3. Подготовка паземных гряд, субстрата и системы полива для адаптации растений из культуры <i>in vitro</i> в условия школки .....	8
4. Оборудование теплицы для адаптации растений на примере Предгорного опытного хозяйства "Магарач".....	9
5. Посадка растений из условий <i>in vitro</i> в школку.....	10
6. Адаптация растений из культуры <i>in vitro</i> к условиям школки.....	11
7. Уход за виноградной школкой после завершения этапа адаптации растений в условия <i>in vivo</i> .....	12
8. Выращивание привитых саженцев с использованием метода <i>in vitro</i> (по а.с.СССР № 1576044).....	13
9. Выполнение прививок микрочеренками и уход за прививками .....	14
10. Создание базовых маточников.....	15
Список литературы .....	19

Чекмарев Л.А., Олейников Н.П., Лиховской В.В. Методические рекомендации по созданию базовых маточников винограда с использованием метода *in vitro*. – Ялта. НИВиВ «Магарач». 2010. – 19 с.

Обобщены результаты многолетних научных исследований: излагается технология адаптации оздоровленных в условиях *in vitro* растений винограда и выращивания корне-собственного и привитого посадочного материала для закладки базовых маточников. Приведены данные по оптимизации режимов полива, освещения и температуры для повышения выхода стандартных саженцев.

Методические рекомендации рассчитаны на широкий круг специалистов питомниководческих виноградарских хозяйств, опытно-производственных баз научных и учебных заведений, а также студентов сельскохозвешественных колледжей и университетов.

Печатается по постановлению Ученого совета НИВиВ «Магарач».

Чекмарев Л.А., Олейников М.П., Лиховской В.В. Методичні рекомендації по створенню базових маточників винограду з використанням методу *in vitro*. – Ялта. НИВиВ «Магарач». 2010. – 19 с.

Узагальнено результати багатолітніх наукових досліджень: викладається технологія адаптації оздоровлених в умовах *in vitro* рослин винограду і вирощування кореневласного і прищепленого посадкового матеріалу для закладки базових маточників. Приведені дані по оптимізації режимів поливу, освітлення і температури для підвищення виходу стандартних саджанців.

Методичні рекомендації розраховані на широкий круг фахівців питомниководських виноградарських господарств, дослідно-виробничих баз наукових і улюбових закладів, а також студентів сільськогосподарських коледжів і університетів.

Друкуються за рішенням Вченої ради НИВиВ «Магарач».

## Введение

В современном питомниководстве нет более важной задачи, чем производство сертифицированного посадочного материала. Для этого необходимо создание базовых маточников, свободных от карантинных грибных, вирусных, бактериальных, микоплазменных болезней.

Авторами разработана технология адаптации растений из культуры *in vitro* в условиях школки, которая связывает элементы биотехнологии (выращивание растений в культуре ткани и их тиражирование в условиях *in vitro*) с элементами агротехники питомниководства – выполнением комплекса агротехнических мероприятий по выращиванию саженцев в школке.

Началом адаптации является посадка растений из культуры *in vitro* в школку, а окончание – наступление их активного роста.

Разработанная технология адаптации, в сравнении с промышленной, является энергосберегающей и вдвое экономит затраты труда на выращивание саженцев (материал опубликован в 2007 г.). Практическое использование технологии адаптации апробировано при создании базового маточника подвоя Кобер 5 ББ в ООО «Качинский+», подготовлен материал для «Ария-Н».

Для закладки базовых маточников используют либо привитые, либо корнесобственные саженцы сортов с групповой устойчивостью к болезням и вредителям, выращенные непосредственно в хозяйствах из адаптированных растений *in vitro*.

Тиражирование растений традиционными методами проводят в условиях виноградной школки. В качестве исходного материала используют высокопродуктивные клоны привойных и подвойных сортов, районированных в конкретной зоне. Необходимым условием для производства сертифицированного посадочного материала является полное отсутствие на маточниках карантинных вирусных болезней (*Arabic mosaic virus*, *Grapevine virus A*, *Grapevine virus B*, *Grapevine fanleaf virus*, *Grapevine fleck virus*, *Grapevine leafroll associated closterovirus (1, 3 cepovirus)*, *грибных (Stereum hirsutum (Willd.)*, *Fellinus L.*, *ex.Fr.*, *Poliporus versicolor (L.)*, *Sphaeropsis malorum Peck.*, *Eutypa armeniacae H.Pt C.*, *Rhacodiella vitis Cht.*, *Phomopsis viticola Sacc.*) и возбудителя бактериального рака (*Agrobacterium vitis*). Перед началом размножения какого-либо сорта в специализированных аккредитованных лабораториях, в обязательном порядке производят фитосанитарное тестирование образцов растительного материала маточных кустов и почвенных образцов школки на предмет отсутствия указанной инфекции. Традиционные методы размножения винограда длитель-

ные, затратные и не могут гарантировать полную защиту саженцев от карантинных объектов.

В этой связи особое значение придаётся использованию культуры *in vitro*, которая позволяет от одного куста получать до 50 тыс. растений в год. В промышленных биоконплеках адаптацию растений из культуры *in vitro* в условия *in vivo* проводят в климатических камерах, в условиях искусственного освещения, температуры и влажности, в индивидуальных контейнерах со стерильной почвой. За период адаптации из культуры *in vitro* до посадки в школку проводят 12 химических обработок. После адаптации растения пересаживают на доращивание в контейнеры с нестерильной почвой [9]. На промежуточных этапах погибает значительное количество растений. Из-за высокой стоимости оборудования, трудоемкости работ и потерь посадочного материала увеличивается себестоимость саженцев.

По технологии, разработанной в НИВиВ «Магарач», растения из пробирок высаживают непосредственно в школку и адаптацию из культуры *in vitro* в условия *in vivo* можно проводить без существенных энергетических и материальных затрат [12]. Предлагаемая энергосберегающая технология производства саженцев из растений, тиражируемых в условиях *in vitro*, имеет ряд преимуществ и позволяет:

- получать саженцы как в условиях теплиц, так и в открытом, временно защищенном притененными пленочными тоннелями, грунте;
- выращивать саженцы на почвенных смесях и в условиях гидропонной гравийной культуры;
- интродуцировать сорта винограда в пробирках во все регионы и получать саженцы непосредственно на местах в хозяйствах [2];
- выполнять прививки и получать привитые саженцы;
- создавать базовые маточники винограда без промежуточных этапов, на которых возможно инфицирование растений карантинными объектами.

### 1. Отбор посадочного материала, транспортировка и сохранение растений в пробирках

Для выращивания саженцев используют растения, выращенные в культуре *in vitro*. Их тиражируют в специальных лабораториях и поставляют в питомники на адаптацию и доращивание. Пригодными являются растения с тремя и более развитыми корнями, четырьмя-шестью листочками, находящиеся в стадии активного роста. При наличии условий, необходимых для выращивания сажен-

цев, отобранные растения в пробирках отправляют в виноградные питомники на посадку.

Признаки активного роста пробирочных растений:

- здоровый внешний вид растений без видимых аномалий, с хорошо развитой верхушечной меристемой побега;

- междоузлия не нитевидные, длина междоузлий примерно соответствует среднему диаметру листа;

- листочки равномерно заполняют сечение пробирки, зеленые, без признаков аномалий, однородные, не включают стекловидные, этиолированные или окрашенные в красный цвет фрагменты;

- имеется три и более корешков белого цвета.

Образование у растений каллуса свидетельствует о несовершенстве состава питательной среды, является отрицательным признаком и может служить одним из критериев браковки пробирочных растений. Также нежелательно использовать для адаптации переросшие растения, у которых прекратилась фаза активного роста, и растения с двумя и более развитыми побегами. Такие растения целесообразно использовать для дальнейшего тиражирования.

При интродукции сортов в отдаленные регионы транспортировку и сохранение растений производят в пробирках. В этот период необходимо учитывать особенности реакции растений на условия освещенности и температуры окружающей среды.

Так как питательная среда содержит сахарозу [2], растения в пробирках легко переносят недельное пребывание без освещения, но в связи с тем, что они не прошли адаптацию, воздействие прямых солнечных лучей, света может привести к ожогам листьев и гибели, поэтому при транспортировке необходимо проводить тщательное притенение растений.

Растения в пробирках относительно легко переносят значительные перепады положительных температур. Практический опыт свидетельствует, что при транспортировке авиатранспортом из города Симферополя в города Средней Азии (Ашхабад, Алма-Ата, Ташкент) в осенний период перепад температуры воздуха составляет порядка 20°C, что не оказывает негативного влияния, и случаи гибели растений не зафиксированы. Вместе с тем, перепады давления и температуры при авиатранспортировке способствуют подсасыванию воздуха внутрь пробирок и проникновению инфекции. Через 1-2 недели возможно заражение питательной среды и к этому сроку необходимо завершить посадку растений на адаптацию.

До момента посадки растения необходимо держать в пробирках при температуре активного роста 20-30°C [1,3] и притенять светозащитной сеткой, задерживающей 60-80% прямых солнечных лучей. Оптимальный срок посадки растений из пробирок на адаптацию совпадает с началом интенсивного роста и развития побегов виноградных кустов в полевых условиях либо побегов саженцев в виноградной школке. Биологическим признаком интенсивного роста является изгиб верхушки зеленого побега.

## 2. Требования к влажности, температуре воздуха и режим аэрации с окружающей средой в школке

Наиболее трудным является этап адаптации растений из культуры *in vitro* в условия *in vivo* из-за значительных различий относительной влажности воздуха, режима освещенности, воздухообмена и температурных условий. Растения, извлеченные из пробирок, имеют ряд особенностей, которые необходимо учесть при адаптации к условиям школки. Корни растений *in vitro* практически не имеют корневых волосков, а листья покрыты слабо развитым защитным слоем (кутикулой) и подобно фильтровальной бумаге могут легко впитывать и терять влагу. Основная задача подготовки школки сводится к созданию благоприятных условий для гармоничного роста и развития посаженных в гряду растений.

Адаптацию проводят в притененных пленочных тоннелях. Пленка должна плотно закрывать тоннели и быть запотевшей с внутренней стороны, что служит признаком близкой к 100%-ной относительной влажности. Наличие сухих внутренних участков пленки свидетельствует о нарушениях её целостности или недостаточном плотном прилегании к почве. Эти недостатки должны быть устранены еще до начала посадки растений.

Относительная влажность воздуха в пробирках находится в пределах 96-99%, поэтому на первых этапах адаптации необходимо создать такую же влажность в пленочных тоннелях над увлажненными грядами. Для нормальной адаптации побегов относительную влажность воздуха в пленочных тоннелях поддерживают в пределах 95-99%. В условиях достаточной влажности почвы и отсутствии застоя воды проблем с адаптацией корней не возникает.

Для обеспечения нормальной аэрации при культивировании растений под пленочным укрытием в дневное время необходимо проводить двукратное проветривание тоннелей путем поднятия одного края пленки на 5-10 мин. Остальное время пленка должна быть опущена, плотно закрывать тоннели и быть запотевшей с внутренней стороны.

К моменту посадки необходимо выполнить притенение гряд. Для этого используют светозащитную сетку, мешковину, марлю (4 слоя), черную полиэтиленовую пленку, техническую бумагу. Арочные теплицы либо накрывают джутовой тканью (мешковиной), либо размещают такое притенение непосредственно под кровлей теплицы. Над пленочными тоннелями, на высоте 2-3 м выполняют полосное притенение из черной пленки (ширина полос – 40 см, расстояние между полосами – 5 см). Под пленкой пленочного тоннеля можно непосредственно закрепить полотна плотной оберточной бумаги. Эффективное притенение стеклянных теплиц достигается путем забеливания кровли и боковых сторон раствором следующего состава: вода – 10 л, гашеная известь (паста) – 2 кг, клей ПВА – 0,2 л. Раствор в несколько приемов разбрызгивают по крыше стеклянной теплицы до сплошного покрытия её поверхности. При посадке в теплицу без капитальных теплиц, пленочные тоннели покрывают полотном, создающим притенение.

Из приведенных выше способов особое внимание заслуживает вариант притенения пленочных тоннелей с помощью мешковины. В жаркие дни за счет периодического увлажнения мешковины удастся поддерживать температуру в тоннелях близкую к оптимальной (не выше 30°C).

На начальном этапе адаптации растения чрезвычайно чувствительны к температурным стрессам. При ранних посадках продолжительное воздействие температур, близких к биологическому нулю для винограда (7-10°C), вызывает задержку активного роста. Длительная задержка активного роста приводит к массовому получению карликовых растений с приростом в несколько сантиметров [10].

Температура выше 30°C также вызывают приостановку роста растений. Для предотвращения температурного стресса устраивают эффективную потолочную вентиляцию для забора горячего воздуха из-под кровли теплицы. Следует отказаться от устройства в теплице стеллажей, на которых сложно обеспечить оптимальную освещенность и температурный режим.

### 3. Подготовка наземных гряд, субстрата и системы полива для адаптации растений из культуры *in vitro* в условия школки

Адаптацию пробирочных растений проводят на специально оборудованных грядах школки. Устройство наземных гряд создает для растений более мягкие условия, что особо важно на этапе их адаптации. Гряды шириной 1-1,2 м и глубиной не менее 30 см должны быть удобны для работы. В качестве субстрата применяют легкую, богатую питательную смесь – чернозем, перегной и песок в

соотношении 1:1:1. Перед устройством гряд в обязательном порядке субстрат тестируют на предмет отсутствия карантинных объектов. Под грядой субстрата размещают дренажный слой гравия или крупнозернистого песка. Для присыпки корней при посадке подготавливают материал из расчета 100 см<sup>3</sup> на растение. Лучшей присыпкой является торфяной универсальный грунт, но с успехом можно использовать смесь чернозема с песком (без перегноя).

До начала посадки растений необходимо оборудовать стационарную систему полива либо предусмотреть мелкодисперсные распылители, или другие устройства для опрыскивания растений. При выращивании саженцев методом гидропонной гравийной культуры применяется система полива с рециркуляцией питательного раствора. Применяют гидропонный раствор макроэлементов следующего состава: суперфосфат – 550 г, азотнокислый калий – 450 г, аммиачная селитра – 200 г растворяют в 1 м<sup>3</sup> воды. В дополнение к макроэлементам в питательный раствор вносят восьмикомпонентный комплекс микроэлементов. В процессе приготовления очередной партии удобрений корректируют величину pH и поддерживают её в пределах 5,5-6,5. В период адаптации растений полив производят раствором половинной концентрации [4, 7].

### 4. Оборудование теплицы для адаптации растений на примере Предгорного опытного хозяйства "Магарач"

Оборудование арочной пленочной теплицы для производства привитых саженцев в Предгорном опытном хозяйстве "Магарач" (АР Крым, Бахчисарайский район, с.Вилно) отвечает необходимым условиям. Арочная теплица ориентирована с севера на юг. Длина теплицы составляет 25 м, ширина – 4,5 м, высота – 2 м. В верхней части устроена вентиляционная щель шириной 15-20 см. Двери обиты полиэтиленовой пленкой и расположены с южной стороны, торцы теплицы закрыты. Для притенения применяют полотна рулонной технической бумаги шириной 40 см. Полотна бумаги навешивают на натянутые шнуры, закрепленные на арках теплицы. В средней части теплицы устроена дренажная дорожка шириной 60 см для сбора воды или питательного раствора на рециркуляцию. По бокам дренажной дорожки расположены гряды. Над грядами, на высоте 35-40 см закреплены трубы диаметром 1 дюйм с парой распылителей воды на каждом погонном метре трубы. Выходное отверстие форсунок – 1 мм, факел распыла горизонтальный, угол распыла – 180°. На каждой съемной заглушке крепится по два распылителя, направление распыла которых ориентировано в противоположные стороны, перпендикулярно оси трубы. Для расчета необходимого количества форсунок на линии измеряют площадь поперечного сечения

отверстия подающей трубы и суммарную площадь всех выходных отверстий форсунок. Общая площадь сечения форсунок должна быть, как минимум, в 4 раза меньше сечения подающей трубы.

С южной стороны, ниже уровня теплицы размещен бак для воды или питательного раствора объемом 2 м<sup>3</sup>, центробежный электронасос мощностью 2 кВт без обратного клапана и подводящий водопровод для подпитки системы полива. Электронасос периодически нагнетает воду в линии с распылителями и осуществляется полив растений. После полива остатки воды или питательного раствора по дренажной дорожке самотеком возвращаются в бак для повторного использования. На входе каждой линии установлен кран для регулировки расхода воды и интенсивности распыла. Необходимо обратить внимание на строго горизонтальное положение труб с распылителями, чтобы все распылители обеих линий находились в одной плоскости. В этом случае, при включении электронасоса распыл начинается одновременно во всех форсунках, а при выключении насоса происходит одновременное прекращение распыла.

После испытания системы полива приступают к оборудованию тоннелей: над каждой грядой, через метр устанавливают дуги высотой 60-80 см из арматурной проволоки диаметром 6-8 мм, дуги накрывают полиэтиленовой пленкой, края которой прижимают к грунту теплицы.

### 5. Посадка растений из условий *in vitro* в школку

За 1-2 дня до начала посадки дополнительно выравнивают поверхность гряд, включают систему полива для увлажнения субстрата, проверяют надежность притенения и приступают к посадке. До начала посадки пленку над грядами скручивают валиком к началу гряды. Посадку проводят при температуре воздуха не выше 30°C. Схема посадки – 10х30 см.

Растения в пробирках доставляют в теплицу. В условиях притенения их извлекают из пробирок пинцетом или при помощи проволоочного крючка и погружают в широкую емкость (шпательный таз) с водой. Каждые 20-30 растений передают посадчику. После извлечения из пробирки растение необходимо в течение 10 мин. высадить в пленочные тоннели. Посадку проводят непосредственно в субстрат, под посадочный Г-образный колышек. Этим колышком выкапывают лунки в субстрате глубиной 4-5 см. Посадчик извлекает растение из воды, заглубляет корешки в лунку, прикрывает листочки ладонью, горсть присыпки засыпает корни, придает побегу вертикальное положение и поливает лунку вокруг растения водой.

По мере посадки валик из пленки раскручивают, прикрывая посаженные растения, и прижимают края пленки к субстрату. В процессе посадки необходимо проводить освежающие опрыскивания растений водой, для чего систему полива переключают на управление в ручном режиме и проводят освежающие поливы в течение 5-10 сек. через каждые 5 мин. посадочных работ.

### 6. Адаптация растений из культуры *in vitro* к условиям школки

Адаптация растений из культуры *in vitro* к условиям школки включает два этапа: адаптацию под пленочными тоннелями и адаптацию к условиям школки. Основная задача заключается в создании оптимальных условий для наступления гармоничного роста и развития растений. В противном случае параметры саженцев не будут отвечать требованиям стандарта ДСТУ-2005.

Во время адаптации под пленочными тоннелями полив растений осуществляют дождеванием в течение двух минут через каждые 4-6 часов. С 8 до 9<sup>00</sup> и с 15 до 16<sup>00</sup> проводят проветривание тоннелей и дополнительное освежающее опрыскивание растений. Для проветривания приподнимают край полиэтиленовой пленки и укладывают его поверх дуг. Включают систему полива на 10-15 сек. После проветривания и полива гряды с растениями тщательно закрывают пленкой. В общей сложности длительность полива и проветривания не превышает 10-15 мин. Во время поливов контролируют работу распылителей и при необходимости прочищают или заменяют форсунки. В жаркий период вечернее проветривание и освежающий полив переносят на более позднее время.

После начала адаптации методом рендомизации выбирают контрольные растения, маркируют их свободным кольцом из тонкой алюминиевой фольги и, начиная со второй недели после посадки, проводят наблюдения за формированием листьев. Учитывают образование новых, относительно крупных, недеформированных листьев в верхней части побега. Площадь листьев, сформировавшихся в пробирке, увеличивается незначительно. Признаком завершения адаптации служит образование первого нового листа после пересадки растений из культуры *in vitro* в условия *in vivo*. При образовании новых листочков у 90% контрольных растений период адаптации к условиям пленочных тоннелей считают завершенным. В оптимальных условиях температуры и влажности длительность первого этапа адаптации составляет 14 дней.

С окончанием этапа адаптации под пленочными тоннелями приступают к этапу адаптации растений к условиям школки в теплице или открытом грунте, который длится две недели. Для перехода к более жестким условиям школки без пленочного укрытия тоннелей проводят закаливание растений. С этой це-

люю в течение недели на ночь с тоннелей снимают плёнку, а в дневные часы растения культивируют под пленочным укрытием. К концу первой недели за счет утренних и вечерних часов, а также периодов пасмурной погоды увеличивают время нахождения растений без пленочного укрытия. Со второй недели полностью снимают пленку с тоннелей, но оставляют притенение гряд. В этот период начинается интенсивный рост побегов, что определяется по степени изгиба их верхушек.

Как правило, интенсивный рост побегов наступает через месяц после начала адаптации. После завершения адаптации прекращают полив дождеванием и растения поливают шлангом под корень только в случае подсыхания поверхности почвы. Листовой аппарат не увлажняют. Для школки в условиях гравийной культуры режим полива остается неизменным — от 3 до 6 поливов в день, длительность полива — 2 мин.

С наступлением гармоничного роста и развития адаптированные растения способны противостоять прямым солнечным лучам и высокой температуре. В этот период притенение убирают и осуществляют стандартные операции по уходу за виноградной школкой.

#### 7. Уход за виноградной школкой после завершения этапа адаптации растений в условия *in vivo*

Полив растений в школке проводят без увлажнения листьев либо шлангом 1-2 раза в неделю по поперечным бороздкам, либо с помощью капельной системы орошения (одна капельница на 0,4 погонных метра трубы). В первом случае после каждого полива проводят рыхление почвы. Один раз в две недели, в вечернее время проводят внекорневые подкормки. С августа из состава раствора для внекорневых подкормок исключают аммиачную селитру.

Оптимальную температуру для выращивания саженцев (25-30°C) в теплицах регулируют с помощью заслонок вентиляционной системы. Начиная с середины июля, вентиляционную систему держат полностью открытой.

С началом раскрытия плёнки, в утренние и вечерние часы выполняют стандартные зеленые операции: подвязку, пасынкование нижних узлов до высоты 40 см, чеканку и следят за общим состоянием растений. К моменту выкопки саженцев у растений необходимо сформировать только один вызревший побег без пасынков. По требованиям ДСТУ 4390:2005, длина вызревшей части побега саженца должна быть не менее 40 см, а диаметр в верхней части — не менее 3 мм. Исходя из этих требований, опору в виде шпалеры закрепляют на высоте 35-40 см над поверхностью субстрата и к ней подвязывают прирост. Прирост

чеканят на 10-15 см выше опоры, что создает благоприятные условия для разгнания отставших в росте саженцев. Для стандартных саженцев не требуется длина вызревшего прироста более 40 см, поэтому в начале сентября проводят повторную чеканку побегов сильнорослых растений.

При ежедневном двукратном опрыскивании растений водой в процессе адаптации, как и при выращивании саженцев из зелёных черенков в условиях искусственного туманообразования [5], повреждению растений фитопатогенными грибами не подвергается. После завершения адаптации и перехода на режим выращивания растений в школке возникает необходимость защиты растений против болезней и вредителей с помощью химических обработок. Предпочтение отдают ядохимикатам, не угнетающим растения и трудно смываемым осадками (бордоская жидкость). Первое опрыскивание против милдью бордоской жидкостью проводят перед съемом притенения, последующие обработки выполняют через каждые 2-3 недели по мере отрастания прироста или при выпадении атмосферных осадков. Для борьбы с оидиумом, другими болезнями грибной этиологии и клещом чередуют современные высокоэффективные препараты системного действия.

Апробацию школки на чистосортность саженцев и оценку их фитосанитарного состояния проводят, согласно инструкции по фитосанитарной селекции, с августа по сентябрь. После завершения листопада школку выкапывают, сортируют стандартные саженцы и закладывают посадочный материал на хранение.

#### 8. Выращивание привитых саженцев с использованием метода *in vitro* (по а.с.СССР № 1576044)

Для производства привитых саженцев питомник организуют в стеклянной или пленочной теплице. Оборудование теплицы описано в п.4 настоящих рекомендаций. В условиях открытого грунта результаты неудовлетворительные. В качестве подвоя используют вегетирующие саженцы подвойных сортов, например, Кобера 5ББ. Привоем служат микрочеренки размножаемых сортов винограда от растений, выращенных в условиях *in vitro*.

Черенки подвойных сортов заготавливают на сертифицированных базовых маточниках. Двухглазковые черенки подвоя устанавливают в вертикальном положении со слоем воды 0,5 см и проращивают при комнатной температуре в течение марта. Для посадки отбирают лучшие проросшие черенки, которые имеют равномерно расположенные зачатки пяточных корней и тронувшийся в рост глазок. В апреле черенки высаживают в пленочную теплицу без притенения гряд.

Прививку проводят в конце мая в зеленый побег вегетирующего растения подвоя на высоте 40 см над поверхностью субстрата. Побег подвоя должен находиться в состоянии гармоничного роста и развития, что определяется по его изогнутой верхушке (патент Украины 43191). В отличие от обычных зеленых прививок, у привоя оставляют не часть листа, а целый листочек. Преимуществом данного способа является качественное срастание компонентов прививки, несмотря на различие толщины привоя (1,5-2 мм) и подвоя (4-5 мм).

### 9. Выполнение прививок микрочеренками и уход за прививками

По числу планируемых прививок предварительно необходимо изготовить микропарники. Прозрачные трубки диаметром 23-25 мм из тонкого стекла нарезать на цилиндры длиной 200 мм. Полоску бумаги шириной 70 мм и длиной 200 мм уложить по длине стеклянного цилиндра с внешней стороны. Закрепить полоску одним слоем ленты из полиэтиленовой пленки толщиной 16 мкм путем обматывания ее по всей длине стеклянного цилиндра. В результате получена полупрозрачная трубка длиной 200 мм с прозрачной щелью шириной 3-5 мм для визуального наблюдения за состоянием прививки. Верхнюю часть трубки закрыть ватным тампоном и пленкой.

Для прививки используют двуглазковые микрочеренки привойных сортов. Из пробирки пинцетом извлекают растение, тиражированное в условиях *in vitro*, ножницами разрезают его на двуглазковые микрочеренки, на каждом микрочеренке удаляют нижний лист. Верхушку побега с недоразвитым листочком для черенкования не используют. Подготовленные микрочеренки помещают в сосуд с раствором марганцовокислого калия бледно-розового цвета и доставляют к месту прививки.

Прививку выполняют на побеге подвоя в зоне с развитыми проводящими сосудами древесины, которую можно определить по хорошо заметному кольцу, образованному сосудами на поперечном срезе побега. Как правило, на четвертом междоузлии ниже верхушки побега, проводящие сосуды уже достаточно развиты и пригодны для прививки.

При выполнении прививки необходимо перерезать междоузлие подвоя и произвести его расщеп на глубину 10-15 мм. На привое выполнить срез в виде клина и ввести его в расщеп подвоя, совместив зоны камбия. Расщеп обвязать лентой из тонкой пленки и зафиксировать её узлом. На 25 мм ниже места прививки обложить побег подвоя ватным тампоном, смоченным в слабом растворе марганцовокислого калия, и на него, как на пробку, одеть микропарник, сортированный прозрачной щелью на север. Нижнее отверстие с ватным тампо-

ном загерметизировать (обвязать) широкой полоской тонкой пленки и этой же пленкой прикрепить микропарник с прививкой к установленному рядом опорному колышку.

Спустя 2-3 недели после выполнения прививок через прозрачную щель на боковой поверхности микропарника по началу роста побегов необходимо определить приживаемость прививок. У прижившихся прививок удалить верхний ватный тампон микропарника с герметизирующей пленкой.

В течение последующих двух недель на прижившихся прививках до момента выхода побега из трубки микропарника формируются мелкие листочки. С выходом побега из микропарника увеличивается размер листьев и проблем с адаптацией к солнечному свету не возникает. После выхода побега привоя из трубки микропарника и образования первого листа в условиях прямых солнечных лучей микропарник необходимо аккуратно снять, не повредив при этом место прививки и развившийся побег привоя. В противном случае возникнут определенные сложности извлечения прироста из-за разросшихся крупных листьев. После съема микропарника начинается гармоничный рост и развитие привитых саженцев, и к концу периода вегетации формируются полноценные вызревшие побеги длиной более одного метра.

От момента выполнения прививки до наступления интенсивного роста основной зеленой операцией в питомнике является обломка подвойной поросли. Полив, прополку сорняков, подвязку побегов и защиту от грибных болезней проводят по общепринятой схеме. Осенью привитые саженцы выкапывают из школки, сортируют и закладывают на хранение.

### 10. Создание базовых маточников

Производство сертифицированного посадочного материала предполагает создание базовых маточников. Разрешено создание не только привитых, но и корнесобственных базовых маточников в теплицах с соблюдением карантинных мер. Посадки базовых маточников должны быть свободны от карантинных объектов: грибных, вирусных, микоплазменных и болезней и рака. Для предохранения маточников высших категорий от переносчиков инфекций обеспечивают их пространственную изоляцию от других виноградных насаждений. Фитосанитарное тестирование проводят на всех этапах получения посадочного материала, начиная с отобранных по положительным признакам материнских кустов-клонов до закладки виноградников сертифицированным материалом. Перед посадкой маточника в обязательном порядке проводят тестирование исходных растений и участков на наличие карантинных объектов, в том

числе и филлоксеры. Для фитосанитарного тестирования посадочного материала, насаждений и почвенных образцов специалисты питомниководческого хозяйства совместно с представителем Государственной карантинной инспекции отбирают образцы, которые анализируют в специально аккредитованных лабораториях.

Ведение базовых маточников предусматривает улучшение хозяйственно полезных признаков кустов новых посадок с помощью клоновой селекции, которую проводят в течение трех лет после вступления маточника в плодоношение или дозаношение. Ежегодно проводят отбор и маркировку кустов с высокими показателями хозяйственно полезных признаков. Лозу с кустов, имеющих три положительные отметки, используют для закладки участков клонов второго поколения.

В РФ для закладки базовых маточников применяют суперинтенсивную технологию, которая предусматривает загущенную посадку саженцев в рядах через 25-30 см при ширине междурядий 2-3 м [6]. Данный способ требует большого количества саженцев и приемлем лишь для производства черенков. При такой загущенности насаждений затруднительно вести полноценную клоновую селекцию, так как кусты не в полной мере раскрывают свой биологический потенциал.

Стандартная схема создания сертифицированного маточника занимает 15 лет и включает ряд этапов:

- школка выращивания исходного материала (1 год);
- маточник исходного материала (4 года);
- школка выращивания базового материала (1 год);
- маточник базового материала (4 года);
- школка выращивания сертифицированных саженцев (1 год);
- маточник сертифицированного материала (4 года).

Существенным недостатком стандартной схемы является возможность инфицирования посадочного материала карантинными объектами на любом из перечисленных выше этапов. Использование метода *in vitro* позволяет сократить число необходимых для создания базового маточника этапов до трех:

- размножение исходного материала в условиях *in vitro* (1 год);
- школка выращивания сертифицированных саженцев (1 год);
- маточник сертифицированного материала (4 года).

При этом не только с 15 до 7 лет сокращается период до начала производства привитых сертифицированных саженцев, но и снижается риск инфицирования растений, поскольку они тиражируются в стерильных условиях *in vitro*.

Настоящая методика создания базовых маточников предусматривает отбор кустоклонов улучшаемых или новых сортов, фитосанитарное тестирование исходного материала, введение эксплантатов в культуру *in vitro*, тиражирование растений методом *in vitro*, адаптацию в условия *in vivo*, выращивание в условиях временно защищенного грунта необходимого количества сертифицированного посадочного материала и посадку базового маточника [12].

Стартовую заправку органического удобрения (перегной, коровяк, но не куриный или овечий помет) из расчета 20-40 дм<sup>3</sup> на одно растение вносят локально в траншею под будущим рядом, на 10-15 см ниже планируемой глубины посадки саженцев. Для устранения прямого контакта корневой системы с органическим удобрением в траншею насыпают слой почвы толщиной 10-15 см. Корневая система саженцев полностью сохраняется, укорачивание корней не производится. К посадке приступают с началом вегетации виноградника. Посадку проводят в ямы с водой. Для посадки используют саженцы с прорастающим глазком, не дожидаясь образования листочка, так как возможна гибель прироста. В противном случае выполняют притенение прироста в виде экрана, кулька и т.п. Важно, чтобы верхушка побега выросла из зоны притенения на открытый солнечный свет самостоятельно.

В течение периода вегетации выполняют весь комплекс агротехнических мероприятий с учетом ряда особенностей при выполнении зеленых операций.

В первый год для накопления биологической массы количество зеленых операций сокращают до минимума. В конце августа-начале сентября проводят только позднюю чеканку побегов. В конце первого года длина общего прироста куста составляет 3-5 м. Обрезку после листопада и до начала "плача" выполняют «на обратный рост».

В течение второго года за счет использования пасынков выполняют приемлемую в конкретной виноградарской зоне ускоренную формировку.

На третий год получают полноценный черенковый материал в полном объеме.

Основным способом получения привитых саженцев из стандартных черенков привоя и подвоя является настольная прививка в прививочных комплексах. Этими привитыми саженцами закладывают базовые маточники для ведения клоновой селекции, производства винограда и сертифицированного посадочного материала.

Учитывая высокую ценность черенков с маточников высших категорий, нестандартные основные и пасынковые побеги толщиной до 7 мм продавливают до начала набухания глазков и используют для зеленой прививки. В августе мас

эффективной является прививка в тепличных условиях на вегетирующие подвои, находящиеся в начале фазы интенсивного роста. Наиболее приемлемым является способ зеленой прививки в расщеп, так как он наиболее прост в исполнении, производителен при хорошем качестве срастания симбионтов. Для обычных зеленых прививок, проводимых во второй половине мая, черенки хранят в холодильнике при температуре плюс 4°C [4].

Для скрепления компонентов прививки используют тонкую (20 мкм) полиэтиленовую плёнку. Её скатывают в рулончик диаметром 10-15 мм и прививочным ножом от рулончика нарезают отрезки шириной 12-15 мм. В процессе обвязки с некоторым натяжением эластичная полиэтиленовая лента герметизируют место прививки и среза. Количество слоёв плёнки в бандаже не должно быть более двух-трех. После срастания компонентов прививки стем бандажа из полиэтиленовой пленки не требуется.

Предложенная схема вдвое сокращает период создания базовых маточников. Разработанная энергосберегающая технология выращивания саженцев винограда из растений культуры *in vitro* позволяет получать посадочный материал высшей категории качества на местах для создания базовых маточников, экономить трудозатраты и энергетические ресурсы.

### Список литературы

1. А.с. СССР № 1576044. Способ размножения виноградного растения / Дженеев С.Ю., Терешенко А.П., Чекмарев Л.А. – МКИ А 01 D 17/00. – № 1474299/30-15; Заявл. 17.08.88; 07.07.90. Бюлл. №25.
2. Голодрига П.Я., Зленко В.А., Чекмарев Л.А., Бутенко Р.Г., Левенко Ю.А., Пивень П.М. Методические рекомендации по клональному микроразмножению винограда. Ялта: ВНИИВиВ "Магарач", 1986. – 57 с.
3. ДСТУ 4390:2005 Саджанці винограду та чубуки виноградної лози. Технічні умови. К.: Держгеоживстандарт України, 2005 (4. Саджанці кореневласні коротких чубуків; 4.1 Пагіг однорічний). – С. 4.
4. Дробоглав М.А., Бондарев В.П., Чекмарев Л.А. Выращивание саженцев винограда из укороченных черенков в условиях гравийной культуры или на питательных смесях / Рекомендации. Ялта: ВНИИВиВ "Магарач", 1972. – 10 с.
5. Дубовенко А.П. Инструкция по ускоренному размножению винограда с использованием теплиц. Ялта: ВНИИВиВ "Магарач", 1982. – 18 с.
6. Малтабар Л.М., Николаенко В.Г., Трошин Л.П. Инструкция по созданию сортовых маточников винограда интенсивного типа и уходу за ними. М.: В/О "Союзплодопитомник", 1987. – 24 с.
7. Олейников П.П. Место и значение гидропонной гравийной культуры в селекции винограда / Виноградарство и виноделие: Сб. науч. тр. НИИВиВ "Магарач", Ялта, 2007. – Т. 37. – С. 38-40.
8. Патент України № 43191. Спосіб одержання шеплених саджанців винограду. Мелконян М.В., Чекмарьов Л.А. МКИ А 01 G 17/00; А 11/02. – № 2001042175; Заявл. 03.04.2001; Опубл. 15.11.2001. Бюлл. №10. – 2 с.
9. Скороход В.О. Промислова біотехнологія мікроклонального розмноження винограду в культурі *"in vitro"*: Монографія. – Херсон: Айлант, 2000. – 328 с.
10. Чекмарев Л.А. Аспекты физико-химической закономерности роста и развития и использование её в питомниководстве (обсуждение гипотезы). Ялта: ВНИИВиВ "Магарач", 1990. – 73 с.
11. Чекмарев Л.А., Мелконян М.В., Глыбин П.П. Резерв ускорения селекции винограда // Виноград. Вино. – 2002. – № 4. – С. 23.
12. Чекмарев Л.А. Методика ускоренного создания привитых маточников винограда // Виноградарство и виноделие: Сб. научн. тр. НИИВиВ "Магарач", Ялта: НИИВиВ "Магарач", 2003. – Т.34. – С. 52-55.
13. Чекмарев Л.А., Антипов В.П. Энергосберегающая технология выращивания саженцев винограда из растений культуры *"in vitro"* // Виноградарство и виноделие. – 2007. – № 2. – С.5-7.

---

Подписано к печати 07.12.2010  
Объем 1,0 п.л. Тираж 100 экз. Заказ 25.  
Печатная группа НИИВЗ «Магарач».  
ул.Кирова, 31. г.Ялта. 98600