

DOI
УДК 634.8**ЭФФЕКТИВНОСТЬ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ РАСТЕНИЙ ВИНОГРАДА IN VITRO***
В. Г. Пузырнова, Н. П. Дорошенко

Реферат. Статья посвящена совершенствованию элементов технологии клонального микроразмножения сорта винограда Пухляковский с целью повышения эффективности его содержания в коллекции *in vitro*. Исследовали введение в состав культуральной среды осмотически активного вещества – сорбит в диапазоне концентраций 5...30 г/л, в сравнении с сахарозой 10 г/л. Исследования проводили в 2021–2022 гг. на коллекции растений винограда *in vitro* Всероссийского научно-исследовательского института виноградарства и виноделия имени Я.И. Потапенко (Ростовская область). Культивирование осуществляли в условиях освещенности 3,0 тыс. лк, температура +25 °С, фотопериод 16/8 ч, влажность воздуха 60 %. Оценивали морфометрические параметры побегов – количество и длина побегов, высота побега, количество листьев. Отмечено ингибирование ростовых процессов во всех опытных вариантах, в сравнении с контролем. Лучшие показатели сохранности зафиксированы в варианте с концентрацией сорбита 10 г/л. Худшую сохранность наблюдали в контроле (43,3 %) и варианте с максимальным в опыте содержанием сорбита 30 г/л (36,7 %). Проведен расчет экономической эффективности содержания растений в коллекции *in vitro* на среде с сахарозой и сорбитом. Депонирование на среде с сорбитом экономичнее на 17 % благодаря увеличению интервала между субкультивированиями с 6 до 12 месяцев. Установлено положительное влияние препарата сорбит на сохранность и качественные характеристики растений. Лучшая сохранность (86,7 %) и умеренное торможение роста зафиксированы в варианте с концентрацией препарата 10 г/л. Она оказалась оптимальной для использования при депонировании растений винограда сорта Пухляковский в коллекции *in vitro* в условиях замедленного роста.

Ключевые слова: виноград (*Vitis*), сохранение биоразнообразия, коллекция *in vitro*, микроклональное размножение, сорбит.

*Работа выполнена в рамках государственного задания согласно тематического плана НИР ВНИИВиВ-филиал ФГБНУ ФРАНЦ № FSMF-2019-0029 «Провести сохранение, пополнение ампелографической коллекции *in situ*, *ex situ* и *in vitro* с целью изучения признаков, определяющих хозяйственную ценность генофонда, в т.ч. устойчивость сортов к вредным организмам. Создать ампелографическую базу данных. Разработать методы среднесрочного сохранения коллекции *in vitro*».

Введение. Сохранению генофонда винограда посвящено немало исследований во многих странах [1, 2, 3].

Наряду с традиционными методами, в последние годы все большее значение приобретают коллекции генофонда в виде изолированных тканей и органов *in vitro*. Они имеют ряд неоспоримых преимуществ и активно создаются по всему миру как альтернативный и дополнительный инструмент в системе мер по сохранению генофонда растений [4, 5, 6].

Достоинство таких коллекций – здоровые растения без вирусных и фитомикоплазменных инфекций, что повышает продуктивность виноградников, качество винограда и вина, долговечность насаждений, устойчивость к неблагоприятным факторам среды. Возможность проведения работ в течение года сокращает продолжительность селекционного процесса. Потребность в площадях и трудозатраты ниже в сравнении с содержанием полевых коллекций [7].

Содержание растений в условиях *in vitro* – направление дорогое. Однако ввиду того, что на сегодняшний день его относят практически к единственному надежному способу производства здорового посадочного материала и сохранения генофонда – затраты оправдывают себя. Важное направление исследований в области биотехнологии хранения растений – снижение себестоимости процесса. Один из способов уменьшения затрат – хранение

растений *in vitro* в условиях замедленного роста. Это позволяет снизить трудозатраты и расход материалов и компонентов культуральных сред. Кроме того, снижение частоты пересадок способствует повышению сохранности, так как субкультивирование сопровождается риском заражения и является стрессом для растения [8–9].

Один из способов снижения затрат – увеличение периода между пересадками путем снижения частоты субкультивирований вследствие уменьшения скорости роста растений [10].

Поиск приемов, позволяющих изменить кинетику роста и увеличить время между субкультивированиями – актуальная задача, которую в лаборатории биотехнологии Всероссийского научно-исследовательского института виноградарства и виноделия имени Я.И. Потапенко решают с использованием антибиотиков, углеводов и физических параметров культивирования [11].

Условия для замедленного роста создаются, например, путем применения осмотиков – веществ, имитирующих для растений недостаток влаги. Действие водного стресса выражается в снижении скорости ростовых процессов, угнетении фотосинтеза и дыхания, снижении ферментной активности, изменении соотношения минеральных веществ. К числу осмотически активных веществ относят сорбит – органический шестиатомный спирт,

который получают путём гидрирования глюкозы с восстановлением альдегидной группы до первичной спиртовой [12].

Ранее было изучено влияние сорбита на растения винограда сортов Агат донской, Восторг, Каберне Совиньон. В этих исследованиях отмечено стимулирование ростовых процессов при его минимальных концентрациях (5...7,5 г/л) и минимизация скорости роста при повышенных (10...60 г/л) [13].

Цель исследования – определить концентрации сорбита для снижения скорости роста растений винограда сорта Пухляковский в условиях *in vitro*.

Условия, материалы и методы. Работу проводили в стационарных условиях лаборатории биотехнологии Всероссийского научно-исследовательского института виноградарства и виноделия – филиале Федерального Ростовского аграрного научного центра на коллекции винограда *in vitro* по общепринятым в биотехнологии методикам.

Пробирочные растения, выращенные *in vitro*, после второго субкультивирования скальпелем разделяли на сегменты стебля с одним узлом, которые использовали в качестве вторичных эксплантов. Их высаживали на модифицированную среду Мурасиге–Скуга. Культивирование проводили в пробирках размером 200 × 20 мм. Схема опыта включала 6 вариантов: добавление в питательную среду сорбита в концентрациях 5; 7,5; 10; 20; 30 г/л; контроль – сахароза 10 г/л. Повторность трехкратная, по 10 растений.

Условия культивирования были следующими: освещение 3,0 тыс. лк, температура 25 °С, фотопериод 16/8 ч, влажность воздуха 60 %. Оценивали количество и длину побегов, количество листьев. Ризогенную зону измеряли до достижения растениями возраста 6 месяцев. Далее измерить корни без извлечения растений из пробирки не представлялось возможным, поэтому данные по количеству и длине корней, а также длине ризогенной зоны в учетах после 205 суток культивирования отсутствуют.

Для расчета показателей экономической эффективности применяли расчетно-конструктивный метод (*Методические рекомендации по клональному микроразмножению винограда / П. Я. Голодрига, В. А. Зленко, Л. А. Чекмарев и др. Ялта: ВНИИВиПП "Магарач" 1986. 56 с.; Технологический процесс получения безвирусного посадочного материала плодовых и ягодных культур / В. И. Кашин, А. А. Борисова, Ю.Н. Приходько и др. М.: Издательство: Всероссийский селекционно-технологический институт садоводства и питомниководства Россельхозакадемии, 2001. 100 с.*). Расчет затрат на содержание в коллекции *in vitro* 10000 шт. растений на протяжении 12 месяцев был проведен в ценах 2021 г.

Статистическую обработку экспериментальных данных осуществляли методом

дисперсионного анализа (*Доспехов Б.А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований). М.: Колос, 1965. 424 с.*).

Результаты и обсуждение. По всем вариантам опыта отмечена высокая приживаемость растений 76,7...100 %. Их сохранность, спустя год беспересадочного содержания в коллекции *in vitro* на среде с сорбитом в концентрациях 5...20 г/л, была выше, чем в контроле, на 27...43 % и составляла 70...86,7 %. Максимальная в опыте сохранность зафиксирована при использовании 10 г/л сорбита.

Худшей (36,7 %) она была в варианте с максимальным в опыте содержанием сорбита – 30 г/л (табл. 1).

Уменьшение сохранности отмечали с 9 месяца культивирования по достижению растениями высоты 16 см (высота пробирки). На протяжении всего периода культивирования очень четко просматривалось снижение интенсивности ростовых процессов под действием сорбита во всех вариантах опыта, по сравнению с контролем.

Количество корней в вариантах с сорбитом было ниже, чем в контроле. Так, в возрасте 60 суток число корней в контроле составляло в среднем 2,1 шт. на растение. При добавлении в питательную среду сорбита величина этого показателя снижалась до 1,3 (30 г/л)...1,7 (10 г/л) шт. на растение. Эта закономерность сохранялась на протяжении всего периода учета корневой зоны (до 6 месяцев культивирования). Четкой зависимости длины корней от вида и концентрации углевода не зафиксировано. Однако размер ризогенной зоны в вариантах с сорбитом был меньше, чем в контроле. Так, при учете после 60 суток наибольший размер ризогенной зоны (11,8 см) зафиксирован в контроле, наименьший (6,0 см) – в варианте с содержанием сорбита 5 г/л. В дальнейшем эта закономерность сохранялась. После 97 и 130 суток культивирования максимальный среди вариантов размер ризогенной зоны отмечали в контроле (13,6 см и 15,1 см соответственно), наименьший – при самом низком содержании сорбита в среде (8,1 см и 9,1 соответственно). Уменьшение размеров ризогенной зоны происходило вследствие снижения количества корней.

Высота растений в вариантах с сорбитом была меньше, чем в контроле, и снижалась по мере увеличения концентрации сорбита. Максимальной в опыте она была в контроле, самой низкой – в варианте с концентрацией сорбита 30 г/л.

Так, в контроле при учете в возрасте 60 суток средняя высота растений составила 7,3 см, при максимальном в опыте содержании сорбита (30 г/л) она была наименьшей – 3,6 см. При учете через 288 суток культивирования в контроле высота растений была равна 16,8 см, в вариантах с сорбитом – от 14,1 см (30 г/л) до 16,3 см (5 г/л).

СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫЕ НАУКИ

Таблица 1 – Влияние различного содержания сорбита в составе питательной среды на растения сорта Пухляковский (2021 г.)

Вариант, г/л	Сохранность, %	Корни			Высота, см
		число, шт.	длина, см	ризогенная зона, см	
Учет через 60 суток культивирования					
Контроль сахара	93,3	2,1	5,6	11,8	7,3
5,0	76,7	1,5	4,0	6,0	5,2
7,5	96,7	1,6	4,8	7,7	6,0
10,0	100,0	1,7	5,7	9,7	5,7
20,0	90,0	1,4	6,4	8,9	4,2
30,0	83,3	1,3	5,7	7,2	3,6
НСР ₀₅	20,8	2,2	0,3	0,9	1,1
Учет через 97 суток культивирования					
Контроль сахара	93,3	2,2	6,2	13,6	10,2
5,0	73,3	1,6	5,1	8,1	7,9
7,5	96,7	1,6	5,8	9,2	9,0
10,0	100	1,7	7,1	12,0	9,2
20,0	90,0	1,4	7,8	10,9	7,8
30,0	83,3	1,3	7,5	9,8	7,3
НСР ₀₅	15,8	0,9	2,0	2,2	1,9
Учет через 130 суток культивирования					
Контроль сахара	93,3	2,2	6,9	15,1	12,5
5,0	73,3	1,5	6,1	9,1	11,3
7,5	96,7	1,6	6,1	9,8	11,7
10,0	100,0	1,7	7,0	11,9	11,5
20,0	90,0	1,5	8,4	12,6	10,6
30,0	83,3	1,5	8,2	12,3	8,6
НСР ₀₅	15,6	0,9	3,1	2,4	1,5
Учет через 205 суток культивирования					
Контроль сахара	90,0	–	–	–	15,2
5,0	73,3	–	–	–	15,6
7,5	96,7	–	–	–	14,2
10,0	100,0	–	–	–	14,7
20,0	90,0	–	–	–	14,7
30,0	83,3	–	–	–	11,7
НСР ₀₅	15,6				1,5
Учет через 288 суток культивирования					
Контроль сахара	73,3	–	–	–	16,8
5,0	70,0	–	–	–	16,3
7,5	96,7	–	–	–	16,2
10,0	100,0	–	–	–	14,7
20,0	83,3	–	–	–	15,8
30,0	73,3	–	–	–	14,1
НСР ₀₅	21,1				0,9
Учет через 324 суток					
Контроль сахара	43,3	–	–	–	17,0
5,0	70,0	–	–	–	17,0
7,5	93,3	–	–	–	16,6
10,0	86,7	–	–	–	16,7
20,0	80,0	–	–	–	16,6
30,0	53,3	–	–	–	15,3
НСР ₀₅	17,2				1,6
Учет через 371 сутки					
Контроль сахара	43,3	–	–	–	17,0
5,0	70,0	–	–	–	17,0
7,5	83,3	–	–	–	16,8
10,0	86,7	–	–	–	17,0
20,0	70,0	–	–	–	17,0
30,0	36,7	–	–	–	16,0
НСР ₀₅	27,3				4,0

В контроле растения достигли максимально возможной высоты (16 см – размер пробирки) после 9 месяцев культивирования. Далее требовалась пересадка. Из-за снижения скорости роста на среде с сорбитом растения достигали размера пробирки позже и дольше не требовали субкультивирования, что позволяет увеличить время беспересадочного хранения до 12 месяцев. Следует отметить отличное состояние растений в вариантах с сорбитом.

В контроле в возрасте 3 месяца они занимали три четверти пробирки (см. рисунок, а), в то время, как при концентрации сорбита в среде 30 г/л – не более половины пробирки (см. рисунок, б). В экспериментальных вариантах происходило торможение ростовых процессов, но растения оставались жизнеспособными с прямостоящими плотными стеблями ярко-зелёными листьями без признаков угнетения.



Рис. – Влияние сорбита на интенсивность ростовых процессов и жизнеспособность растений сорта Пухляковский.
а – контроль, б – сорбит 30 г/л

Увеличение периода между пересадками позволит снизить затраты на содержание коллекции.

Предполагаемый экономический эффект складывается из уменьшения расходов на оплату труда (подготовка химической посуды, приготовление культуральной среды, посадка), приобретение предметов снабжения и расходных материалов.

Замена в составе культуральных сред сахара сорбитом в той же концентрации (10 г/л) позволит снизить затраты на содержание коллекции на 17 % (табл. 2).

Выводы. Сорбит не оказал отрицательного влияния на приживаемость растений винограда сорта Пухляковский, которая варьировала от 76,7 до 100 % независимо от концентрации осмотика. Максимальная сохранность после 12 месяцев хранения отмечена в варианте с концентрацией сорбита 10 г/л (86,7 %).

Это дает основание считать такую концентрацию оптимальной для культивирования растений винограда сорта Пухляковский в коллекции *in vitro* в условиях замедленного роста.

Таблица 2 – Смета затрат на содержание в коллекции 10 000 растений 1 год, тыс. руб

Статья затрат	Интервал между пересадками	
	9 месяцев	12 месяцев
Оплата труда	263,1	175,396
Начисления на фонд оплаты труда (35,0 %)	92,1	64,9
Оплата коммунальных услуг:		
отопление и технологические нужды	91,3	91,3
потребление электроэнергии	246,8	246,8
водоснабжение помещений	139,7	139,7
содержание помещений	0,3	0,3
Приобретение предметов снабжения и расходных материалов:		
расходные материалы	75,0	50,0
реактивы и регуляторы роста	15,9	11,4
мягкий инвентарь	7,5	5,0
Прочие текущие расходы на закупку товаров и оплата услуг:		
текущий ремонт оборудования	5,0	5,0
текущий ремонт зданий и сооружений	10,0	10,0
Итого прямые затраты	946,7	799,8
Накладные расходы (25 % от оплаты труда и начислений на ФОТ)	88,8	60,1
Стоимость затрат на выращивание 10 000 растений	1035,5	859,9
Себестоимость одного растения	0,1	0,09

Использование сорбита в такой концентрации позволяет увеличить эффективность содержания растений винограда сорта Пухляковский в коллекции *in vitro* на 17 %.

Литература

1. Cantizano J., Garcia de Lujan A., Arroyo-Garcia R. Molecular characterization of table grape varieties preserved in the Rancho de la Merced Grapevine Germplasm Bank (Spain) // *Vitis*. 2018. Vol. 57. No. 3. P. 93–101.
2. Micropropagation and *in vitro* germplasm conservation of Georgian wild grape-vines / D. Maghradze, R. Ocete, J. L. Garcia, et al. // *Vitis*. 2015. Vol. 54 (Special Issue). P. 257–258.
3. *Vitis vinifera* L. germplasm diversity: a genetic and ampelometric study in ancient vineyards in the South of Basilicata region (Italy) / T. Labagnara, C. Bergamini, A.R. Caputo, et al. // *Vitis*. 2018. Vol. 57. No. 1. P. 1–8. URL: <https://ojs.openagrar.de/index.php/VITIS/article/view/8358> (дата обращения: 14.10.2022).
4. Новикова Т. И. Использование биотехнологических подходов для сохранения биоразнообразия растений // *Растительный мир Азиатской России*. 2013. № 2(12). С. 119–128.
5. Guiding principles for identification, evaluation and conservation of *Vitis vinifera* L. sbsp. *sylvestris* / G. Zdunic, E. Maul, J. E. Eiras Dias et al. // *Vitis*. 2017. Vol. 56. No. 3. P. 127–131.
6. Melyan G. Sahakyan A., Harutyunyan A. Micropropagation of grapevine (*Vitis Vinifera* L.) seedless cultivar 'Parvana' through lateral bud development // *Vitis*. 2015. Vol 54 (Special Issue). P. 253–255.
7. Дорошенко Н.П., Трошин Л.П., Алзубайди Х.К. Биотехнология – наука и отрасль сельского хозяйства // *Научный журнал КубГАУ*. 2016. №116(02). С. 1700–1732.
8. Самарская В.О., Малаева Е.В., Постнова М.В. Аспекты клонального микроразмножения и сохранения растений *in vitro* // *Природные системы и ресурсы*. 2019. Т. 9. № 3. С. 13–22.
9. Морфо-биологические особенности формирования диафрагмы у *in vitro* и *ex vivo* растений винограда межвидового происхождения / С. В. Акимова, В. В. Киркач, А. К. Раджабов и др. // *Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии*. 2021. № 6. С. 5–13.
10. Патент № 2743965 С1 Российская Федерация, МПК А01Н 4/00. Способ длительного депонирования *in vitro* растений малины ремонтантной: № 2020119115: заявл. 09.06.2020 : опубл. 01.03.2021 / В. В. Киркач, С. В. Акимова, Н. Н. Малеванная и др.; заявитель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева».
11. Патент № 2764104 С1 Российская Федерация, МПК А01Н 4/00. Способ формирования коллекции и длительного депонирования винограда *in vitro*: № 2021111285: заявл. 20.04.2021 : опубл. 13.01.2022 / Н. П. Дорошенко, В. Г. Пузырнова; заявитель Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный Ростовский аграрный научный центр».
12. Кутас Е. Н., Горецкая А. А. Влияние осмотических ингибиторов на снижение скорости роста и сохранение жизнеспособности стерильных культур // *Весті Національної Академії Наук України. Серія Біологічних Наук*. 2013. № 4. С. 24–29.
13. Дорошенко Н. П., Пузырнова В. Г. Влияние осмотика сорбит на ростовые процессы винограда в культуре *in vitro* // *Плодоводство и виноградарство Юга России*. 2020. № 64 (4). С. 190–209.

Сведения об авторах.

Пузырнова Валентина Георгиевна - младший научный сотрудник лаборатории контроля качества виноградо-винодельческой продукции; e-mail: ruswinebooks@yandex.ru
 Дорошенко Наталья Петровна - доктор сельскохозяйственных наук, главный научный сотрудник лаборатории биотехнологии винограда; e-mail: n.doroschenko2013@yandex.ru
 Всероссийский научно-исследовательский институт виноградарства и виноделия имени Я.И. Потапенко – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный Ростовский аграрный научный центр», Новочеркасск, Ростовская область, Россия.

Abstract. The paper is devoted to improving the elements of the technology of clonal micropropagation of Pukhlyakovsky grapevine variety in order to increase the efficiency of its content in the *in vitro* collection. The introduction of an osmotically active substance – sorbitol into the culture medium in the concentration range of 5-30 g/l in comparison with sucrose of 10 g/l was studied. The research was carried out in 2021-2022 on the collection of grapevine plants *in vitro* of the All-Russian Research Institute for Viticulture and Winemaking named after Ya.I. Potapenko in Novo-cherkassk (Rostov region). Cultivation was carried out in conditions of illumination of 3.0 thousand lux, temperature +25 °C, photoperiod of 16/8 hours, air humidity 60 %. Morphometric parameters of shoots were evaluated: the number and length of shoots, shoot height, number of leaves, inhibition of growth processes was noted in all experimental variants in comparison with the control. The maximum safety indicators were recorded in the variant with a sorbitol concentration of 10 g/l. The minimum safety was observed in the control (43.3 %) and the variant with the maximum sorbitol content – 30 g/l (36.7 %). The calculation of the economic efficiency of keeping plants in the collection *in vitro* on a medium with sucrose and sorbitol was carried out. Depositing on a medium with sorbitol is 17 % more economical due to an increase in the interval between subcultivations from 6 months to 12. The positive effect of the drug sorbitol on the safety and quality characteristics of plants was established, the maximum safety (86.7 %) and moderate inhibition of growth were recorded in the variant with a concentration of the drug 10 g/l. We consider this concentration to be optimal for use when depositing Pukhlyakovsky grape plants in the *in vitro* collection under conditions of slow growth.

Key words: grapevine (*Vitis*), biodiversity conservation, *in vitro* collection, clonal micro propagation, sorbitol.

*The work was carried out within the framework of the state task according to the thematic plan of research VNIIV-branch of the Federal State Budgetary Scientific Institution FRANZ No. FSMF-2019-0029 “Conserve, replenish the ampelographic collection *in situ*, *ex situ* and *in vitro* in order to study the traits that determine the economic value of the gene pool, including cultivar resistance to pests. Create an ampelographic database. To develop methods for the medium-term conservation of the collection *in vitro*”.

References

1. Cantizano J, Garcia de Lujan A, Arroyo-Garcia R. Molecular characterization of table grape varieties preserved in the Rancho de la Merced Grapevine Germplasm Bank (Spain). *Vitis*. 2018; Vol.57. 3. 93-101 p.
2. Maghradze D, Ocete R, Garcia JL. Micropropagation and *in vitro* germplasm conservation of Georgian wild grape-vines. *Vitis*. 2015; Vol.54 (Special Issue). 257-258 p.
3. Labagnara T, Bergamini C, Caputo AR. *Vitis vinifera* L. germplasm diversity: a genetic and ampelometric study in ancient vineyards in the South of Basilicata region (Italy). [Internet]. *Vitis*. 2018; Vol.57. 1. 1-8 p. [cited 2022, October 14]. Available from: <https://ojs.openagrar.de/index.php/VITIS/article/view/8358>.
4. Novikova TI. [The use of biotechnological approaches for the conservation of plant biodiversity]. *Rastitel'nyi mir Aziatskoi Rossii*. 2013; 2(12). 119-128 p.
5. Zdunic G, Maul E, Eiras Diasete JE. Guiding principles for identification, evaluation and conservation of *Vitis vinifera* L. sbsp. *sylvestris*. *Vitis*. 2017; Vol.56. 3. 127-131 p.
6. Melyan G, Sahakyan A, Harutyunyan A. Micropropagation of grapevine (*Vitis Vinifera* L.) seedless cultivar 'Parvana' through lateral bud development. *Vitis*. 2015; Vol.54 (Special Issue). 253-255 p.
7. Doroshenko NP, Troshin LP, Alzubaidi KhK. Biotechnology is a science and branch of agriculture *Biotechnologiya – nauka i otrasl' sel'skogo khozyaistva*. *Nauchnyi zhurnal KubGAU*. 2016; 116(02). 1700-1732 p.
8. Samarskaya VO, Malaeva EV, Postnova MV. [Aspects of clonal micropropagation and *in vitro* conservation of plants]. *Prirodnye sistemy i resursy*. 2019; Vol.9. 3. 13-22 p.
9. Akimova SV, Kirkach VV, Radzhabov AK. [Morpho-biological features of diaphragm formation in *in vitro* and *ex vitro* grape plants of interspecific origin]. *Izvestiya Timiryazevskoi sel'skokhozyaistvennoi akademii*. 2021; 6. 5-13 p.
10. Kirkach VV, Akimova SV, Malevannaya NN. Patent № 2743965 C1 Rossiiskaya Federatsiya, MPK A01H 4/00. [The method of long-term deposition *in vitro* of raspberry remontant plants]. № 2020119115: *zayavl.* 09.06.2020, *publ.* 01.03.2021. *Federal'noe gosudarstvennoe byudzhethoe obrazovatel'noe uchrezhdenie vysshego obrazovaniya “Rossiiskii gosudarstvennyi agrarnyi universitet – MSKha imeni K.A. Timiryazeva”*.
11. Doroshenko NP, Puzyrnova VG. Patent № 2764104 C1 Rossiiskaya Federatsiya, MPK A01H 4/00. [The method of forming a collection and long-term deposit of grapes *in vitro*]. № 2021111285: *zayavl.* 20.04.2021, *publ.* 13.01.2022. *Federal'noe gosudarstvennoe byudzhethoe nauchnoe uchrezhdenie “Federal'nyi Rostovskii agrarnyi nauchnyi tsentr”*.
12. Kutas EN, Goretzkaya AA. [The effect of osmotic inhibitors on reducing the growth rate and maintaining the viability of sterile cultures]. *Vesti Natsyonal'nai Akademii Navuk Belarusi. Seryya Biyalagichnykh Navuk*. 2013; 4. 24-29 p.
13. Doroshenko NP, Puzyrnova VG. [Influence of sorbitol osmotic agent on the growth processes of grapes in *in vitro* culture]. *Plodovodstvo i vinogradarstvo Yuga Rossii*. 2020; 64 (4). 190-209 p.

Authors:

Puzyrnova Valentina Georgievna - junior researcher of the Laboratory for quality control of grape and wine products; e-mail: ruswinebooks@yandex.ru

Doroshenko Natalya Petrovna - Doctor of Agricultural sciences, Chief Researcher of the Laboratory of Grape Biotechnology; e-mail: n.doroschenko2013@yandex.ru

All-Russian Research Institute of Viticulture and Winemaking named after Ya.I. Potapenko - branch of the Federal Rostov Agricultural Research Center, Novo-cherkassk, Rostov Region, Russia.