

How to cite: Zelenianska, N., & Riabyi, M. (2024). Determination of the regeneration potential of grape apical meristems grape *in vitro*. *International Conference on Science, Innovations and Global Solutions*. (pp. 310-313). Futurity Research Publishing. <https://futuraity-publishing.com/international-conference-on-science-innovations-and-global-solutions-archive/>

Determination of the regeneration potential of grape apical meristems grape *in vitro*

Зеленянська Наталя Миколаївна¹, Рябий Микола Ігорович²

¹доктор сільськогосподарських наук, старший науковий співробітник, заступник директора з науково-інноваційної діяльності Національного наукового центру «Інститут виноградарства і виноробства імені В. Є. Таїрова» НААН, м. Одеса, Україна, natalyanikolaevna2019@ukr.net, <https://orcid.org/0000-0002-9303-8686>

²аспірант Національного наукового центру «Інститут виноградарства і виноробства імені В. Є. Таїрова» НААН, м. Одеса, Україна, ryaby.nikolay@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0003-6608-135X>

Accepted: July 19, 2024 | **Published:** July 29, 2024 | **Language:** Ukrainian

Abstract: One of the ways to improve plants is the method of apical meristem. Using this method it is important to obtain morphogenically active explants. The aim of this work was to determine the optimal size of grape apical meristems *in vitro* for obtaining viable regenerated plants. *In vitro* tissue and organ culture, apical meristems of the following sizes were introduced 0.2 - 1.0 mm. Apical meristems of 0.5 - 1.0 mm provided *in vitro* survival at the level of 50-55%, further formation and active development of regenerated plants.

Keywords: initial explants, viability, nutrient medium, microshoots.

Вступ

Багато хвороб, таких як вірусні, фітоплазмові, грибні та бактеріальні уражають виноградну рослину і наносять значний збиток врожаю, тривалості життя, продуктивності виноградних насаджень. Природно-кліматичні умови півдня України сприятливі для адаптації збудників хвороб, тому й імовірність розповсюдження їх дуже висока. А виробництво сертифікованого садивного матеріалу винограду передбачає відсутність вищевказаних хвороб, як у лозі (підщепній, прищепній), так і саджанцях винограду (Гадзало та ін., 2015). Одним із способів отримання рослин, вільних від вірусних, мікоплазмових захворювань та бактеріального раку є метод культури апікальних меристем (Medzihradszky et al., 2019). Використання цього методу для оздоровлення рослин засновано на тому принципі, що у напрямку до верхівки пагону вміст збудників хвороб знижується (Києнко З. Б. та ін., 2022). Апікальна меристема зазвичай вільна від бактерій та вірусів. Вона являє собою конус клітин, що активно діляться висотою (0,1...0,5 мм). Але при цьому дуже важливо одержати стерильний, морфогенно активний експлант, тобто такий, що приживеться, і згодом регенерує в рослину *in vitro* (Андрієвський та ін., 2019).

При оздоровленні садивного матеріалу винограду в культурі тканин і органів *in vitro* шляхом культивування апікальних меристем так само дуже важливо визначити оптимальні розміри ініціальних експлантів (апикальних меристем), які б забезпечували і оздоровлення рослин від вірусної і бактеріальної інфекції, і разом з тим мали високий коефіцієнт розмноження. Слід зазначити, що подібних робіт серед вітчизняних і зарубіжних науковців дуже мало, а деякі питання, експериментальні дані, висновки є дискусійними.

Метою дослідження було визначення оптимальних розмірів апікальних меристем винограду *in vitro* для отримання життєздатних регенерантів.

Результати дослідження

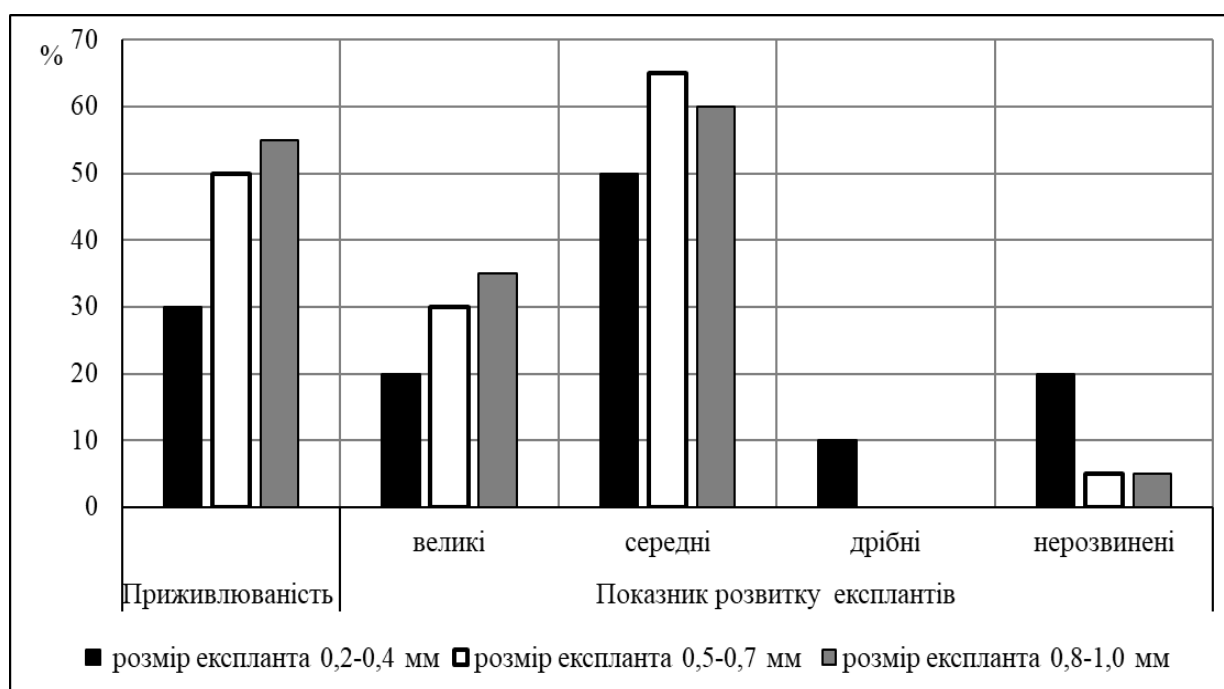
Робота виконувалась у відділі розсадництва, розмноження і біотехнології винограду ННЦ «ІВіВ ім. В. Є. Таїрова» протягом 2022 – 2024 рр. Матеріалом для роботи були мікроклональні рослини сорту Каберне Совіньйон, клон 15. У роботі використовували біотехнологічні методи досліджень для визначення приживлюваності ініціальних експлантів (%), величини розвитку експлантів (мм), кількості утворених пагонів (шт.), висоти (см) рослин регенерантів. В якості ініціальних експлантів використовували апікальні меристеми розміром 0,2 – 0,4 мм (з одним, двома листовими примордіями), 0,5 – 0,7 мм (з двома, трьома листовими примордіями), 0,8 – 1,0 мм (з одним, двома покривними листочками). Меристеми верхівки виділяли під біокулярним мікроскопом МБС-9 при 25-кратному збільшенні в стерильних умовах ламінарного боксу. Апікальні меристеми культивували на модифікованому поживному середовищі Мурасіге і Скуга 1 (МС 1) та 2 (МС 2). Модифікація поживного середовища МС 1 заключалась у зміні кількості макросолей (окрім K_2HPO_4), вітамінів, вуглеводів і фітогормонів. Роботи, пов'язані з розмноженням рослин винограду в культурі тканин і органів *in vitro* здійснювали в асептичних умовах ламінарних та культуральних

боксів. Умови культивування: температура 24 – 25°C, 16-годинний фотоперіод, освітлення 2500 – 3000 лк., вологість повітря 60 – 70%. На першому етапі роботи апікальні меристеми висаджували на поживне середовище МС 1 і визначали їх приживлюваність та регенераційний потенціал.

Проведені спостереження показали, що через 2-3 тижні культивування частина меристем (45–70% залежно від розміру експланта), почала некротизувати і відмирала. Ті меристеми, які залишилися давали початок розвитку мікропагонам. Визначення показника приживлюваності апікальних меристем на поживному середовищі МС 1 (через 40 діб) показало, що найбільше життєздатних меристем було отримано з ініціальних експлантів, розміром 0,8 – 1,0 мм – 55% (рис. 1).

Рисунок 1

Приживлюваність та розвиток апікальних меристем сорту Каберне Совіньйон клон 15 на поживному середовищі МС 1



Джерело: власна розробка авторів

Використання апікальних меристем менших розмірів супроводжувалося зменшенням цього показника до 50% (0,5 – 0,7 мм) та до 30% (0,2 – 0,4 мм).

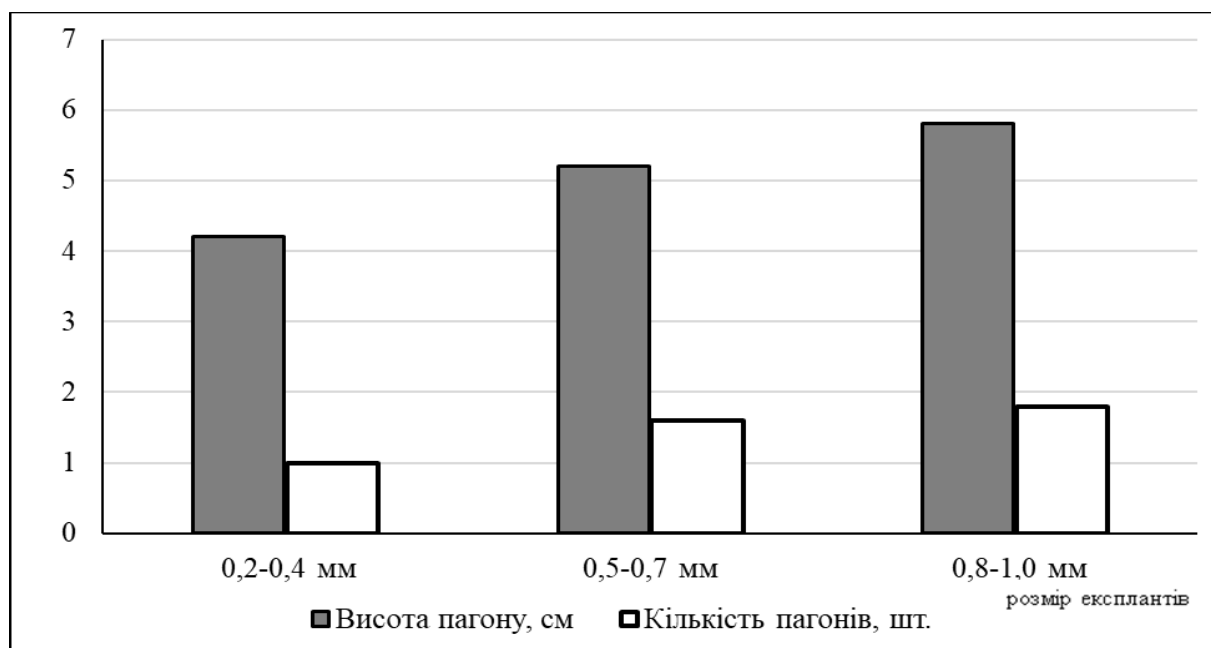
Отже, наведені результати свідчать про залежність рівня регенерації апікальних меристем від їх розміру. Відмирання апікальних меристем у процесі культивування, на нашу думку, відбувалося через пошкодження апікальних структур у процесі їх виділення.

Після досягнення рослинами регенерантами розмірів 0,5-1,0 см їх пересаджували на поживне середовище МС 2 і через 150-180 діб культивування визначали кількість утворених пагонів, їх висоту. Слід зазначити, що ці показники рослин регенерантів після використання ініціальних експлантів (апикальних меристем) розміром 0,5 – 1,0 мм були істотно більшими, ніж після використання меристем меншого розміру 0,2 – 0,4 мм (рис. 2). Така перевага знаходилася у межах 60 - 80% (за кількістю пагонів) та 23,8 – 38,0% (за висотою пагонів). Необхідно відмітити і той факт, що за показниками кількості утворених пагонів, висоти пагонів суттєвих відмінностей між

варіантами, де використовували апікальні меристеми розмірами 0,5 – 0,7 та 0,8 – 1,0 мм не виявлено.

Рисунок 2

Розвиток рослин реґенерантів винограду сорту Каберне Совіньйон клон 15 в умовах *in vitro*



Джерело: власна розробка авторів

Висновки

На основі експериментальних досліджень встановлено, що для отримання життєздатних рослин-реґенерантів винограду *in vitro* доцільно використовувати апікальні меристеми розміром 0,5 – 1,0 мм. Вони забезпечували формування і подальший розвиток пагонів у 50-55% ініціальних експлантів. Перспективи подальших досліджень, у цьому напрямку, зводяться до встановлення ефективності використання апікальних меристем, вказаних розмірів, для оздоровлення мікроклонів винограду від вірусу скручування листків та бактеріального раку.

Література

Гадзало, Я. М., Власов, В. В., Мулюкіна, Н. А., Джабурія, Л. В., Тулаєва, М. І., Чісников, В. С., Ковальова, І. А., Герус, Л. В., Конуп, Л. О., & Зеленянська Н. М. (2015) Система сертифікованого виноградного розсадництва України. Аграрна наука.

Medzihradzsky, A., Gyula, P., Sós-Hegedűs, A. Szittyá, G., & Burgyán, J. (2019). Transcriptome reprogramming in the shoot apical meristem of CymRSV-infected *Nicotiana benthamiana* plants associates with viral exclusion and the lack of recovery. *Molecular Plant Pathology*, 20(12), 1748-1758. <https://doi.org/10.1111/mpp.12875>

Києнко, З. Б., Кімейчук, І. В., & Мацкевич, В. В. (2022) Мікроклональне розмноження рослин роду *Actinidia* Lindl. Сортовивчення та сортознавство. 18(3), 220-229. <https://doi.org/10.21498/2518-1017.18.3.2022.269022>

Андрієвський, В. В., Врублевський, А. Т., Мацкевич, В. В., & Мацкевич, О. В. (2019). Проблеми мікроклонального розмноження фундука. *Агробіологія*, (1), 74-84. doi: 10.33245/2310-9270-2019-146-1-74-84