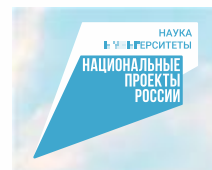




ФГБУН
Всероссийский национальный научно-исследовательский институт
виноградарства и виноделия «Магарач» РАН



Задание № FNZM-2022-0011 Технология оздоровления и получения посадочного материала винограда (Поисковые исследования)

Этап 2: Провести комплекс технологических операций по оздоровлению растительного материала винограда от латентных инфекций

Руководитель:

Клименко В.П. , гл. науч. сотр., зав. лабораторией генетики, биотехнологий селекции и размножения винограда, д-р с.-х. наук, ст. науч. сотр.

Ответственный исполнитель:

Павлова И.А. , вед. науч. сотр. лаборатории генетики, биотехнологий селекции и размножения винограда, канд. биол. наук, ст. науч. сотр.;

Исполнители:

Зленко В.А. , вед. науч. сотр. лаборатории генетики, биотехнологий селекции и размножения винограда, канд. с.-х. наук, доцент;

Лушай Е.А. , мл. науч. сотр. лаборатории генетики, биотехнологий селекции и размножения винограда;

Абдурашитова А.С. , мл. науч. сотр. лаборатории генетики, биотехнологий селекции и размножения винограда;

Григоренко М.И. , мл. науч. сотр. лаборатории генетики, биотехнологий селекции и размножения винограда;

Спотарь Г.Ю., мл. науч. сотр. лаборатории молекулярно-генетических исследований;

Спотарь Е.Н., мл. науч. сотр. лаборатории молекулярно-генетических исследований;

Корнильев Г.В., ведущий инженер лаборатории молекулярно-генетических исследований, канд. биол. наук;

Рязанкина Я.Ю., инженер лаборатории молекулярно-генетических исследований;

Мироненко А.А., инженер лаборатории молекулярно-генетических исследований

Всего 11 исследователей, в т.ч. 8 научных сотрудников



Всероссийский национальный научно-исследовательский
институт виноградарства и виноделия

«МАГАРАЧ» РАН

Ялта 2023

Цель исследований – проведение комплекса технологических операций по оздоровлению растительного материала винограда от латентных инфекций и получение экспериментальных данных

Задачи исследований:

- получить растения винограда *in vitro* в необходимом и достаточном количестве для проведения экспериментов по оздоровлению;
- освоить эффективные методы оздоровления растений винограда *in vitro*;
- провести комплекс технологических операций по оздоровлению растительного материала винограда от латентных инфекций;
- провести молекулярную диагностику латентной формы фитопатогенов растительного материала после процедур оздоровления;
- получить данные в экспериментах по оздоровлению от латентных инфекций инфицированного растительного материала винограда с использованием биотехнологий;
- подготовить к публикации обзор биотехнологических методов оздоровления растений винограда от инфекционных болезней.

Методы исследований:

- Получение, культивирование, клональное микроразмножение растений
- Соматический эмбриогенез и регенерация растений
- Тестирование латентных инфекций
- Методы оздоровления растений винограда в системах *in vitro*

База проведения исследований: лаборатория генетики, биотехнологий селекции и размножения винограда; лаборатория молекулярно-генетических исследований (ФГБУН «ВНИИВИВ «МАГАРАЧ» РАН»), г. Ялта.

Актуальность: оздоровленные от фитопатогенов растения необходимы, как исходный материал для размножения в питомниках и для обмена зародышевой плазмой между странами или регионами. Поэтому использование оздоровленного посадочного материала является важным принципом развития устойчивого виноградарства.

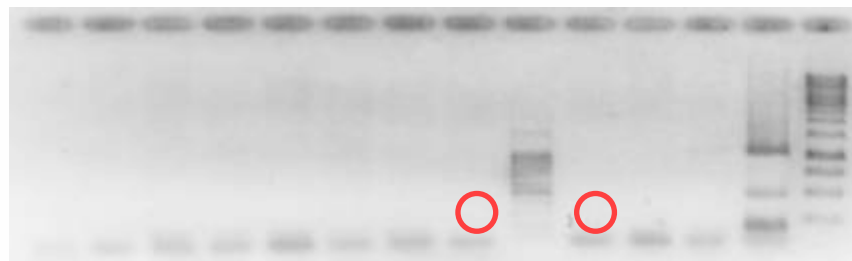
Новизна исследований:

- Научная новизна данной научно-исследовательской работы заключается, прежде всего, в предстоящем получении современных знаний, позволяющих оптимизировать оздоровление от основных фитопатогенов генотипов винограда в биотехнологических системах.
- Будет разработана схема оздоровления посадочного материала винограда от основных инфекций и составлен паспорт технологии оздоровления посадочного материала винограда.
- Вегетирующая коллекция винограда *in vitro* будет пополнена новыми образцами межвидовых сортов винограда селекции института «Магарач», свободными от латентных инфекций, будут разработаны научно-обоснованные подходы к оптимизации оздоровления образцов и получены экспериментальные данные по результатам оздоровления в системе *in vitro*.

Результаты первичной молекулярной диагностики латентной стадии вирусных и бактериальных фитопатогенов отобранного растительного материала, наличие возбудителя, г. Ялта, 2022-2023 гг.

Сорт	GLRaV-1 скручивание листьев винограда, серотип 1	GFLV короткоузлие	GVA ямчатость древесины Кобера	GRSPaV бороздчатость древесины Рупестрис	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> бактериальный рак	<i>Agrobacterium rhizogenes</i> бактериальный рак
Аврора Магарача				+	+	
Альминский	+		+	+		+
Антей магарачский				+		
Артек				+		
Геркулес						
Гранатовый Магарача				+		
Красень				+	+	
Памяти Голодриги				+	+	
Первенец Магарача						
Подарок Магарача		+		+	+	+
Рислинг Магарача		+		+	+	
Ркацители Магарача		+		+	+	
Сафьяновый						+
Спартанец Магарача			+		+	+
Тавквери Магарача				+	+	
Цитронный Магарача				+	+	+
Южнобережный		+				
Ялтинский бессемянный					+	

Использование термотерапии для оздоровления растительного материала от фитопатогенов, г. Ялта, 2023 г.



По схеме оздоровления с помощью термотерапии использовали климатическую камеру Binder KBWF 240, количество циклов 2,5 (624 часа), образцы 11 сортов. После термотерапии исчезла инфекция GFLV в образцах сорта Ркацители Магарача, *A.tumefaciens* в образцах сортов Аврора Магарача и Ркацители Магарача. Снижился уровень инфекции GFLV в образцах сорта Южнобережный и GRSPaV в образцах сортов Аврора Магарача и Цитронный Магарача.

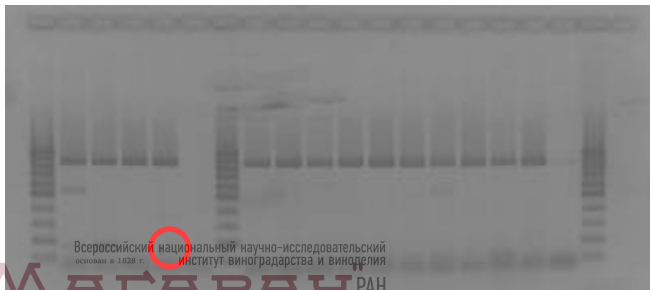
Проведение химиотерапии, г. Ялта, 2023 г.



Антей
магарачский



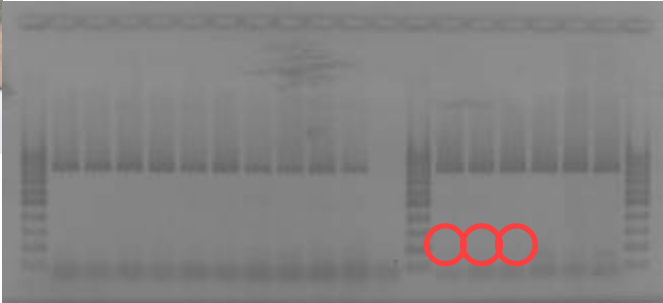
Гранатовый
Магарача



Южнобережный

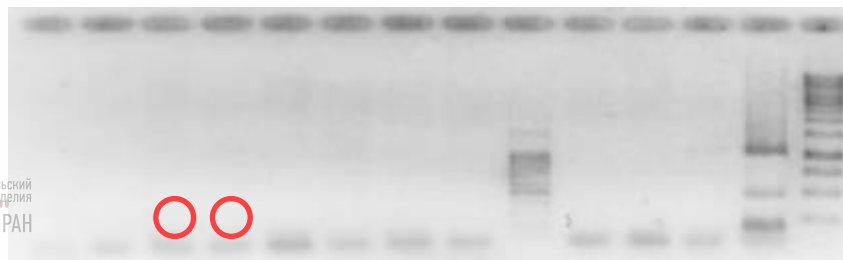
По схеме оздоровления с помощью химиотерапии растения *in vitro* 3 сортов высажены на среду PG, с добавлением после автоклавирования препарата рибавирин в концентрации 60 мг/л. Выявлена сортовая специфичность развития морфологических структур под влиянием рибавирина. После химиотерапии исчезла инфекция GRSPaV в образцах сорта Антей магарачский.

Освоение метода культуры меристем, сорт Альминский, г. Ялта, 2023 г.



По схеме оздоровления с помощью культуры меристем у растений *in vitro* 4 сортов выделены меристемы в количестве 46 шт. и высажены на жидкую питательную среду согласно методике, приживаемость составила 39,56 %. Когда меристемы увеличились в размере, их пересаживали несколько раз на среду М2. После комплекса процедур термотерпии и меристемного метода в образцах сорта Альминский исчезла инфекция GRSPaV, GVA, GLRAV-1 и *A. rhizogenes*.

Освоение электротерапии для оздоровления растительного материала от фитопатогенов, г. Ялта, 2023 г.



По схеме оздоровления с помощью электротерапии использованы зеленые побеги 4 сортов. В процессе электротерапии использовали до 5 вариантов. После процедуры экспланты вводили в условия *in vitro*. Затем осуществлялась регенерация растений. После процедуры снизился уровень инфекции GRSPaV и *A.tumefaciens* в образцах сорта Памяти Голодриги.

Результаты технологических операций по оздоровлению растительного материала винограда от латентных инфекций, г. Ялта, 2023 г.

Сорт	GLRaV-1 скручивание листьев винограда, серотип 1		GFLV короткоузлие		GVA ямчатость древесины Кобера		GRSPaV бороздчатость древесины Рупестрис		<i>A. tumefaciens</i> бактериальный рак		<i>A. rhizogenes</i> бактериальный рак	
	2022 г.	2023 г.	2022 г.	2023 г.	2022 г.	2023 г.	2022 г.	2023 г.	2022 г.	2023 г.	2022 г.	2023 г.
Аврора Магарача	-	-	-	-	-	-	+	<	+	-	-	-
Альминский	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-
Анте́й магарачский	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
Красень	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-
Памяти Голодриги	-	-	-	-	-	-	+	<	+	<	-	-
Ркацители Магарача	-	-	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-
Цитронный Магарача	-	-	-	-	-	-	+	<	+	+	+	-
Южнобережный	-	-	+	<	-	-	-	-	-	-	-	-

Выводы и рекомендации

1. Получены растения *in vitro* 18 сортов винограда в необходимом и достаточном количестве для проведения экспериментов по оздоровлению.
2. Освоены эффективные методы оздоровления растений винограда *in vitro*.
3. Проведены комплексные технологические операции по оздоровлению растительного материала винограда от латентных инфекций.
4. Проведена молекулярная диагностика латентной формы фитопатогенов растительного материала после процедур оздоровления.
5. Использование биотехнологических методов позволяет полностью или частично избавляться от ряда инфекций, наиболее перспективным представляется сочетание культуры меристем с другими методами.
6. Подготовлен к публикации обзор биотехнологических методов оздоровления растений винограда от инфекционных болезней.



Научные труды, повышение квалификации

- Опубликована одна статья в издании, входящем в наукометрическую базу данных Web of Science.
- Сотрудники повысили квалификацию:
 - по программе «Актуальные проблемы генетики устойчивости растений к болезням и использования молекулярных маркеров в селекции» в ФГБНУ ВНИИЗР;
 - по программе «Методы генотипирования в растениеводстве» в ФГБНУ ВНИИСБ;
 - по программе «Анализ данных NGS-данных» в ООО Бластима.
- Дополнительное финансирование на задание № FNZM-2022-0011 в 2023 г. получено в полном объеме 4233,3 тыс. руб.