
**Вплив складу живильних середовищ на ріст і розвиток експлантів
винограду, отриманих в умовах *in vitro*****Ірина Люта**

кафедра біотехнології та біоінженерії, факультет технології виробництва, переробки продукції тваринництва, стандартизації та біотехнології, Миколаївський національний аграрний університет, м. Миколаїв, Україна

ORCID 0000-0002-1672-2337

Для цитування цієї статті:Люта Ірина. Вплив складу живильних середовищ на ріст і розвиток експлантів винограду, отриманих в умовах *in vitro*. International Science Journal of Engineering & Agriculture. Vol. 3, No.6, 2024, pp. 107-116. doi: 10.46299/j.isjea.20240306.11.**Надійшла до редакції:** 13 листопада 2024 р.; **Схвалено:** 30 листопада 2024 р.;**Опубліковано:** 01 грудня 2024 р.

Анотація: Метою дослідження було встановити оптимальний склад субстратів для вирощування винограду в умовах *in vitro*. Під час експерименту було досліджено вплив 6-бензиламінопурину, індол-3-оцтової та гіберелінової кислот в складі поживних середовищ на ріст і розвиток експлантів винограду. Отримані результати вказують на те, що фітогормони позитивно впливають на розмноження сортів винограду *in vitro*. Використання 6-БАП в складі поживних середовищ в обох варіантах дослідження дійсно прискорює темпи росту досліджуваних рослин. Найбільший приріст був зафіксований на поживному середовищі Мурасіге-Скуга сорту Аркадія – 12,0 см, середовище Уайта поступається за цим показником по всім сортам винограду. Однак оптимальною концентрацією 6-бензиламінопурину, яка найбільше впливає на рослини винограду в обох випадках, була концентрація 1 мг/л. При використанні модифікованого поживного середовища Уайта найкращий розвиток виноградних пагонів спостерігався при концентрації гібереліну 1 мг/л, довжина стебла була в межах 9,8-10,0 см, а кількість міжвузля – 4,9-5,6 штук. Дослідження показало, що обрана концентрація індол-3-оцтової кислоти (0,2-0,5 мг/л) є досить прийнятною для розвитку кореневої системи рослин винограду, отриманих *in vitro*. Однак, як і очікувалося, сорти, вирощені на поживних середовищах Уайта, відстали в розвитку від конкурентів через слабкий ріст кореневої системи. Найкращі результати продемонстрував сорт винограду Подарунок Магарача, довжина коренів якого становить 3,8 см. Отримані в ході дослідження дані про склад середовища для мікроклонального розмноження винограду в умовах *in vitro* показують, що агаризовані поживні середовища Мурасіге-Скуга, зокрема, їх модифікації з вмістом 1,0 мг/л 6-бензиламінопурину, 1,0 мг/л гіберелінової кислоти та 0,5 мг/л індол-3-оцтової кислоти є оптимальними для мікроклональної регенерації винограду.

Ключові слова: виноград, рослини, отримані *in vitro*, мікроклональне розмноження, фіторегулятори, коренеутворення, міжвузля, експланти.

1. Вступ

Виноград – одна з найбільш розповсюджених сільськогосподарських культур, що відіграє істотну роль у світовій економіці. Збільшення виробництва винограду вимагає не тільки розширення площ, а й розроблення та вдосконалення технологій, що забезпечують прискорене розмноження перспективних сортів.

Найбільш ілюстративним прикладом реалізації потенціалу рослин (або їхніх окремих тканин і органів) за допомогою біотехнологічних прийомів може стати клональне мікророзмноження, за якого реальні коефіцієнти розмноження в сотні і навіть тисячі разів вищі, ніж за будь-якого з традиційних прийомів [14].

Основою технології *in vitro* є базисний посадковий матеріал, вільний від шкідників та хвороб. Виробництво такого посадкового матеріалу можливе лише в наукових установах з використанням новітніх методів біотехнології [1, 3].

Сучасна технологія виробництва оздоровленого садівного матеріалу включає біотехнологічні прийоми, комплексне оздоровлення з використанням культури ізольованих апексів, прискорене розмноження оздоровлених екземплярів на штучних поживних середовищах і створення колекцій оздоровлених форм *in vitro* [1].

Одним із них є метод культури апікальних меристем із подальшим клональним мікророзмноженням. Цей спосіб ефективний і економічний, оскільки дає змогу в короткі терміни отримати потрібну кількість здорових рослин винограду.

Сучасні вчені пропонують безліч варіантів складу поживних середовищ. Один склад може позитивно вплинути на кореневу систему, інший, навпаки, призводить до утворення розвитку бічних відгалужень, третій спосіб може уповільнити розвиток і т. д. [6, 11, 14].

Оптимізація складу поживних середовищ для різних сортів винограду є найважливішим завданням на етапі підготовки штучних поживних субстратів для вирощування.

2. Об'єкт і предмет досліджень

Об'єктом досліджень є рослини різних сортів винограду Аркадія, Молдова, Подарунок Магарача і Кодрянка. Предметом дослідження є вивчення росту та розвитку експлантів винограду різних сортів, вирощених у середовищі з додаванням різної кількості гормонів росту.

3. Мета та задачі дослідження

Метою дослідження було визначення оптимального складу субстратів для вирощування винограду різних сортів в умовах *in vitro*. Основними задачами досліджень є встановити оптимальну концентрацію гормонів росту (індол-3-оцтової кислоти, 6-бензиламінопурину та гіберилінової кислоти) у модифікованих середовищах для культивування експлантів винограду.

4. Аналіз літератури

Рослини, отримані в культурі *in vitro*, перевершують за кількістю листя, батогів і розеток маточні рослини, розмножені традиційним способом. Встановлено, що середня кількість батогів і дочірніх розеток на одну рослину, вирощену традиційним способом, становила 10,5 шт. і 14,6 шт., після культивування *in vitro* – 14,0 і 22,9 шт. відповідно [2, 10].

Відомо, що для кожного нового сорту рослин потрібне індивідуальне опрацювання всіх аспектів методу *in vitro*: підбір оптимальних композицій поживних середовищ і ростових речовин, безпечних і ефективних антибіотиків і стерилізуючих речовин, зміна технологічних прийомів [12].

На сьогоднішній день мікроклональне розмноження є найбільш перспективним, швидким і безпечним для культури методом отримання оздоровленого посадкового матеріалу. І так як, вирішальним фактором у розмноженні будь-якої рослини в умовах *in vitro* після дотримання асептики, є поживне середовище, то важливим питанням стає його підбір та оптимізація під обрану культуру [4, 6].

У практиці фітосанітарної селекції застосування сучасних методів діагностики вірусних

захворювань і бактеріального раку винограду, мікроклонального розмноження в культурі *in vitro* підвищують ефективність селекційного процесу та сприяють більш швидкому впровадженню у виробництво виділених клонів. Отримані результати вказують на перспективність застосування штамів-антагоністів для розробки методів, що попереджають вторинне зараження бактеріальним. Спосіб включає мікророзмноження пробіркових рослин і висадку їх на рідке живильне середовище з додаванням макроелементів, вітамінів і біопрепаратів. При цьому на основі субстрату Мурасіге-Скуга виключають активоване вугілля, знижують вміст солей і кислот у 2-4 рази і додають Гумат+7В у кількості 5-10 мл/л. Спосіб дає змогу підвищити ефективність і прискорити розмноження оздоровлених від вірусної інфекції перспективних сортів винограду [6, 7, 9].

Залежно від виду та сорту сільськогосподарських рослин, у багатьох випадках потрібна оптимізація поживного середовища. Варіюючи, за певною схемою, концентрації різних компонентів живильного середовища (насампере регуляторів росту, фітогормонів), знаходять оптимальний варіант [2].

Багато авторів вважають, що успішне укорінення пагонів, отриманих *in vitro*, є ключовим етапом мікроклонального розмноження. Згідно з роботами Скуга і Міллера, формування коренів визначається відношенням ауксинів до цитокинінів. Їхній вміст у зоні укорінення змінюється в процесі коренеутворення. У перші 24 години вміст цитокинінів різко зменшується і зберігається на низькому рівні 3-4 дні. У момент розтягнення корневих зачатків рівень цитокинінів підвищується [5, 8, 13].

5. Методи досліджень

У роботі користувалися загальноприйнятими в практиці клонального мікророзмноження рослин методами: стерилізація вихідного матеріалу, введення в культуру, власне клональне мікророзмноження та укорінення *in vitro* з подальшою адаптацією до умов *in vivo*.

6. Результати досліджень

Для дослідження були використані стандартні поживні середовища Мурасіге-Скуга і Уайта, а також їх модифікації (табл. 1). Ці модифікації використовувалися для посилення росту і розвитку мікророслин винограду шляхом додавання різних концентрацій поживних речовин.

Таблиця 1. Концентрація ростових речовин у поживних середовищах

Поживне середовище	Концентрація, мг/л		
	Ауксини (ІОК)	Цитокиніни (6-БАП)	Гібереліни (ГК)
Мурасіге-Скуга (стандарт)	-	-	-
Мурасіге-Скуга (модифікація)	0,2-0,5	1-1,5	0,5-1
Уайта (стандарт)	-	-	-
Уайта (модифікація)	0,2-0,5	1-1,5	0,5-1

На ранніх стадіях росту експлантів спостереження проводилися з періодичністю 10-15 днів. При цьому фіксувалися загиблі мікропагони, причиною загибелі яких може бути грибкова інфекція, занесена на поживні середовища експлантами.

Результати спостереження за зростанням експлантів винограду досліджуваних сортів на 15-й день їх розвитку наведені в таблиці 2.

Зданих, наведених в таблиці 5, видно, що ріст рослин різних сортів був неоднаковим. Очікується, що приріст маси рослин на модифікованому живильному середовищі шляхом

додавання фітогормонів був значно вищим, ніж на стандартному.

Розвиток сорту Аркадія на модифікованому середовищі Мурасіге-Скуга склав 12,0 мм, а на модифікації Уайта – 10,0 мм, що перевищує результати стандартного середовища на 60,0% і 53,8% відповідно.

Таблиця 2. Контроль росту експлантів винограду на 15-й день їх розвитку

Поживне середовище		Зразки винограду різних сортів			
		Аркадія	Молдова	Подарунок Магарача	Кодрянка
Мурасіге-Скуга (стандарт)	Середній ріст меристем, мм	7,5±0,22	6,5±0,35	7,0±0,26	7,0±0,42
Мурасіге-Скуга (модифікація)		12,0±0,55***	9,5±0,28*	10,0±0,88	10,5±0,55*
Уайта (стандарт)		6,5±0,32	5,5±0,44	6,5±0,23	7,5±0,46
Уайта (модифікація)		10,0±0,26*	7,5±0,33	9,0±0,41	10,5±0,74

Примітка: * - $P > 0,95$, *** - $P > 0,999$.

Що стосується інших сортів, то отримані результати наступні: Молдова: 9,5 мм (модифікація MS) і 7,5 мм (модифікація Уайта) – перевищення норми на 46,2% і 36,4% відповідно; Подарунок Магарача: 10,0 мм (модифікація MS) і 9,0 мм (модифікація Уайта) – 42,9% 38,5%; Кодрянка: 10,5 мм (модифікація MS) і 10,0 мм (модифікація Уайта) – 50,0% і 40,0% відповідно.

У міру розвитку експлантів були виявлені пробірки із зараженим рослинним матеріалом, а мікророслини були покриті некрозом. Навіть висококонцентровані дезінфікуючі засоби не завжди забезпечують повну дезінфекцію культивованого матеріалу.

Процес відділення меристеми дуже тонкий, і верхівка пошкодженої меристеми стає сприйнятливою до різних інфекцій, що навряд чи призведе до утворення здорових рослин.

У таблиці 3 наведені результати зараження апікальних меристем винограду в залежності від виду використаного стериліанту.

Таблиця 3. Інфікованість апікальних меристем винограду в залежності від виду стериліанту на 30-й день посадки, %

Стериліант		Зразки винограду різних сортів			
		Аркадія	Молдова	Подарунок Магарача	Кодрянка
Гіпохлорит натрію 6%	інфіковано	6,0±0,2	25,0±0,4	11,0±0,2	14,0±0,3
	прижилося	81,0±0,3	75,5±0,6	66,0±0,4	81,0±0,1
	загинуло	19,0±0,2	24,5±0,6	34,0±0,1	19,0±0,1
Етанол 70% і діюцид	інфіковано	-	15,0±0,7	10,0±0,5	-
	прижилося	91,0±0,1	65,5±0,1	76,0±0,2	85,5±0,4
	загинуло	9,0±0,5	34,5±0,2	24,0±0,1	14,4±0,2

Результати стерилізації 6% розчином гіпохлориту натрію та 70% діоксидом етанолу, наведені в таблиці 6, не відрізняються суттєво, хоча при контролі стерилізованих органів до посадки етанол 70% і діюцид показали хороші результати. Різниця між бактерицидними речовинами насправді несуттєва, вона становить 70% на користь 5-10% етанолу і діюциду.

Результати розвитку пагонів на 40-45-й день і їх здатність до регенерації показані на рисунку 1.

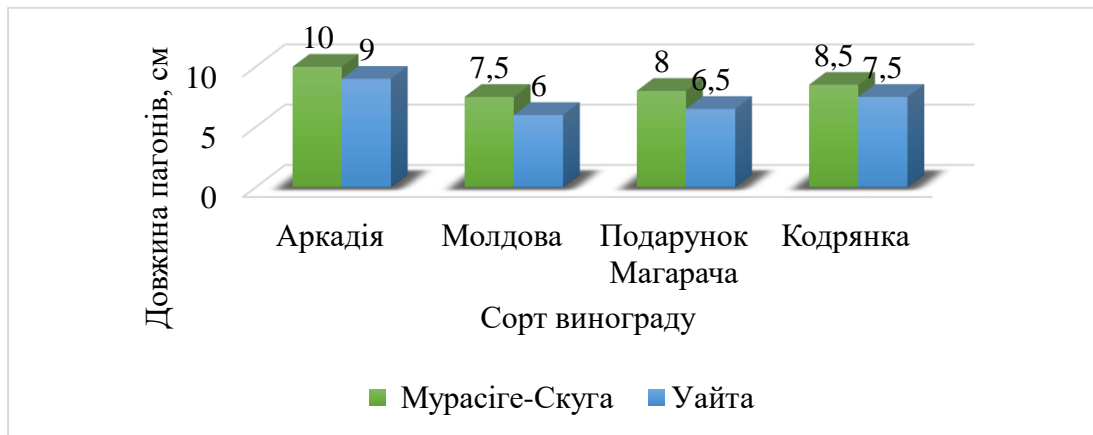


Рис. 1. Розвиток пагонів винограду, отриманого в умовах *in vitro*, в залежності від використаного середовища.

Отримані дані показують, що живильне середовище Мурасіге-Скуга сприяє найбільш високому зростанню всіх сортів винограду, порівняно з середовищем Уайта.

Спостереження показали, що сорти винограду, посаджені на стандартний склад живильного середовища Мурасіге-Скуга, дають більший приріст, ніж пагони сортів на стандартному середовищі Уайта: Аркадія на 1 см, Молдова – на 1,5 см, Подарунок Магарача – на 1,5 см, Кодрянка – на 1 см.

Можливо сортові особливості виноградних пагонів також зіграли свою роль в процесі росту. Однак більшість експлантів, вирощених на цих середовищах, вирости до стандартного розміру (± 10 см) і були успішно зрізані.

До модифікованого середовища додавали гормон росту: ауксинової дії (ІОК), цитокінінової дії (6-БАП) та гіберелінову кислоту.

Індукувати морфогенез в культурі калусної тканини можна за допомогою різних факторів, але найбільш ефективним є зміна співвідношення рослинних гормонів. Коли концентрація ауксину і цитокініну в живильному середовищі відносно однакова або концентрація ауксину незначно перевищує концентрацію цитокініну, утворюється калус, а коли концентрація ауксину значно перевищує концентрацію цитокініну, утворюються коріння; якщо концентрація ауксину значно нижче концентрації цитокініну, то утворюється калус. Утворюються цитокініни, бутони і зацвітають суцвіття. Отже, при хорошому співвідношенні ауксину і цитокініну можна отримати регенеровані рослини з високою морфогенетичною здатністю.

Вплив вмісту 6-БАП у складі поживного середовища на ріст та розвиток винограду різних сортів наведено в таблиці 4.

Таблиця 4. Вплив 6-БАП у складі поживного середовища на розвиток винограду, отриманого в умовах *in vitro*

Поживне середовище	Концентрація, мг/л	Розмір зразків винограду різних сортів, см			
		Аркадія	Молдова	Подарунок Магарача	Кодрянка
Мурасіге-Скуга (модифікація)	1,0	12,0 \pm 0,3**	8,0 \pm 0,1*	8,5 \pm 0,3*	10,7 \pm 0,5**
	1,5	9,5 \pm 0,2	6,5 \pm 0,7	7,0 \pm 0,4	8,0 \pm 0,1
Уайта (модифікація)	1,0	9,5 \pm 0,5	8,30 \pm 0,2	8,5 \pm 0,3	9,3 \pm 0,2
	1,5	9,0 \pm 0,7	7,0 \pm 0,2	7,9 \pm 0,3	8,5 \pm 0,6

Примітка: * - $P > 0,95$, ** – $P > 0,99$.

З даних, наведених в таблиці 4, було встановлено, що вплив 6-БАП на розвиток рослин винограду, отриманих *in vitro*, значно варіюється в залежності від сорту і концентрації регулятора росту в середовищі.

Сорт Аркадія мав найвищі результати на модифікованому середовищі Мурасіге-Скуга, з максимальним ростом у 12,0 см при концентрації 1 мг/л. Розміри зразків винограду сорту Молдова, Подарунок Магарача та Кодрянка також були більшими при концентрації 6-БАП 1 мг/л і перевищували результати, які були отримані при концентрації 1,5 мг/л, на 18,8%, 17,6%, 25,2% відповідно.

Як видно з даних таблиці 7, використання 6-БАП в складі поживних середовищ в обох варіантах дійсно прискорює темпи зростання досліджуваних рослин. Слід також зазначити, що найбільший приріст був зафіксований на поживному середовищі Мурасіге-Скуга сорту Аркадія – 12,0 см, середовище Уайта поступається за цим показником всім сортам винограду. Ймовірно, це пов'язано з тим, що склад макро- і мікроелементів середовища Мурасіге-Скуга більш поживне і збалансоване. Однак оптимальною концентрацією 6-БАП, яка надає найбільший ефект в обох випадках була концентрація 1 мг/л.

Тривале утримання пагонів в середовищ із високою концентрацією цитокініну не бажано, так як це може викликати пригнічення процесу росту мікророслин. Тому перед етапом укорінення (45-55 днів) експериментальним шляхом була підібрана оптимальна концентрація гіберелінової кислоти (ГК).

Вплив гіберелінової кислоти на розвиток винограду, отриманого в умовах *in vitro*, наведено в таблиці 5.

Таблиця 5. Вплив гібереліну на розвиток винограду, отриманого в умовах *in vitro*

Сорт винограду	Показник	Поживне середовище			
		Мурасіге-Скуга (модифікація)		Уайта (модифікація)	
		концентрація, мг/л			
		0,5	1,0	0,5	1,0
Аркадія	міжвузля, шт.	4,7±0,21	5,4±0,31**	4,0±0,22	4,4±0,12
	листя, шт.	9,0±0,42	11,0±0,41*	8,0±0,21	9,0±0,32
	довжина стебла, см	10,7±0,02	11,8±0,22	9,9±0,04	10,6±0,06
Молдова	міжвузля, шт.	4,5±0,08	5,1±0,12	3,9±0,42	4,6±0,56
	листя, шт.	8,5±0,33	10,0±0,12	8,0±0,11	10,0±0,59
	довжина стебла, см	8,6±0,37	9,2±0,11	8,2±0,22	8,9±0,45
Подарунок Магарача	міжвузля, шт.	4,6±0,45	5,2±0,52	4,2±0,85	4,9±0,77**
	листя, шт.	9,3±0,33	10,2±0,17	8,1±0,35	11,0±0,22**
	довжина стебла, см	8,6±0,15	9,6±0,16	9,1±0,44	9,8±0,51
Кодрянка	міжвузля, шт.	5,4±0,77	6,1±0,36**	5,1±0,12	5,6±0,33*
	листя, шт.	11,0±0,11	13,0±0,55*	10,1±0,85	11,0±0,11
	довжина стебла, см	9,2±0,15	10,6±0,26	9,8±0,33	10,0±0,12

Примітка: * - $P > 0,95$, ** – $P > 0,99$.

Як відомо, гіберелін значно стимулює ріст стебел, сприяє подовженню міжвузлів і збільшенню їх кількості. Гіберелін впливає не тільки на розтягнення клітин, але і на їх поділ.

Максимальна кількість міжвузля з листям і збільшення на стеблі виноградних бруньок спостерігалось при концентрації гібереліну 1 мг/л.

При використанні модифікованого поживного середовища Уайта кращий розвиток виноградних пагонів спостерігався також при концентрації гібереліну 1 мг/л. Найвищі показники було зафіксовано у винограду сортів Кодрянка та Подарунок Магарача, де кількість

листіків на пагонах становила 11 шт., довжина стебла була в межах 9,8-10,0 см, а кількість міжвузля – 4,9-5,6 шт.

При додаванні в середовище індол-3-оцтової кислоти (ІОК) планувалося укорінення рослин, отриманих *in vitro*. З цією метою випробовували два варіанти концентрації ауксину – 0,2 мг/л і 0,5 мг/л (табл. 6).

Таблиця 6. Вплив ІОК на розвиток кореневої системи винограду, отриманого в умовах *in vitro*

Поживне середовище	Концентрація, мг/л	Довжина коренів винограду, см			
		Аркадія	Молдова	Подарунок Магарача	Кодрянкa
Мурасіге-Скуга (модифікація)	0,2	2,8±0,22	2,5±0,31	3,1±0,11	3,0±0,21
	0,5	3,2±0,24	2,9±0,41	3,8±0,44	3,6±0,26
Уайта (модифікація)	0,2	2,5±0,11	2,6±0,51	2,9±0,21	2,8±0,11
	0,5	2,9±0,14	2,9±0,23	3,3±0,33	3,1±0,17

Дослідження показало, що обрана концентрація індол-3-оцтової кислоти надзвичайно прийнятна для розвитку кореневої системи рослин винограду, отриманого в умовах *in vitro*. Однак, як і очікувалося, сорти, вирощені на поживному середовищі Уайта, відстали в розвитку від конкурентів через слабке зростання кореневої системи.

Найкращий результат продемонстрував сорт винограду Подарунок Магарача, довжина кореня якого становить 3,8 см і повністю заповнює дно пробірки. Це свідчить про необхідність пересадки.

З метою підбору найбільш підходящого живильного середовища з оптимальним складом компонентів для отримання здорового посадкового матеріалу було проведено дослідження по мікрорегенерації сортів винограду *in vitro*.

В даному дослідженні були протестовані середовища Уайта та Мурасіге-Скуга з використанням стандартного складу інгредієнтів і гормональних добавок (модифікацій). У модифікацію був доданий гормон росту в рівних концентраціях 6-БАП, ІОК і ГК, але мінеральний склад не змінився. Як і очікувалося, середовище Мурасіге-Скуга зі стандартним складом виявилось більш ефективним, ніж середовище Уайта зі стандартним набором компонентів.

Така динаміка, ймовірно, безпосередньо пов'язана з менш багатим і поживним мінеральним складом середовища Уайта. Очевидно, з тієї ж причини мікропагони в такому середовищі були недорозвинені і відставали в рості та розвитку. Навпаки, мікророслини винограду, вирощені на живильному середовищі Мурасіге-Скуга, відрізнялися ростом і загальним розвитком. Це особливо помітно в модифікованому середовищі МС (табл.7).

Таблиця 7. Вплив поживного середовища на приживлення експлантів

Поживне середовище	Показник експлантів, шт.	Сорт винограду			
		Аркадія	Молдова	Подарунок Магарача	Кодрянкa
Мурасіге-Скуга (стандарт)	висаджено меристем	30	30	30	30
	загинуло	13	12	17	12
	прижилося	17	18	13	18
Мурасіге-Скуга (модифікація)	висаджено меристем	30	30	30	30
	загинуло	5	11	17	9
	прижилося	25	19	13	21

Продовження таблиці 7

Уайта (стандарт)	висаджено меристем	30	30	30	30
	загинуло	14	18	19	14
	прижилося	16	12	11	16
Уайта (модифікація)	висаджено меристем	30	30	30	30
	загинуло	12	13	18	12
	прижилося	18	17	12	18

Отримані дані вказують на те, що мікророслини, вирощені на модифікованому середовищі, краще приживаються. Сорт Аркадія показав найбільшу приживлюваність на середовищі МС (модифікація): з 30 мікропагонів було вирощено 25 здорових саджанців винограду (83,33%).

Обробивши отримані результати, вдалося вивести відсоткове співвідношення приживаємості експлантів винограду (рис. 2).

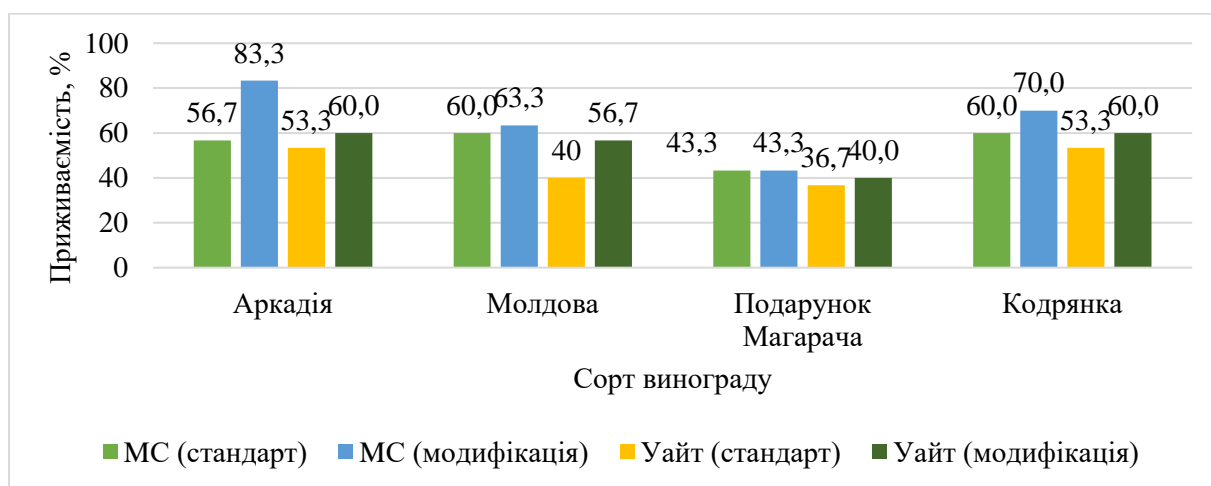


Рис. 2. Приживаємість винограду залежно від використаного поживного середовища, %

Таким чином, при культивуванні апікальних меристем різних сортів винограду на поживних середовищах з різним складом елементів приживаємість мікророслин порівняно висока.

В середньому частка життєздатних рослин в живильному середовищі першого варіанту (стандарт МС) склала 55,0%, другого варіанту (модифіковане МС) – 65,0%, третього варіанту (Уайта стандарт) – 45,83% і четвертого варіанту (Уайта модифіковане) – 54,2%.

Такий результат може бути пов'язаний з високою частотою зараження мікропагонів інфекцією, незважаючи на дотримання підвищеної стерильності при роботі з меристемою. Вирізати чисту меристему – досить трудомістке завдання, тому не виключено, що інфекція залишилася в клітинах меристеми навіть після їх відділення.

Основна частина мікророслин винограду, які прижилися, успішно пересаджена на нове поживне середовище.

7. Висновки

В ході проведених досліджень було встановлено, що рослинні гормони позитивно впливають на розмноження сортів винограду, отриманих *in vitro*. Отримані результати досліджень складу поживних середовищ для виноградарства показали, що агаризовані середовища Мурасіге-Скуга, зокрема їх модифікації з вмістом 1,0 мг/л 6-бензиламінопурину,

1,0 мг/л гіберелінової кислоти та 0,5 мг/л індол-3-оцтової кислоти є оптимальними для мікроклональної регенерації винограду в умовах *in vitro*.

Список літератури:

- 1) Зеленянська, Н. М., & Самофалов, М. О. (2022). Підвищення адаптивності мікроклонів винограду в умовах *in vitro*. Аграрні інновації, (11), 25-31.
- 2) Подгаєцький, А. А., Мацкевич, В., Філіпова, Л. М., Кравченко, Н. В., & Гнітецький, М. О. (2020). Адаптивність рослин на етапі *in vitro-ex vitro*. East European Science Journal, (4-2 (56)), 25-33.
- 3) Теслюк, Н. І. (2018). Утворення множинних пагонів винограду в культурі *in vitro* на різних живильних середовищах. Мікробіологія і біотехнологія, (1 (41)), 66-75.
- 4) Титаренко, Н. В., Теслюк, Н. І., & Іваниця, В. О. (2020). Перспективи використання бактерій у культурі клітин та тканин рослин. Мікробіологія і біотехнологія, (3 (50)), 6-31.
- 5) Aremu, A. O., Fawole, O. A., Makunga, N. P., Masondo, N. A., Moyo, M., Buthelezi, N. M., & Doležal, K. (2020). Applications of cytokinins in horticultural fruit crops: Trends and future prospects. Biomolecules, 10(9), 1222.
- 6) Arya, A., Sharma, V., Tyagi, P. K., Gola, D., & Husen, A. (2022). Role of cytokinins in adventitious root formation. In Environmental, Physiological and Chemical Controls of Adventitious Rooting in Cuttings (pp. 239-249). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-90636-4.00017-9>.
- 7) Azuara, M., González, M. R., Mangas, R., & Martín, P. (2023). Effects of the application of forchlorfenuron (CPPU) on the composition of verdejo grapes. In BIO Web of Conferences (Vol. 56, p. 01022). EDP Sciences. <https://doi.org/10.1051/bioconf/20235601022>.
- 8) Banilas, G., & Korkas, E. (2007). Rapid micropropagation of grapevine cv. Agiorgitiko through lateral bud development. Journal of Science and Technology, 42, 31-38.
- 9) Biswal, A., & Rout, C. K. (2020). Effect of Cytokinin on Fruit Crops. Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci, 9(11), 2896-2903. <https://doi.org/10.20546/ijemas.2020.911.351>.
- 10) Kieber, J. J., & Schaller, G. E. (2018). Cytokinin signaling in plant development. Development, 145(4), doi:10.1242/dev.149344.
- 11) Khan, N., Ahmed, M., Hafiz, I., Abbasi, N., Ejaz, S., & Anjum, M. (2015). Optimizing the concentrations of plant growth regulators for *in vitro* shoot cultures, callus induction and shoot regeneration from calluses of grapes. Oeno One, 49(1), 37-45.
- 12) Melyan, G., Sahakyan, A., & Harutyunyan, A. (2015). Micropropagation of grapevine (*Vitis vinifera* L.) seedless cultivar 'Parvana' through lateral bud development. Vitis-Journal of Grapevine Research, 54, 253-255.
- 13) Prasad, R. (2022). Cytokinin and its key role to enrich the plant nutrients and growth under adverse conditions-an update. *Frontiers in Genetics*, 13, doi:10.3389/fgene.2022.883924.
- 14) Schuck, M. R., Lipski, B., Silva, A. D., Carvalho, D. D., & Biasi, L. A. (2012). Acclimatization of micropropagated plants of fox grape cv. Bordô (*Vitis labrusca* L.) in different substrates. Journal of Biotechnology and Biodiversity. Vol. 3 (4). P. 206-212.

Influence of culture media composition on the growth and development of grape explants obtained *in vitro*

Iryna Liuta

Department of Biotechnology and Bioengineering, Mykolaiv National Agrarian University,
Mykolaiv, Ukraine
ORCID 0000-0002-1672-2337

Abstract: The aim of the study was to determine the optimal composition of substrates for growing grapes *in vitro*. During the experiment, the effect of 6-benzylaminopurine, indole-3-acetic

acid and gibberellic acid in the composition of nutrient media on the growth and development of grape explants was investigated. The results obtained indicate that phytohormones have a positive effect on the propagation of grape varieties *in vitro*. The use of 6-BAP in the composition of nutrient media in both variants of the study really accelerates the growth rate of the studied plants. The largest increase was recorded on Murashige-Skoog nutrient medium of Arcadia variety – 12.0 cm, White's medium is inferior in this indicator for all grape varieties. However, the optimal concentration of 6-benzylaminopurine, which has the greatest effect on grape plants in both cases, was 1 mg/l. When using White's modified nutrient medium, the best development of grape shoots was observed at a gibberellin concentration of 1 mg/l, the stem length was within 9.8-10.0 cm, and the number of internodes was 4.9-5.6 pieces. The study showed that the chosen concentration of indole-3-acetic acid (0.2-0.5 mg/l) is quite acceptable for the development of the root system of grape plants grown *in vitro*. However, as expected, the varieties grown on White's nutrient media lagged behind their competitors due to poor root system growth. The best results were demonstrated by the grape variety Podarok Magaracha, whose root length is 3.8 cm. The data obtained during the study on the composition of the medium for microclonal propagation of grapes *in vitro* show that Murashige-Skoog agarified nutrient media, in particular, their modifications containing 1.0 mg/l of 6-benzylaminopurine, 1.0 mg/l of gibberellic acid and 0.5 mg/l of indole-3-acetic acid, are optimal for microclonal regeneration of grapes.

Keywords: grapes, test tube plants *in vitro*, micropropagation, phyto regulators, root formation, internodes, explants.
