

УДК 634.8:631.532/.535

МОРФОГЕНЕЗ ВИНОГРАДА В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO*

Бугаенко Л.А.¹, Иванова-Ханина Л.В.²

¹Республиканское высшее учебное заведение «Крымский инженерно-педагогический университет», Симферополь, Украина

²Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины, Южный филиал «Крымский агротехнологический университет», Симферополь, Украина
E-mail: lidaiwanova-khanina@rambler.ru

Показано, что при подборе питательной среды для культивирования апикальных меристем следует учитывать не только влияние генотипа, но и специфику инициальных почек. Установлена оптимальная питательная среда для культивирования микропобегов винограда на этапе собственно микроразмножения, содержащая БАП (0,5 мг/л) и ГК (1,0 мг/л). Выявлена различная реакция исследуемых генотипов на концентрацию ИУК для стимуляции процесса ризогенеза. Установлена высокая эффективность абсорбента TERAWEТ при адаптации микрорастений винограда к условиям *in vivo*.

Ключевые слова: клональное микроразмножение, виноград, экспланты, культура апикальных меристем, питательная среда, микрочеренки.

ВВЕДЕНИЕ

Виноградарство является традиционной отраслью сельского хозяйства Крыма. Однако в последние годы в этой отрасли наблюдаются негативные тенденции: сокращаются площади, снижается продуктивность и сортовой состав насаждений. В значительной степени такая ситуация обусловлена тем, что питомниководческие хозяйства могут удовлетворить потребность в саженцах лишь на 20-25%, причем большая часть выращиваемых по традиционной технологии саженцев инфицирована вирусными и бактериальными заболеваниями [1, 2]. Использование такого посадочного материала способствует распространению патогенов и накоплению их на промышленных плантациях с каждым годом культивирования. В связи с этим становится актуальным вопрос о качестве саженцев, используемых для закладки плантаций винограда.

Некоторыми исследователями показано, что культивирование клонов, свободных от системных и хронических заболеваний, значительно повышает продуктивность винограда и его качество, долговечность насаждений и устойчивость их к неблагоприятным факторам среды [1, 3]. Для получения высококачественного посадочного материала необходимо выращивать только безвирусный и безбактериальный посадочный материал высоких селекционно-санитарных категорий. Приоритетным для получения оздоровленного посадочного материала является клональное микроразмножение в культуре *in vitro*. На сегодняшний день это наиболее перспективное направление в борьбе с системными и хроническими заболеваниями винограда. Этот метод характеризуется высоким

коэффициентом размножения (до $1:10^7$), что позволяет значительно ускорять селекционный процесс и внедрять новые сорта в производство.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследования служили растения винограда *Vitis vinifera* L. сортов Молдова, Сурученский белый, Шевченко, Каберне Совиньон и Фрумоасе албэ. В работе использовались традиционные биотехнологические методики, для введения использовали апикальные меристемы размером 0,2...1,0 мм с 1-2 листовыми примордиями, которые выделяли из пазушных (пасынковых и зимующих) почек винограда.

Для поверхностной стерилизации растительный материал обрабатывали 70 %-м этанолом (35 секунд) и 50 %-м брadoxеном (12 минут) и промывали в трех сменах автоклавированной воды по 10 минут в каждой. Культивирование меристем осуществляли на питательной среде Мурасиге и Скуга, содержащей 0,7 % агара, и дополненной регуляторами роста группы ауксинов, цитокининов и гиббереллинов в различных соотношениях. Условия культивирования: температура 24-26 °С, относительная влажность воздуха 60-70 %, 16-ти часовой фотопериод и освещенность 2-3 тыс. люкс. Для статистической обработки экспериментальных данных использовали пакет прикладных программ Excel 7.0 пакета прикладных программ Microsoft Office® для Microsoft Windows®.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В основу клонального микроразмножения растений в культуре *in vitro* положено регулирование морфогенеза подбором питательной среды для культивирования. Первый этап клонального микроразмножения – введение в культуру *in vitro* – один из важнейших для размножения растений и зависит от многих факторов. В первую очередь, это размер экспланта, соотношение гормонов в составе питательной среды и генотип. Через 60 суток после помещения апикальных меристем винограда на питательные среды с добавлением регуляторов роста получены следующие данные (табл. 1).

Анализ полученных данных показал, что для сорта Молдова оптимальной гормональной добавкой в среду для культивирования апикальных меристем из пасынковых почек является БАП и кинетин (по 1,0 мг/л), а апикальные меристемы из почек глазка характеризуются более высокими параметрами на аналогичной среде или при сочетании БАП, кинетина и ИУК (по 1 мг/л). Для культивирования апикальных меристем пасынковых почек сорта Сурученский белый оптимальными для процессов морфогенеза были несколько вариантов питательной среды: БАП (0,5-1,0 мг/л) и сочетание БАП и ГК (1,0 и 0,5 мг/л соответственно). При использовании в качестве инициалей почек глазка оптимальными для культивирования меристем были варианты среды с введением БАП и ГК (в указанной выше концентрации) и сочетанием БАП, кинетина и ИУК (по 1 мг/л).

Для сорта Шевченко оптимальным было сочетание БАП (2,0 мг/л) и ГК (0,5 мг/л), а для сорта Фрумоаса албэ – введение в среду БАП (1,0 мг/л) и ГК

МОРФОГЕНЕЗ ВИНОГРАДА В КУЛЬТУРЕ IN VITRO

(0,5 мг/л). Оптимальными для культивирования эксплантов сорта Каберне Совиньон были среды с добавлением БАП в концентрации 0,5 мг/л и сочетание БАП (1,0 мг/л) с ГК (0,5 мг/л).

Таблица 1.

Влияние гормонального состава питательной среды и типа инициальных почек на рост микрорастений винограда (60 суток культивирования)

Гормональные добавки в питательной среде	Концентрация гормонов, мг/л	Высота побегов, мм				
		Молдова	Сурученский белый	Шевченко	Фрумоаса албэ	Каберне Совиньон
пасынкoвая почка						
БАП	0,5	7,8±2,1	12,1±2,3	8,7±0,3	14,5±1,1	34,2±2,6
	1,0	11,8±1,4	12,1±2,0	9,2±0,6	16,2±0,8	32,7±1,8
	2,0	9,3±1,7	11,4±1,9	10,1±1,2	16,6±0,5	33,4±3,1
БАП ГК	1,0 0,5	10,5±2,0	12,2±1,8	13,2±1,3	18,3±0,6	33,7±1,9
БАП ГК	2,0 0,5	8,8±2,2	11,6±1,5	16,3±0,7	17,0±0,5	33,5±1,1
БАП кинeтин	1,0 1,0	14,1±1,7	11,2±0,8	11,4±1,3	15,1±1,6	16,4±2,1
БАП кинeтин ИУК	1,0 1,0 1,0	10,1±2,4	11,9±2,1	12,8±0,6	16,4±0,9	18,2±2,3
зимующая почка						
БАП	0,5	2,1±0,1	1,7±0,1	2,3±0,0	3,7±0,5	3,8±0,2
	1,0	1,8±0,1	2,0±0,4	2,0±0,2	4,4±0,3	3,1±0,4
	2,0	2,2±0,2	1,9±0,4	3,1±0,6	2,7±0,1	3,3±0,2
БАП ГК	1,0 0,5	2,8±0,3	3,4±0,1	3,4±0,3	5,1±0,2	3,6±0,3
БАП ГК	2,0 0,5	3,0±0,3	2,0±0,3	3,3±0,4	4,4±0,3	2,5±0,3
БАП кинeтин	1,0 1,0	3,4±0,2	2,6±0,2	2,9±0,2	2,6±0,2	2,4±0,2
БАП кинeтин ИУК	1,0 1,0 1,0	3,0±0,4	3,5±0,3	2,9±0,3	3,11±0,2	3,3±0,6

В процессе культивирования было отмечено, что высота побегов при использовании в качестве инициалей апикальных меристем пасынкoвых почек у всех исследуемых сортов значительно выше, чем при использовании апикальных меристем зимующей почки. Такое явление связано с генетической

предопределенностью – пасынковые почки в естественных условиях произрастания имеют более короткий период развития и характеризуются более интенсивным ростом. Также следует отметить следующую особенность использования апикальных меристем из различных типов почек винограда: при культивировании пасынковой почки происходило формирование преимущественно одного побега, тогда как при культивировании апикальных меристем зимующих почек отмечалось формирование дополнительных почек у основания побега, хотя на этапе введения развивался только один побег.

Таким образом, в результате исследований выявлено, что реакция на гормональный состав среды может быть различной не только в связи с сортовой специфичностью, но и обуславливаться использованием апикальных меристем из разных типов почек.

Для индукции роста дополнительных побегов и удлинения высоты побегов микрорастения пересаживали на питательную среду с повышенной концентрацией ГК, что способствовало получению хорошо развитых побегов винограда всех исследуемых сортов (рис.1).

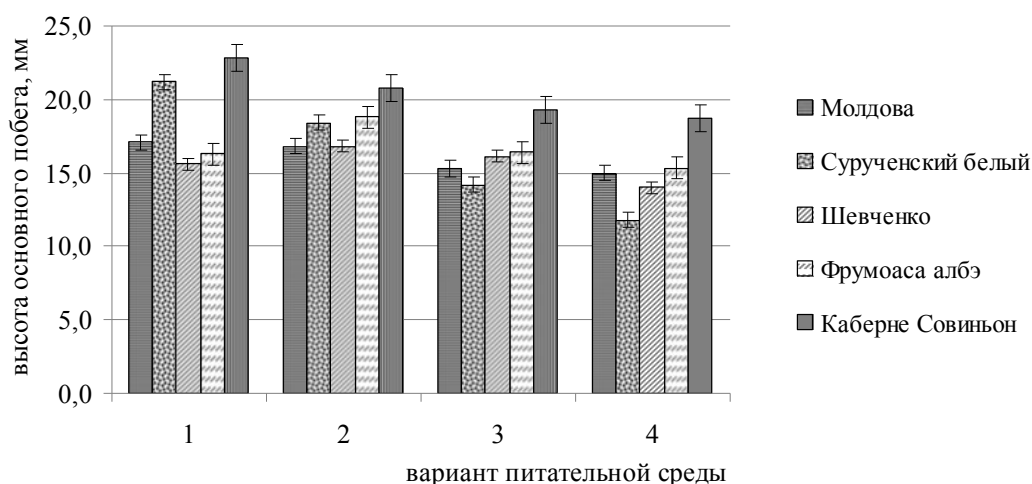


Рис. 1. Влияние гормонального состава питательной среды на развитие микрочеренков винограда на втором этапе клонального микроразмножения (30 сут. культивирования)

Состав гормонов, мг/л: 1 – БАП 0,1+ГК 1,0; 2 – БАП 0,5+ГК 1,0; 3 – БАП 1,0+ГК 1,0; 4 – БАП 2,0+ГК 1,0

Наиболее высокие биометрические показатели у микропобегов исследуемых сортов наблюдались на питательной среде с добавлением БАП (0,5 мг/л) и ГК (1,0 мг/л). Высота побегов варьировала в зависимости от генотипа от 11,6 до 23,8 мм, а количество – в пределах 1,3-2,8 шт. Повышение концентрации БАП до 2,0 мг/л приводит к некоторому утолщению стебля, снижению интенсивности роста основного побега, но способствует интенсивному образованию адвентивных

МОРФОГЕНЕЗ ВИНОГРАДА В КУЛЬТУРЕ IN VITRO

побегов у 15,0-32,8 % эксплантов. Основным недостатком сред с повышенной концентрацией БАП является формирование небольших по длине междоузлий, что затрудняет дальнейшее черенкование побегов.

Для определения максимального количества черенков (узлов), которое можно получить с одного микропобега винограда в течение одного цикла выращивания без смены питательной среды растения винограда культивировали на питательной среде, содержащей БАП 0,1 мг/л и ГК 1,0 мг/л. На рис. 2 представлена зависимость коэффициента размножения микропобегов исследуемых сортов винограда от длительности культивирования.

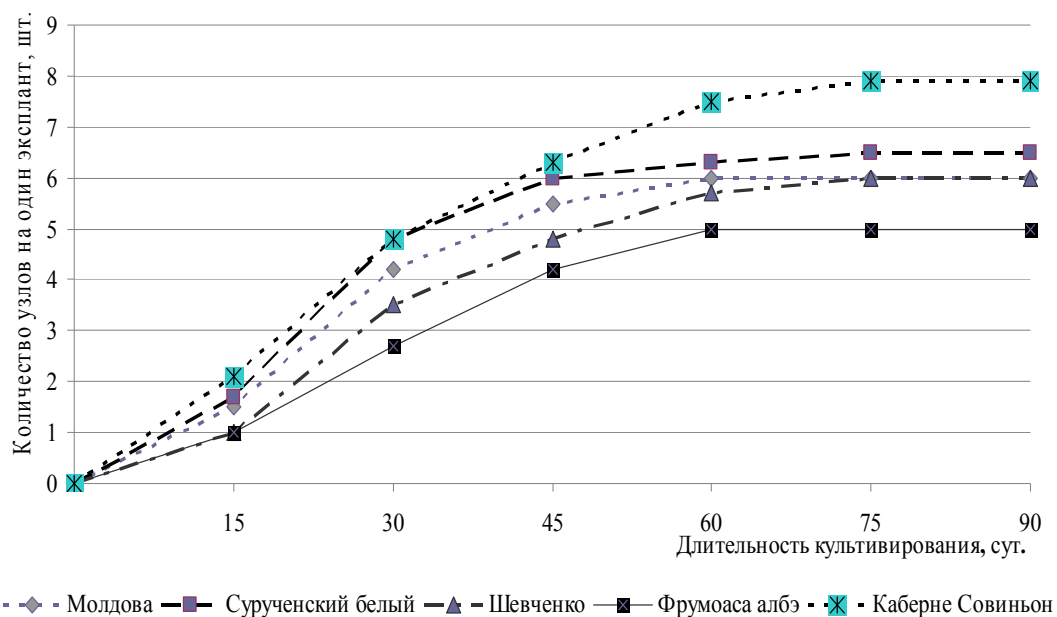


Рис. 2. Влияние длительности культивирования на интенсивность формирования узлов винограда

Полученные результаты показали, что в процессе культивирования *in vitro* у всех изучаемых сортов наблюдалось увеличение коэффициента размножения до определенного периода, в зависимости от сорта. У всех исследуемых сортов было отмечено интенсивное формирование узлов в первые 30 суток культивирования. В зависимости от сорта количество сформированных в этот период узлов составляло 2,7-4,8 шт., тогда как за первые 15 суток был этот показатель составил 1,0-2,1 шт. Максимальное значение показателей было характерно для сортов Каберне Совиньон и Сурученский белый, несколько ниже – у сорта Молдова (4,2 узла). Увеличение периода культивирования до 45 суток приводило к повышению числа узлов в 1,3-1,6 раза, а более длительное культивирование (до 60 суток) – всего в 1,1-1,2 раза. При этом происходило увеличение высоты микропобегов за счет удлинения междоузлий (до 5,6-7,3 мм), увеличение листовых пластинок,

уплотнение побега, но формирование новых узлов протекало медленно. Культивирование более 60 суток приводило к постепенному отмиранию нижних листьев у большинства исследуемых сортов винограда.

Таким образом, оптимальное соотношение длительности культивирования и количества сформированных узлов наблюдается через 30 суток культивирования – коэффициент размножения в зависимости от сорта составляет 2,7-4,8. Однако при культивировании исследуемых сортов винограда без смены питательной среды в течение 45 суток наблюдается удлинение междоузлий побегов, что облегчает дальнейшее микрочеренкование. Коэффициент размножения при этом несколько увеличивается и составляет 4,2-6,3.

Уровень стабильности регенерационных процессов эксплантов в культуре *in vitro* в течение нескольких циклов культивирования является одним из важнейших факторов, определяющих эффективность клонального микроразмножения. Возможность проведения ряда пассажей без изменения морфогенетических потенций экспланта позволяет получать значительное количество микроклонов из одной изолированной меристемы. С этой целью микрочеренки исследуемых нами сортов винограда культивировали на питательной среде до достижения оптимального коэффициента размножения (в течение 45 суток). Полученные микропобеги разделяли по числу сформированных узлов (4-6, в зависимости от сорта) и каждый узел переносили на свежую питательную среду того же состава.

Исследовались особенности развития микропобегов винограда в течение 7 пассажей, длительность каждого пассажа составляла 45 дней. В течение этого периода происходила пролиферация пазушных почек, интенсивный рост и развитие микропобега (рис. 3). Следует отметить, что ни в одном из вариантов не наблюдалось формирования адвентивных побегов, изредка (у 8-22 % эксплантов) у основания микрочеренка образовывался неморфогенный светло-коричневый рыхлый каллус, который удаляли при последующих субкультивированиях.

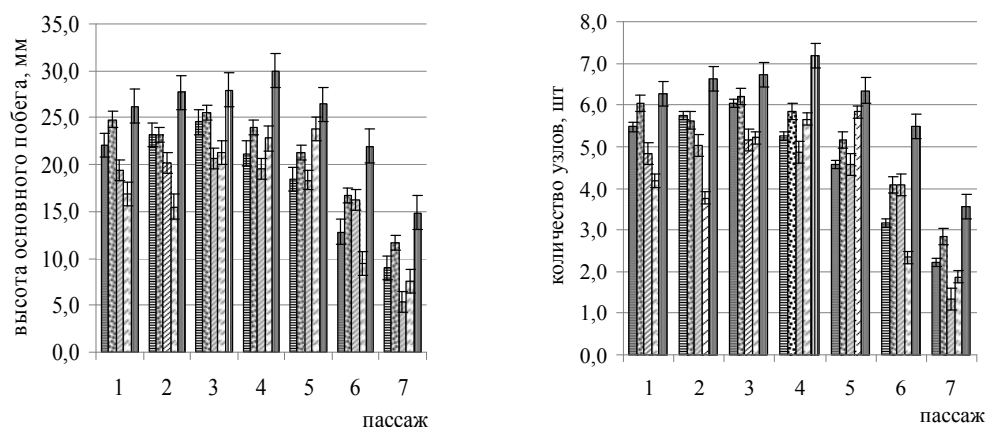


Рис. 3. Влияние количества пассажей на развитие побегов винограда *in vitro*
 ■ Молдова ■ Сурученский белый ■ Шевченко ■ Фрумоаса албэ ■ Каберне Совиньон

Анализ влияния количества пассажей на особенности развития микропобегов винограда показал, что наибольшей регенерационной способностью исследуемые сорта обладают в течение первого-четвертого пассажей, при дальнейшем культивировании высота побегов и количество сформированных узлов, а, следовательно, и коэффициент размножения, снижается. При этом полученные данные показали, что сорта Молдова, Сурученский белый и Каберне Совиньон в течение третьего-четвертого пассажей формируют интенсивно растущие побеги (до 30,0 мм) с максимальным количеством узлов (до 7,2 шт.). Несколько ниже показатели развития были у сортов Шевченко и Фрумоаса албэ. Следует отметить, что у сорта Фрумоаса албэ биометрические показатели возрастали с количеством пассажей, максимальное количество узлов формировалось в пятом пассаже (5,8 шт.) при высоте побегов $23,8 \pm 2,1$ мм. При дальнейшем субкультивировании интенсивность регенерационных процессов у всех исследуемых сортов значительно снижается, и, следовательно, последующие пассажи проводить не целесообразно.

На этапе укоренения микропобеги винограда высотой 10-12 мм с 2-3 узлами высаживали на обедненную питательную среду МС, содержащую половинное количество макро- и микросолей, полный набор витаминов и в качестве ауксина ИУК в различных концентрациях. В результате исследований отмечено, что уровень ризогенеза и биометрические показатели значительно варьировали в зависимости от генотипа и концентрации ИУК в питательной среде. Выявлено, что для исследуемых сортов оптимальная концентрация ИУК в питательной среде составляет 0,5-1,0 мг/л. У всех исследуемых сортов на данных вариантах питательной среды было отмечено интенсивное развитие побегов и боковых корней (табл. 2).

Частота ризогенеза была достаточно высокой и варьировала в зависимости от генотипа от 80 до 95 %. Уже на 15 день культивирования в этих вариантах отмечалось, в зависимости от генотипа, формирование в базальной части микрочеренка 1-3 корней длиной 3,8-6,8 мм.

Следует отметить, что в вариантах с низкой концентрацией ИУК (0,2 мг/л) у сортов Молдова, Сурученский белый и Фрумоаса албэ было отмечено отсутствие процессов ризогенеза в течение 15 суток культивирования. В дальнейшем происходило постепенное формирование корней и увеличение их длины, но процесс укоренения в этом варианте протекал медленнее, биометрические показатели были существенно ниже, чем при повышении концентрации ИУК.

В результате исследований установлено, что укоренение микрочеренков сорта Фрумоаса албэ наиболее интенсивно происходит при концентрации ИУК в среде 0,5 мг/л. В этом варианте отмечено формирование интенсивно растущего побега, имеющего 4-6 хорошо развитых корней длиной $32,7 \pm 0,8$ мм. При дальнейшем повышении концентрации ИУК в среде происходило ингибирование роста растений данного сорта, формировались утолщенные и укороченные корни. Также было отмечено, что культивирование микрочеренков сорта Сурученский белый и Каберне Совиньон на вариантах среды с концентрацией ИУК 0,5-1,0 мг/л способствовало формированию хорошо развитой корневой системы. Количество корней, сформированных у побегов этих сортов, в зависимости от варианта среды

составляло 5,1-5,7 шт. и 5,3-6,0 шт. длиной 38,1-38,4 мм и 36,4-37,6 мм соответственно, при этом между вариантами не было существенной разницы.

Таблица 2.
Влияние концентрации ИУК на развитие микрочеренков винограда на этапе укоренения *in vitro* (60 суток культивирования)

Концентрация ИУК, мг/л	Сорт	Прирост побегов, мм	Сформировано узлов, шт.	Количество корней, шт.	Длина корней, мм
0,2	Молдова	20,47±0,53	2,40±0,11	3,60±0,11	10,82±0,36
	Сурученский белый	22,16±0,63	2,70±0,13	3,10±0,12	8,63±0,39
	Шевченко	21,41±0,71	2,60±0,15	3,80±0,16	12,36±0,33
	Фрумоаса албэ	23,42±0,57	2,90±0,12	2,60±0,11	9,43±0,44
	Каберне Совиньон	28,27±0,98	3,70±0,15	4,20±0,19	13,08±0,47
0,5	Молдова	28,46±1,11	3,75±0,16	4,80±0,19	18,19±0,59
	Сурученский белый	38,11±1,38	5,35±0,23	5,25±0,20	38,12±0,95
	Шевченко	26,16±0,82	3,35±0,15	5,55±0,20	36,24±0,94
	Фрумоаса албэ	27,38±0,79	3,55±0,15	5,45±0,27	32,72±0,80
	Каберне Совиньон	38,94±0,81	5,50±0,15	5,60±0,30	36,16±1,02
1,0	Молдова	36,36±1,56	5,10±0,22	5,25±0,19	26,82±0,66
	Сурученский белый	38,29±1,19	5,40±0,15	5,50±0,18	38,43±0,58
	Шевченко	28,74±0,67	3,80±0,14	7,15±0,15	36,27±0,89
	Фрумоаса албэ	18,23±0,61	2,00±0,10	6,20±0,21	26,28±0,58
	Каберне Совиньон	39,20±0,97	5,45±0,14	5,70±0,25	37,58±0,57

Микрочеренки сорта Молдова и Шевченко характеризовались наиболее высокими биометрическими показателями на среде с добавлением 1,0 мг/л ИУК. У сорта Молдова в этом варианте за период культивирования отмечено формирование интенсивно растущего побега с 5,1±0,2 узлами, длиной прироста 36,4±1,6 мм, хорошо развитой корневой системой, состоящей из 5,3±0,2 шт. корней длиной 26,8±0,7 мм. У сорта Шевченко биометрические показатели составили, соответственно: 3,8±0,1 узлов, прирост – 28,7±0,7 мм; следует отметить, что количество корней в этом варианте было выше, чем у остальных исследуемых сортов и составляло 7,2±0,2 шт., длина корней – 36,3±0,9 мм. Таким образом, выявлено, что для укоренения микрочеренков сортов Фрумоаса албэ, Сурученский

МОРФОГЕНЕЗ ВИНОГРАДА В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO*

белый и Каберне Совиньон оптимальная концентрация ИУК составляет 0,5 мг/л, а для сортов Молдова и Шевченко – 1,0 мг/л.

Адаптация растений, полученных в культуре *in vitro* к условиям *in vivo*, является очень ответственным завершающим этапом микроразмножения растений.

Для адаптации отбирали микрорастения винограда с хорошо развитой корневой системой, высаживали в емкости объемом 200 мл со стерильным субстратом разного состава и помещали в вегетационный бокс. Наиболее высокая приживаемость (75-87,5 %) микрорастений винограда всех исследуемых сортов была отмечена на субстрате торф: песок: почва в соотношении 1:1:1. В наших исследованиях также для адаптации использовался абсорбент TERAWET (сополимер полиакриламида и полиакрилата калия) в концентрации 5 г/кг субстрата. Полученные данные свидетельствуют, что добавление TERAWET в субстрат для культивирования растений *in vivo* обеспечивает более высокий уровень приживаемости у всех исследуемых сортов (табл. 3).

Таблица 3.

Влияние абсорбента TERAWET на приживаемость меристемных растений винограда в условиях *in vivo*

Вариант		Приживаемость, %				
		Молдова	Сурученский белый	Шевченко	Фрумоаса албэ	Каберне Совиньон
1	Субстрат 1 (контроль)	87,5±5,0	85,0±2,5	83,7±4,6	75,0±2,5	75,0±5,0
2	Субстрат 1 (3 см верхний слой) + Субстрат 2 (5 см нижний слой)	95,0±0,0	100,0	97,5±2,5	95,0±3,3	100,0

Так, уровень приживаемости растений во втором варианте был максимальным и составил 95-100 %, максимальное значение приживаемости было характерно для сортов Сурученский белый и Каберне Совиньон (100 %). Анализ биометрических показателей показал, что растения, высаженные на субстрат с добавлением TERAWET, характеризовались несколько более высокими биометрическими показателями, но разница между вариантами была несущественной.

Таким образом, добавление абсорбента TERAWET способствовало повышению приживаемости винограда на этапе адаптации к условиям *in vivo* и не оказывало существенного влияния на показатели роста растений.

ВЫВОДЫ

1. При воздействии вибрации с УСД =150 дБ отмечается достоверное ($P < 0,05$) снижение альбуминов и повышение белковых фракций α - и γ -глобулинов в

- плазме крови экспериментальных животных, что тесно взаимосвязано с обменом аминокислот.
2. Установлено, что реакция на гормональный состав среды может быть различной не только в связи с сортовой специфичностью винограда, но и обуславливаться использованием апикальных меристем из разных типов почек.
 3. Показано, что оптимальной для культивирования микропобегов исследуемых сортов винограда на этапе собственно микроразмножения является питательная среда с БАП (0,5 мг/л) и ГК (1,0 мг/л).
 4. Выявлено, что для укоренения микрочеренков сортов Фрумоаса албэ, Сурученский белый и Каберне Совиньон оптимальная концентрация ИУК составляет 0,5 мг/л, а для сортов Молдова и Шевченко – 1,0 мг/л.

Список литературы

1. Скороход В.О. Промислова біотехнологія мікроклонального розмноження винограду в культурі «*in vitro*» / Скороход В.О. – Херсон: Айлант, 2000. – 327 с.
2. Власов В.В. Состояние и основные направления развития виноградарства и питомниководства Украины на период до 2020 года / В.В. Власов, А.Д. Лянной, Я.С. Спектор // Виноградарство и виноделие XXI столетия : материалы междунар. симпозиума – Одесса: Optimum, 2005. – С. 98–104.
3. Мулюкина Н.А. Вирусные болезни винограда и их влияние на виноградное растение / Н.А. Мулюкина // Виноградарство і виноробство. – 2004. – Вип. 41. – С. 45–53.

Бугаснко Л.О. Морфогенез винограду в культурі *in vitro* / Л.О. Бугаснко, Л.В. Иванова-Ханина // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2011. – Т. 24 (63), № 2. – С. 73-82.

Показано, що при доборі живильного середовища для культивування апікальних меристем слід не тільки враховувати вплив генотипу, а також і специфіку ініціальних бруньок. Встановлено оптимальне поживне середовище для культивування мікропагонів винограду, із вмістом БАП (0,5 мг/л) та ГК (1,0 мг/л). Виявлено різну реакцію дослідних генотипів до концентрації ІУК для стимулювання процесу різогенезу. Встановлено високу ефективність абсорбенту TERAWET при адаптації мікророслин винограду к умовам *in vivo*.

Ключові слова: клональне мікророзмноження, виноград, експланти, культура апікальних меристем, живильне середовище, мікроживці.

Bugaenko L. The grapevine morphogenesis of *in vitro* culture / L. Bugaenko, L. Ivanova-Khanina // Scientific Notes of Taurida V.I. Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2011. – Vol. 24 (63), No 2. – P. 73-82.

Shown the necessity to consider a genotype and features initial buds to choose a nutrient medium for apical meristems cultivation. The nutrient medium containing BAP (0,5 ml/l) and GA (1,0 ml/l) is the optimum for cultivation grapes microsprouts. Revealed that investigated genotypes have different reaction to concentration IAA for stimulation rhizogenesis. Established a high effectiveness of using the absorbent TERAWET for adaptation to *in vivo* conditions.

Keywords: clonal micropropagation, grapes, explants, culture of the apical meristems, a nutrient medium, micrografts.

Поступила в редакцію 16.05.2011 г.