ТЕЗИ

УДК 834.8:581.143.6:632.071

***Д.М. Ковтун**, студентка 4 курсу агрономічного факультету*
Науковий керівник: канд. с.-г. наук,доцент Козлова О.П.
Херсонський державний аграрно-економічний університет
e-mail: dkovtun0902@gmail.com

АНАЛІЗ МОРФОГЕНЕЗУ ВИНОГРАДУ У КУЛЬТУРІ IN VITRO

Виноградарство є традиційною галуззю сільського господарства Одещини. Проте останніми роками у цій галузі спостерігаються негативні тенденції: скорочуються площі, знижується продуктивність та сортовий склад насаджень. Значною мірою така ситуація обумовлена тим, що господарства області, які займаються посадкою винограду, можуть задовольнити потребу в саджанцях лише на 20-25 %, із них більшість вирощуваних за традиційною технологією саджанців інфікована вірусними та бактеріальними захворюваннями. Використання такого посадкового матеріалу сприяє поширенню патогенів та накопиченню їх на промислових плантаціях із кожним роком культивування. У зв'язку з цим стає актуальним питання якості саджанців, що використовуються для закладки плантацій винограду.

Встановлено, що культивування клонів, вільних від системних та хронічних захворювань, значно підвищує продуктивність винограду та його якість, довговічність насаджень та стійкість їх до несприятливих факторів середовища. Для отримання високоякісного посадкового матеріалу необхідно вирощувати лише безвірусний та безбактеріальний посадковий матеріал високих селекційно-санітарних категорій. Пріоритетним для одержання оздоровленого посадкового матеріалу є клональне мікророзмноження у культурі in vitro. На сьогодні це найбільш перспективний напрям у боротьбі із системними та хронічними захворюваннями винограду. Цей метод характеризується високим коефіцієнтом розмноження (до 1:107), що дозволяє значно прискорювати селекційний процес та впроваджувати нові сорти у виробництво [1].

Вперше метод розмноження винограду in vitro був описаний Р. Галзі в 1961році (R. Galzy, 1961). Вузли із бруньками культивували на середовищі без регуляторів зростання. Пізніше О. Сильвестрони (O. Silvestroni, 1981) припустив можливість збільшення виробництва рослин шляхом розмноження вузловими сегментами, що містять листову бруньку, в середовищі, доповненому цитокінінами, щоб інгібувати домінування верхівки росту і підвищити проростання пагонів.

Технології in vitro багато десятиліть успішно використовуються для оздоровлення рослин від вірусів. Ця технологія заснована на нерівномірному розподілі вірусів у молодих тканинах, де клітини знаходяться у постійному та швидкому розподілі (S.A. Youssef, M.M. Al-Dhaher, A.A. Shalaby, 2009).

На Міжнародному симпозіумі забезпечення якості мікророзмноження було опубліковано дослідження фенотипічної мінливості винограду, розмноженого in vitro. У своїй роботі автори спостерігали характеристики кореневласних рослин винограду (сорти Moscato і Barbera), вирощених за допомогою мікророзмноження з живців, що одеревенілі, протягом декількох років після того, як вони були висаджені на виноградники. Спостереження стосувалися фенології, вегетативного зростання, ампелографії, кількості та складу соку [2].

Для ампелометричного опису основні параметри дорослого листя вимірювалися за допомогою комп'ютеризованого графічного дигітайзера. Через кілька років на винограднику більшість відмінностей у вегетативному рості та продуктивності рослин були незначними, за винятком урожаю Барбер. Рослини цього сорту, отримані мікророзмноженням, були більш продуктивними, у порівнянні з рослинами, вирощеними з

живців. Суттєвої різниці не спостерігалося в урожайності, силі росту та складі ягідного соку. Були виявлені відмінності у морфологічних ознаках – відрізнялося листя.

Рослини, розмножені in vitro часто мали дрібніше листя, з більш глибокими бічними вирізками та більш вираженим опушенням на жилках нижньої сторони листка. У сорту Барбер бічні вирізки листа часто мали нетипову форму, але частота цієї ознаки знижувалася в міру старіння рослин. Листя винограду сорту Москато мали часто п'ять лопатей замість трьох. Такі морфологічні зміни, що виникають у результаті культури виноградних лоз in vitro, обумовлені омолодженням, індукованим цим методом культури, і тим, що деякі ювенільні ознаки можуть зберігатися протягом деякого часу після перенесення на виноградник (I. Gribaudo, et al., 2000).

Рис.1 Рослини винограду, які розмножені in vitro

Успіх клонального мікророзмноження залежить від багатьох факторів: складу культурального середовища (C.F. Popescu, et al., 2015), розміру і типу експлантів, що вводяться, умов культивування (R. Chée, R. Pool, 1983), генотипу (C. Boiti, L. Garay, G. Reginato, 1993; M. Eftekhari et al., 2012). Однією з найважливіших частин оптимізації протоколу мікророзмноження є склад живильного середовища (J. Karoglan, N. Mirosevic, S. Jelaska, 1990).

Ці ж вчені вивчали вплив цитокінінів на проліфераційну здатність сорту Наполеон (A. Ibanez, M. Valero, A. Morte, 2003). У поживні середовища додавали 6-БАП 6-бензиладенін), кінетин (К), 2- isopentenylade-nine (2iP), тидиазрон (TDZ). Додавання 6-БАП дало найкращі результати. Для іншого іспанського сорту Монастрел був розроблений протокол мікророзмноження. Досліджувалися два живильні середовища Мурасіге та Скуга та Lloyd and McCownwoody plant medium та регулятор росту 6-БАП (benzylaminopurine) (Tània San Pedro A, et al., 2017) [3].

Вчені каліфорнійського університету вивчали особливості органогенезу у семи сортів винограду: Cabernet Sauvignon, French Colombard, Thompson Seedless, White Riesling, Grenache, St. George, та Ganzin. Дослідження проводилося на середовищах Мурасизі Скуге та Nitsch and Nitsch, доповнених 6-БАП у концентраціях: 0, l, 2 та 4 мг/л. Органогенез відбувався лише у присутності 6-БАП при найкращій концентрації 2 мг/л (J.A. Stamp L, S.M. Colby, C.P. Meredith, 1990).

Грецькі вчені лабораторії біології рослин та виноградарства (G. Ba-nilas, E. Korkas, 2007) розробили ефективний протокол для швидкого розмноження винограду in vitro сорту Агіоргітіко (давньогрецький технічний сорт місцевого значення). У більшості випадків при створенні протоколів мікророзмноження для видів Vitis використовують експланти з рослин, які вже вирощені in vitro або в теплицях. Однак у цьому дослідженні експланти було отримано з польових рослин. Культивування проводилося на середовищі МС (з половинним вмістом солей) без регуляторів росту або з доповненням щодо низьких концентрацій бензиладеніну (6-БАП). На вищих рівнях 6-БАП ріст посилювався, але відзначалася вітрифікація (hyperhydricity). Відносно низькі концентрації індолмасляної кислоти (ІМК) сприяли збільшенню росту пагонів і коренів. При високих концентраціях 6-БАП пагони виявляли гіпергідрічність, тому автори пропонують використовувати нижчі концентрації.

Таким чином, на підставі джерел досліджень, які були проаналізовані, розроблено спосіб зберігання рослин винограду в умовах повільно зростаючої «зеленої» колекції in vitro, який включає:

- використання в якості вихідних пробіркових рослин попередньо оздоровлені за допомогою культури апікальних меристем розміром 0,1-0,2 мм;
- підготовку до зберігання на етапі мікророзмноження на живильному середовищі МС;
- висадку на зберігання мікрочеренків рослин, виділених із верхніх частин пагонів та здійснення культивування в колекції in vitro на твердому живильному середовищі Мурасизі Скуга без гормонів [4].

Список використаних джерел

1. Скорохід В. А. Промислова біотехнологія мікроклонального розмноження винограду в культурі in vitro. Херсон : Айлант, 2000. 327 с.
2. Власов В. В., Лянний А. Д., Спектор Я. С. Стан та основні напрямки розвитку виноградарства та розсадництва України на період до 2020 року. *Виноградарство та виноробство XXI століття*: матеріали міжнар. симпозіуму. Одеса : Optimum, 2005. С. 98-104.
3. Мулюкіна Н. А. Вірусні хвороби винограду та їх вплив на виноградну рослину. *Виноградарство і виноробство :* міжнар. темат. наук. зб. Одеса, 2004. Вип. 41. С. 45-53.
4. Батукаєв А. А. Удосконалення технології прискореного розмноження винограду методом in vitro та застосування регуляторів росту в умовах in vitro та in vivo : автореф. дис. д-ра с.-г. наук. : 06.01.08. Новочеркаськ, 1999. 64 с.

D.M. Kovtun,

a 4th-year studentof the agronomy faculty

Academic supervisor: ***O.P. Kozlova***.

Kherson State Agrarian University

ANALYSIS OF GRAPE MORPHOGENESIS *IN IN VITRO* CULTURE