

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

Краткое сообщение

УДК 634.8:581.177

DOI: 10.30901/2227-8834-2023-4-222-231



Микроклональное размножение элитных технических сортов винограда (*Vitis vinifera* L.)

А. Ю. Физикова

Научно-технологический университет «Сириус», Научный центр генетики и наук о жизни, Сочи, Россия

Автор, ответственный за переписку: Анастасия Юрьевна Физикова, Fizikova.AY@talantiuspeh.ru

Актуальность. Виноград – одна из наиболее экономически значимых культур. Объемы производства винограда в Российской Федерации ежегодно увеличиваются. Такие биологические особенности винограда, как длительный ювенильный период (5–8 лет), высокая степень гетерозиготности генома и часто встречаемое явление инбредной депрессии, когда гомозиготизация при скрещивании приводит к потере жизнеспособности и производственных характеристик сорта, делают вегетативное размножение основой размножения и промышленного выращивания винограда. Микроклональное размножение является основой омоложения и оздоровления современных виноградников. Разработка подходов микроклонального размножения элитных технических сортов винограда является актуальной задачей для современной индустрии виноделия.

Материалы и методы. Для работы были использованы технические сорта винограда ‘Мальбек’, ‘Мерло’, ‘Шардоне’ и ‘Рислинг’ полевой коллекции Всероссийского национального научно-исследовательского института виноградарства и виноделия «Магарах».

Результаты. В данной работе удалось подобрать универсальный, одноэтапный протокол для микроклонального размножения элитных технических сортов винограда, позволяющий получить растения, готовые к пересаживанию в грунт (*ex vitro*) через 1–2 месяца после черенкования.

Заключение. Использование разработанного в данной работе протокола микроклонального размножения технических сортов винограда уменьшит трудозатраты и сократит время для получения растения, готового к адаптации к открытому грунту, в 2–3 раза.

Ключевые слова: *in vitro*, универсальный протокол, ‘Мерло’, ‘Шардоне’, ‘Мальбек’, ‘Рислинг’

Благодарности: работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации Научно-технологическим университетом «Сириус» (проект GNZh-RD-2008).

Автор благодарит рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы.

Для цитирования: Физикова А.Ю. Микроклональное размножение элитных технических сортов винограда (*Vitis vinifera* L.). Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 2023;184(4):222–231. DOI: 10.30901/2227-8834-2023-4-222-231

BRIEF REPORTS

Brief report

DOI: 10.30901/2227-8834-2023-4-222-231

Microclonal propagation of elite industrial grape cultivars (*Vitis vinifera* L.)

A. Yu. Fizikova

*Sirius University of Science and Technology, Research Center of Genetics and Life Sciences, Sochi, Russia***Corresponding author:** Anastasia Yu. Fizikova, Fizikova.AY@talantiuspeh.ru

Background. The grape is one of the most economically significant berry crops: its cultivation area covers over 6.7 million hectares. Due to certain biological characteristics of grapes, such as a long juvenile period (5–8 years), a high degree of genomic heterozygosity, and the frequently encountered phenomenon of inbred depression, when homozygotization during hybridization leads to a loss of viability and production characteristics of the cultivar, vegetative propagation becomes the basis for grape reproduction and industrial cultivation. Microclonal propagation is the foundation for rejuvenation and revitalization of modern vineyards. Developing approaches for microclonal propagation of elite industrial grape cultivars remains a relevant task for the modern wine industry.

Materials and methods. The industrial grape cultivars ‘Malbec’, ‘Merlot’, ‘Chardonnay’, and ‘Riesling’ from the field collection of the All-Russian National Research Institute of Viticulture and Winemaking “Magarach” were used for the work.

Results. This research succeeded in devising a universal, one-stage protocol for the microclonal propagation of elite industrial grape cultivars, such as ‘Merlot’, ‘Chardonnay’, ‘Malbec’, and ‘Riesling’, making the production of plants ready for adaptation into the soil (*ex vitro*) within 1 month after rooting.

Conclusion. The use of the microclonal propagation protocol developed in this study for industrial grape cultivars will reduce labor costs and shorten the time required to obtain a plant ready for adaptation to open ground two to three times.

Keywords: medium, *in vitro*, universal protocol, ‘Merlot’, ‘Chardonnay’, ‘Malbec’, ‘Riesling’

Acknowledgements: the research was funded by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation, Sirius University of Science and Technology’s project (GNZh-RD-2008).

The author thanks the reviewers for their contribution to the peer review of this work.

For citation: Fizikova A.Yu. Microclonal propagation of elite industrial grape cultivars (*Vitis vinifera* L.). *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2023;184(4):222-231. DOI: 10.30901/2227-8834-2023-4-222-231

Введение

Виноград – это одна из самых древних культур растений, возделываемая человеком, по разным оценкам, от 6 до 8 тысяч лет. Первый описанный сорт 'Гуэ Блан' датируется 1283 г. Род *Vitis* L. (Vitaceae) включает 60 видов, культивируемых и произрастающих почти исключительно в Северном полушарии. Вид *Vitis vinifera* L. – это единственный вид рода, обитающий в Евразии, предположительно появившийся около 65 миллионов лет назад, став основой виноделия (Myles et al., 2011; This et al., 2006).

В ходе длительной селекции и отбора человечеству удалось получить около 12 000 сортов винограда, которые выращиваются для производства вина (около 60% сортов), употребляются в свежем виде (34% столовых и универсальных сортов), высушиваются с получением изюма (0,7%) и выращиваются для подвоев (8,2%) (McGovern, 2009; Munir et al., 2005). Неудивительно, что виноград стал одной из экономически важных сельскохозяйственных культур: площадь его возделывания составляет более 6,7 млн га (<https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>). Объемы производства винограда в Российской Федерации ежегодно увеличиваются в течение последних 10 лет (Usenko, Udalova, 2018).

Ввиду таких биологических особенностей винограда, как длительный ювенильный период (5–8 лет), высокая степень гетерозиготности генома и часто встречаемое явление инбредной депрессии, когда гомозиготизация при скрещивании приводит к потере жизнеспособности и производственных характеристик сорта, вегетативное размножение становится основой размножения и промышленного выращивания винограда (Laimer, 2007; Pierozzi, Moura, 2016; Migicovsky et al., 2017; Töpfer, Trapp, 2022).

Традиционный метод вегетативного размножения винограда требует много времени и сил, а также не позволяет полностью очистить черенки от болезней (Ng et al., 1992). Культура *in vitro* имеет много преимуществ по сравнению с традиционными методами: микроразмножение может обеспечить массовое производство элитного сорта/генотипа, который можно акклиматизировать за короткий период с относительно низкой стоимостью (Rathore et al., 2004). Микроразмножение виноградной лозы осуществляется культивированием микрочеренков, верхушечных меристем побегов, пазушных или адвентивных почек (Heloir et al., 1997; Thomas, 2000; Aazami, 2010; Anura et al., 2016). Различные виды и сорта винограда по-разному реагируют на условия культивирования (Anura et al., 2016). Так, для некоторых сортов показано явление некроза верхушки черенка в культуре *in vitro*, что связывают с различными факторами; например, для сорта 'Arka Neelamani' это явление объясняют избыточностью укоренения и формирования большого количества пазушных почек (Thomas, 2000). Стабилизировать ситуацию с одним верхушечным некрозом растений *in vitro* на разных сортах удавалось по-разному: одним сортам было достаточно более частого пассирования и проветривания, другим нужны были дополнительные источники фосфора, третьим – оптимизация соотношений концентрации кальция, бора и фосфатов (Al-Aizari et al., 2020).

В подавляющем большинстве промышленных виноградников выращивают ограниченный перечень сортов, так как они характеризуются уникальным танинным составом, характерной кислотностью и букетом, которые невозможно достичь, выращивая гибридные сорта

(<http://www.josevouillamoz.com>). Основой технического виноградарства и зрелого виноделия во всем мире являются 11 сортов винограда, так называемые «нобелевские» сорта: 'Cabernet Sauvignon', 'Chasselas', 'Chardonnay', 'Grenache', 'Merlot', 'Monastrell', 'Pinot Noir', 'Riesling', 'Sauvignon Blanc', 'Syrah' и 'Ugni Blanc' (Cohen et al., 2023).

Большинство публикаций по подбору оптимальных сред для микроразножания сортов и гибридов вне «нобелевского» списка (Dalla Costa et al., 2019). Хотя создание методики микроразножания именно элитных технических сортов представляет наибольший интерес для омоложения и оздоровления виноградников с сохранением генотипов наиболее ценных технических сортов винограда.

Материалы и методы

Растительные материалы

Для работы были использованы технические сорта винограда 'Мальбек', 'Мерло', 'Шардоне' и 'Рислинг' полевой коллекции Всероссийского национального научно-исследовательского института виноградарства и виноделия «Магарах» РАН.

Культуральные среды

Для подбора оптимальной культуральной среды для размножения культур винограда *in vitro* использовали пять сред, использованных в работе представлены в таблице 1.

Деконтаминация

Для стерилизации эксплантов и введения их в культуру *in vitro* использовали 10-процентный раствор гидрохлорида полигексаметиленгуанидина. Стерилизацию проводили в течение 20 минут в пробирках Falcon при осторожном вращении со скоростью 100 об/мин. После стерилизации экспланты несколько раз промывали стерильной дистиллированной водой, сушили на стерильной фильтровальной бумаге, а затем высаживали на среды для культивирования.

Культивирование

Культивирование растений проводили в климатических камерах при температуре 25°C со световым режимом 16 часов света (интенсивность 60–74 мкмоль м⁻² с⁻¹ [4500–5000 Люкс]) и 8 часов темноты.

Результаты

Для подбора оптимальной методики введения культуры *in vitro* и культивирования сортов винограда из «нобелевского» перечня нами были взяты в работу технические сорта 'Мальбек', 'Мерло', 'Шардоне' и 'Рислинг'.

Для сравнения интенсивности роста и развития растений элитных технических сортов на разных средах было проведено черенкование верхушечных почек сортов 'Мерло' и 'Шардоне' на среды: 1м) 1/2MS 0,5 мг/л BAP (рекомендованная среда для инициации культуры *in vitro* по официальным рекомендациям компании Plantcelltechnology, одного из мировых лидеров продукции для микроразножания); 2м) 1/2 MS 0.5 мг/л BAP, 0.1 мг/л IBA (среда, рекомендованная Plantcelltechnology для роста и деления черенков винограда); 3м) MS 4 мг/л IAA (среда, рекомендованная Plantcelltechnology для укоренения); 4м) среда для черенкования по патенту 2636030; 5) среда PRM. Каждого сорта брали по 2-3 черенка на один тип среды. Результаты оценивали через 2 и 3 недели культивирования (рис. 1, 2).

Таблица 1. Состав питательных сред
Table 1. Composition of nutrient media

Компоненты Components	PRM	1m	2m	3m	p2636030
Микроэлементы, мг/л / Microelements, mg/l					
CuSO ₄ 5H ₂ O	0,25	0,0125	0,0125	0,025	0,025
H ₃ BO ₃	6,2	3,1	3,1	6,2	6,2
MnSO ₄ H ₂ O	22,3	8,45	8,45	16,9	16,9
Na ₂ MoO ₄ 2H ₂ O	0,25	0,125	0,125	0,25	0,25
ZnSO ₄ 7H ₂ O	8,6	4,3	4,3	8,6	8,6
CoCl ₂ 6H ₂ O	–	0.0125	0.0125	0,025	0,025
KI	–	0,415	0,415	0,83	0,83
Макроэлементы, мг/л / Macroelements, mg/l					
CaCl ₂ 2H ₂ O	96	220	220	440	66,22
Ca(NO ₃) ₂ · 4H ₂ O	471,26	–	–	–	450
KH ₂ PO ₄	170	85	85	170	100
K ₂ SO ₄	990	–	–	–	–
MgSO ₄	180,54	90,27	90,27	180,54	200
FeSO ₄ 7H ₂ O	27,8	13,9	13,9	27,8	27,8
NaЭДТА 2H ₂ O	37,26	18,63	18,63	37,26	37,26
NH ₄ NO ₃	400	825	825	1650	150
KNO ₃	–	950	950	1900	750
Витамины, мг/л / Vitamins, mg/l					
Никотиновая кислота / Nicotinic acid	0,5	0,5	0,5	0,5	–
Пиридоксин HCl / Pyridoxine HCl	0,5	0,5	0,5	0,5	0,2
Тиамин HCl / Thiamine HCl	1	0,1	0,1	0,1	0,5
Аскорбиновая кислота / Vitamin C	200	–	–	–	–
Углеводы, % / Carbohydrates, %					
Сахароза / Sucrose	3	3	3	3	3

Таблица 1. Окончание

Table 1. The end

Компоненты Components	PRM	1m	2m	3m	p2636030
Гормоны, мг/л / Hormones, mg/l					
Альфа-нафтилуксусная кислота / Alpha naphthylacetic acid	0,2	–	–	–	–
Индол-3-масляная кислота / Indole-3-butyric acid	–	–	0,1	–	0,2
Индолилуксусная кислота / Indolylacetic acid	–	–	–	4	–
6-бензиламинопурин / 6-benzylaminopurine	0,2	0,5	0,5	–	–
Другие компоненты, мг/л / Other components, mg/l					
Глицин / glycine	2	2	2	2	–
Уголь / Activated Coal	2000	–	–	–	–
Мио-инозитол / Myo-inositol	100	100	100	100	50
Агар, %	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6
pH	5,75	5,6–5,8	5,6–5,8	5,6–5,8	5,6–5,8

Как видно на фотографиях на примере двух сортов винограда 'Мерло' и 'Шардоне', уже через две недели развития на стандартных средах черенки накопили антоцианы, на некоторых листьях появился хлороз и отмирание верхней части побегов, при этом только на одной питательной среде (2m) появился каллус на части побега, погруженной в питательную среду; на остальных питательных средах ни каллуса, ни листьев, ни корней не образовывалось (рис. 1).

На среде PRM уже через две недели после культивирования выросли корни и листья, в отличие от других использованных сред (рис. 2).

Через 1–1,5 месяца культивирования на одной среде PRM без переноса на свежие среды происходило активное укоренение, удлинение побега и наращивание листьев, растения достигали высоты 13 ± 1 см (рис. 3).

После укоренения черенки на среде PRM начинают интенсивно расти (рис. 4). На рисунке видны отличия в росте и развитии черенков сорта 'Мальбек', высаженных в одно и то же время на разные среды; также приведена фотография подросшего 2-месячного растения. Полученные результаты обобщены в таблице 2.

Обсуждение результатов

Создание методики микроклонального размножения элитных, наиболее капризных в культуре технических сортов винограда «нобелевского» списка явилось неожиданным результатом, полученным через два

года поисков оптимальных подходов для микроклонального размножения, основываясь на литературных данных (Torregrosa et al., 2015; Malnoy et al., 2016; Nishitani et al., 2016; Ren et al., 2021). По истечении двух лет выживших растений оставалось очень мало и была апробирована среда PRM (Perl et al., 2004). С использованием данной питательной среды удалось получить здоровые растения *in vitro* и *ex vitro* из листовых почек винограда сортов 'Мальбек', 'Шардоне', 'Рислинг' и 'Мерло'. При использовании питательной среды удалось размножить коллекцию от четырех до 200–300 растений за пять месяцев. В результате проделанной работы вся коллекция растений как технических, так и столовых сортов винограда размножается с использованием только среды PRM, которая на более поздних этапах работы используется нами как регенерационная среда и среда для укоренения регенерантов.

При использовании нашего протокола выращивания с применением единой для всех этапов среды растения можно через месяц уже акклиматизировать, корни на черенках формируются с разной интенсивностью уже через две недели, поэтому растения растут значительно быстрее. Использование одной среды для всех этапов и возможность осуществления редких переносов (один раз в 1–2 месяца) облегчает работу и планирование затрат в промышленном и лабораторном масштабах, а также ускоряет микроклональное размножение элитных сортов технического винограда.



Рис. 1. Сравнение сред для микроклонального размножения винограда:

А – черенки винограда сорта ‘Мерло’ на среде 3м; **В** – черенки винограда сорта ‘Мерло’ через 2 недели инкубации на среде 3м; **С** – черенки винограда сорта ‘Мерло’ через 3 недели инкубации на среде 3м; **Д** – черенки винограда сорта ‘Мерло’ через 3 недели инкубации на среде 1м; **Е** – черенки винограда сорта ‘Мерло’ через 3 недели инкубации на среде 2м; **Ф** – черенки винограда сорта ‘Мерло’ через 2 недели инкубации на среде 4м; **Г** – черенки винограда сорта ‘Шардоне’ на среде 3м; **Н** – черенки винограда сорта ‘Шардоне’ через 2 недели инкубации на среде 3м; **И** – черенки винограда сорта ‘Шардоне’ через 3 недели инкубации на среде 3м; **Ж** – черенки винограда сорта ‘Шардоне’ через 2 недели инкубации на среде 1м; **К** – черенки винограда сорта ‘Шардоне’ через 3 недели инкубации на среде 2м; **Л** – черенки винограда сорта ‘Шардоне’ через 2 недели инкубации на среде 4м

Fig. 1. Comparison of media for microclonal propagation of grapes: **A** – grape cuttings of cv. ‘Merlot’ on the 3m medium; **B** – grape cuttings of cv. ‘Merlot’ after 2 weeks of incubation on the 3m medium; **C** – grape cuttings of cv. ‘Merlot’ after 3 weeks of incubation on the 3m medium; **D** – grape cuttings of cv. ‘Merlot’ after 3 weeks of incubation on the 1m medium; **E** – grape cuttings of cv. ‘Merlot’ after 3 weeks of incubation on the 2m medium; **F** – grape cuttings of cv. ‘Merlot’ after 2 weeks of incubation on the 4m medium; **G** – grape cuttings of cv. ‘Chardonnay’ on the 3m medium; **H** – grape cuttings of cv. ‘Chardonnay’ after 2 weeks of incubation on the 3m medium; **I** – grape cuttings of cv. ‘Chardonnay’ after 3 weeks of incubation on the 3m medium; **J** – grape cuttings of cv. ‘Chardonnay’ after 2 weeks of incubation on the 1m medium; **K** – grape cuttings of cv. ‘Chardonnay’ after 3 weeks of incubation on the 2m medium; **L** – grape cuttings of cv. ‘Chardonnay’ after 2 weeks of incubation on the 4m medium

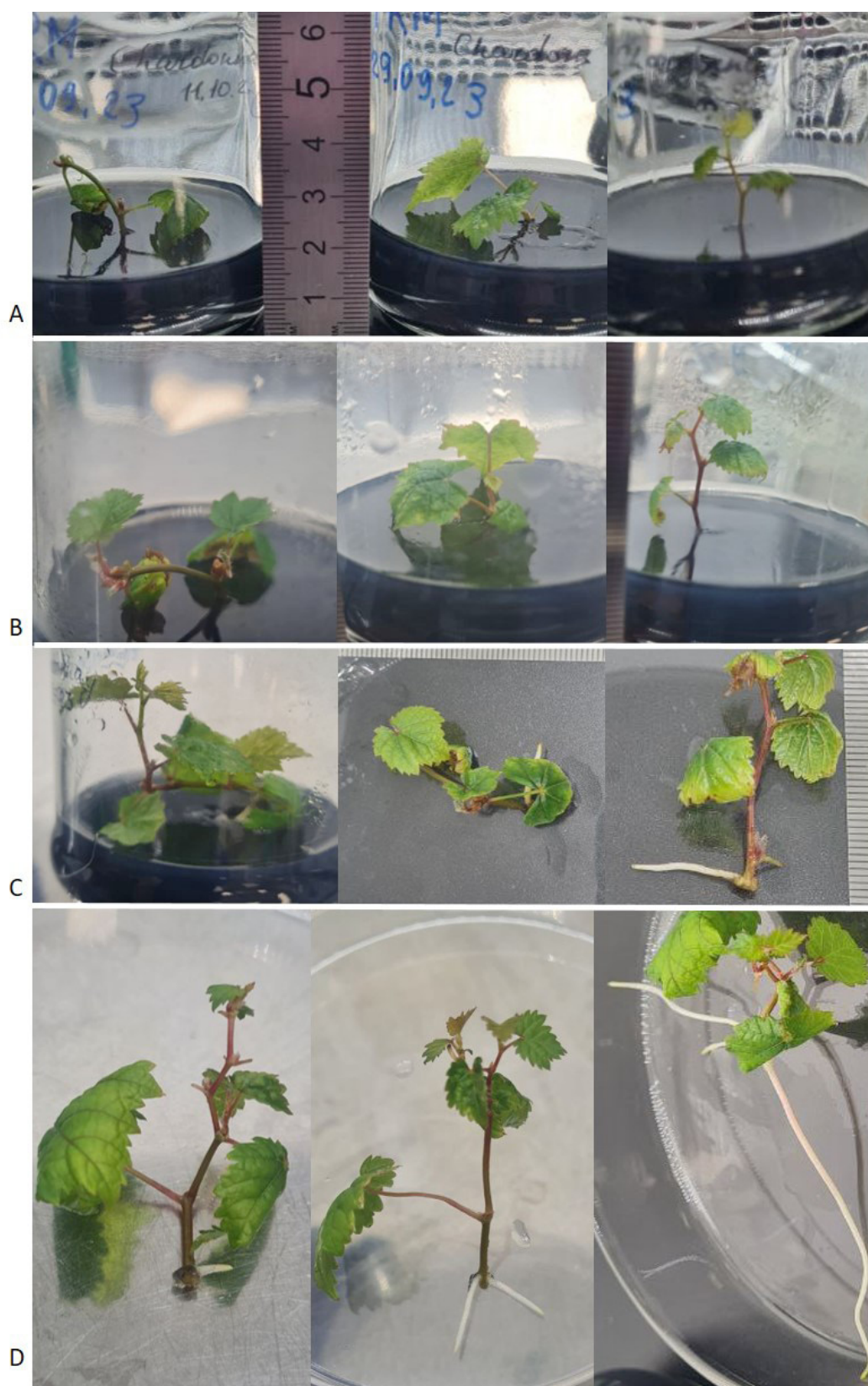


Рис. 2. Образование корней и листьев винограда на среде PRM: А – черенки винограда сорта 'Шардоне' на среде PRM; В – черенки винограда сорта 'Шардоне' через 2 недели инкубации на среде PRM; С – черенки винограда сорта 'Шардоне' через 3 недели инкубации на среде PRM; D – черенки винограда сорта 'Мерло' через 2-3 недели инкубации на среде PRM

Fig. 2. Formation of grape roots and leaves on the PRM medium: A – grape cuttings of cv. 'Chardonnay' on the PRM medium after 1 week; B – grape cuttings of cv. 'Chardonnay' after 2 weeks of incubation on the PRM medium; C – grape cuttings of cv. 'Chardonnay' after 3 weeks of incubation on the PRM medium; D – grape cuttings of cv. 'Merlot' after 2-3 weeks of incubation on the PRM medium



Рис. 3. Виноград 'Мальбек', 'Шардоне', 'Мерло' и 'Рислинг' через 1-2 месяца после черенкования на среде PRM без промежуточных переносов на другие/свежие среды: **А** – виноград сортов 'Мерло', 'Шардоне' и 'Рислинг' через 2 месяца инкубации на среде PRM; **В** – черенки винограда сорта 'Мальбек' через полтора месяца инкубации на среде 4m; **С** – виноград сорта 'Мальбек' через полтора месяца инкубации на среде PRM; **Д** – виноград сорта 'Мальбек' через два месяца инкубации на среде PRM

Fig. 3. 'Malbec', 'Chardonnay', 'Merlot' and 'Riesling' grapes 1-2 months after planting the stalks on the PRM medium without intermediate transfers to other/fresh media: **A** – *in vitro* grape sprouts of cvs. 'Merlot', 'Chardonnay' and 'Riesling' after 2 months of incubation on the PRM medium; **B** – grape cuttings of cv. 'Malbec' after 1.5 months of incubation on the 4m medium; **C** – grape cuttings of cv. 'Malbec' after 1.5 months of incubation on the PRM medium; **D** – grape cuttings of cv. 'Malbec' after 2 months of incubation on the PRM medium

Таблица 2. Сравнение фенотипа черенков винограда, культивированных на разных средах

Table 2. Comparison of the phenotype of grape cuttings cultivated on different media

Среда / Media	Фенотип через 2 недели культивирования / Phenotype after 2 weeks of cultivation				
	Отмирание листовых почек / Drying out of leaf buds	Хлороз листьев / Leaf chlorosis	Накопление антоцианов / Anthocyanin accumulation	Новые листья / New leaves	Укоренение / Rooting
1m	–	+	+	–	–
2m	+	–	+	–	– (каллус)
3m	+	–	+	–	–
4m	–	–	+	–	– (каллус)
PRM	–	–	–	+	+

References / Литература

- Aazami M.A. Effect of some growth regulators on “in vitro” culture of two *Vitis vinifera* L. cultivars. *Romanian Biotechnological Letters*. 2010;15:5229-5232.
- Al-Aizari A.A., Al-Obeed R.S., Mohamed M.A.H. Improving micropropagation of some grape cultivars via boron, calcium and phosphate. *Electronic Journal of Biotechnology*. 2020;48:95-100. DOI: 10.1016/j.ejbt.2020.10.001
- Anupa N.T., Sahijram L., Samarth R., Rao B.M. *In vitro* shoot induction of three grape (*Vitis vinifera* L.) varieties using nodal and axillary explants. *The BioScan*. 2016;11(1):201-204.
- Cohen P., Bacilieri R., Ramos-Madriral J., Privman E., Boaretto E., Weber A. et al. Ancient DNA from a lost Negev Highlands desert grape reveals a Late Antiquity wine lineage. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2023;120(17): e2213563120. DOI: 10.1073/pnas.2213563120
- Dalla Costa L., Malnoy M., Lecourieux D., Deluc L., Ouaked-Lecourieux F., Thomas M.R. et al. The state-of-the-art of grapevine biotechnology and new breeding technologies (NBTS). *OENO One*. 2019;53(2):189-212. DOI: 10.20870/oeno-one.2019.53.2.2405
- FAOSTAT. Food and Agriculture Organization of the United Nations: [website]. Available from: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL> [accessed Oct. 01, 2023].
- Heloir M.C., Fournioux J.C., Oziol L., Bessis R. An improved procedure for the propagation *in vitro* of grapevine (*Vitis vinifera* cv. Pinot noir) using axillary-bud microcuttings. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 1997;49:223-225. DOI: 10.1023/A:1005867908942
- JoseVouillamoz.com: [website]. Available from: <http://www.josevouillamoz.com> [accessed Sept. 19, 2023].
- Laimer M. Transgenic grapevines. *Transgenic Plant Journal*. 2007;1(1):219-227.
- Malnoy M., Viola R., Jung M.H., Koo O.J., Kim S., Kim J.S. et al. DNA-Free genetically edited grapevine and apple protoplast using CRISPR/Cas9 ribonucleoproteins. *Frontiers in Plant Science*. 2016;7:1904. DOI: 10.3389/fpls.2016.01904
- Massonnet M., Cochetel N., Minio A., Vondras A.M., Lin J., Muyle A. et al. The genetic basis of sex determination in grapes. *Nature Communications*. 2020;11(1):2902. DOI: 10.1038/s41467-020-16700-z
- McGovern P.E. Ancient Wine: The Search for the Origins of Viniculture. Princeton, NJ: Princeton University Press; 2003. DOI: 10.1515/9781400849536.1
- Migicovsky Z., Sawler J., Gardner K.M., Aradhya M.K., Prins B.H., Schwaninger H.R. et al. Patterns of genomic and phenomic diversity in wine and table grapes. *Horticulture Research*. 2017;4:17035. DOI: 10.1038/hortres.2017.35
- Munir I., Yen H.W., Baruth T., Tarkowski R., Azziz R., Magoffin D.A. et al. Resistin stimulation of 17 α -hydroxylase activity in ovarian theca cells *in vitro*: relevance to polycystic ovary syndrome. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2005;90(8):4852-4857. DOI: 10.1210/jc.2004-2152
- Myles S., Boyko A.R., Owens C.L., Brown P.J., Grassi F., Aradhya M.K. et al. Genetic structure and domestication history of the grape. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2011;108(9):3530-3535. DOI: 10.1073/pnas.1009363108
- Ng S.Y.C., Thottappilly G., Rossel H.W. Tissue Culture in disease elimination and micropropagation. In: G. Thottappilly, L.M. Monti, D. Mohan-Raj, A.W. Moore (eds). *Biotechnology: Enhancing Research on Tropical Crops in Africa*. Ibadan: CTA/IITA; 1992. p.171-182.
- Nishitani C., Hirai N., Komori S., Wada M., Okada K., Osakabe K. et al. Efficient genome editing in apple using a CRISPR/Cas9 system. *Scientific Reports*. 2016;6(1):31481. DOI: 10.1038/srep31481
- Perl A., Colova-Tsolova V., Eshdat Y. *Agrobacterium*-mediated transformation of grape embryogenic calli. In: I.S. Curtis (ed.). *Transgenic Crops of the World*. Dordrecht: Springer; 2004. p.229-242. DOI: 10.1007/978-1-4020-2333-0_17
- Pierozzi N., Moura M. Karyotype analysis in grapevines. *Revista Brasileira de Fruticultura*. 2016;38(1):213-221. DOI: 10.1590/0100-2945-280/14
- Rathore J.S., Rathore V., Shekhawat N.S., Singh R.P., Liler G., Phulwaria M. et al. Micropropagation of woody plants. In: P.S. Srivastava, A. Narula, S. Srivastava (eds). *Plant Biotechnology and Molecular Markers*. Dordrecht: Springer; 2004. p.195-205. DOI: 10.1007/1-4020-3213-7_13
- Ren C., Liu Y., Guo Y., Duan W., Fan P., Li S. et al. Optimizing the CRISPR/Cas9 system for genome editing in grape by using grape promoters. *Horticulture Research*. 2021;8(1):52. DOI: 10.1038/s41438-021-00489-z
- This P., Lacombe T., Thomas M.R. Historical origins and genetic diversity of wine grapes. *Trends in Genetics*. 2006;22(9):511-519. DOI: 10.1016/j.tig.2006.07.008
- Thomas P. Microcutting leaf area, weight and position on the stock shoot influence root vigour, shoot growth and incidence of shoot tip necrosis in grape plantlets *in vitro*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 2000;61(3):189-198. DOI: 10.1023/A:1006425807853
- Töpfer R., Trapp O. A cool climate perspective on grapevine breeding: climate change and sustainability are driving forces for changing varieties in a traditional market. *Theoretical and Applied Genetics*. 2022;135(2):3947-3960. DOI: 10.1007/s00122-022-04077-0
- Torregrosa L., Violet S., Adivèze A., Iocco-Corena P., Thomas M.R. Grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Methods in Molecular Biology*. 2015;1224:177-194. DOI: 10.1007/978-1-4939-1658-0_15
- Usenko L.N., Udalova Z.V. Analysis of the state of wine-making subcomplex of Russia. *Accounting and Statistics*. 2018;1(49):22-31. [in Russian] (Усенко Л.Н., Удалова З.В. Анализ состояния виноградовинодельческого подкомплекса АПК России. *Учет и статистика*. 2018;1(49):22-31).

Информация об авторе

Анастасия Юрьевна Физикова, кандидат биологических наук, научный сотрудник, Научно-технологический университет «Сириус», Научный центр генетики и наук о жизни, 354340 Россия, Краснодарский край, Сочи, федеральная территория «Сириус», пгт. Сириус, Олимпийский пр., 1, Fizikova.AY@talantiuspeh.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3568-9296>

Information about the author

Anastasia Yu. Fizikova, Cand. Sci. (Biology), Researcher, Sirius University of Science and Technology, Research Center of Genetics and Life Sciences, 1 Olimpiysky Ave., Sirius Settle., Sirius Federal Territory, Sochi, Krasnodar Territory 354340, Russia, Fizikova.AY@talantiuspeh.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3568-9296>

Статья поступила в редакцию 03.10.2023; одобрена после рецензирования 30.11.2023; принята к публикации 05.12.2023.
The article was submitted on 03.10.2023; approved after reviewing on 30.11.2023; accepted for publication on 05.12.2023.