

УДК 57.085:634.2

Яремко Н. О., канд. с.-г. наук, **Удовиченко К. М.**, канд. біол. наук
Інститут садівництва НААН України
e-mail: nadiiayaremko@gmail.com

ІНІЦІАЦІЯ КУЛЬТУРИ *IN VITRO* ПІДЩЕП ВИДІВ *PRUNUS*

Мікроклональне розмноження широко використовується для розмноження багатьох типів підщеп видів *Prunus* [2, 6]. Крім того, використання цього методу на сьогодні є найбільш перспективним для отримання безвірусного рослинного матеріалу, в тому числі клонових підщеп та сортів плодових культур [5].

Незважаючи на досягнення в отриманні садивного матеріалу з використанням методу мікроклонального розмноження, в процесі роботи виникає ряд проблем, які, перш за все, пов'язані з генетичними особливостями розмножуваних культур [1]. Головну роль тут можуть зіграти такі фактори, як сортові і видові особливості, походження експлантів, вибір стерилізуючого агента та режиму стерилізації, склад поживного середовища для проліферації та укорінення, а також умови акліматизації *ex vitro*.

У даний час при вирощуванні саджанців кісточкових плодових культур застосовуються різні типи підщеп, що впливають на силу росту дерев у майбутньому саду. Характеристика підщеп дозволяє фермеру правильно спланувати свій сад з урахуванням під свої критерії його ведення.

Підщепа Krymsk®1 – карликова підщепа, гібрид вишні войлочної (*Cerasus tomentosa*) і аличі (*Prunus cerasifera*). Має добру сумісність зі всіма сортами сливи, абрикоса, аличі, з персиком – задовільна. В південних регіонах підходить тільки для зрошуваних ділянок, оскільки має низьку посухостійкість. Деревина на цій підщепі скороплідні та врожайні. Підщепа Krymsk®1 слаборосла, знижує ріст дерева на 50-60%. Коренева система розміщується у верхньому шарі ґрунту. Деревина не потребують опори. Період вегетації підщепи – 175 днів. Морозостійка, коренева система витримує до -15°C. Підщепа досить легко розмножується зеленим живцюванням. Перевагами підщепи є стійкість до щільних ґрунтів, перезволоження, добре переносить короткочасне затоплення навіть в період вегетації. Стійка до корневих гнилей і хвороб листя. Не утворює кореневу поросль. В саду дерева на даній підщепі виділяються скороплідністю і високою продуктивністю [3].

Підщепа Бест – карликова підщепа для кісточкових плодових культур (слива, персик, нектарин, алича, абрикос), отримана від схрещування *Cerasus bessey* та аличі сорту Студентська. Підщепа слаборосла (знижує ріст дерева на 40-50%), але трохи сильніша, ніж Krymsk®1. Підщепа зимостійка, дерева на ній характеризуються високою врожайністю, мають хорошу якість кореневої системи (не потребують опори), плоди з віком дерева не дрібнішають.

Обидві підщепи сьогодні набувають популярності в українських садівників, що робить актуальним розробку технології їх розмноження *in vitro*. Зразки підщеп Бест та Krymsk®1 відбирали у маточнику відділу вірусології, оздоровлення і

розмноження плодових і ягідних культур Інституту садівництва НААН.

Першим кроком культивування рослин в ізолюваних умовах було введення експлантів в асептичну культуру. На цьому етапі необхідно враховувати сезонність ростових процесів, що відбуваються в рослинах. Здатність експлантів до регенерації залежить від періоду ініціації. Як правило, найбільшою регенеративною активністю володіють експланти, відібрані в період активного росту пагонів [4]. Нами було досліджено два терміни введення підщеп. В зимовий період експланти відбирали зі здерев'янілих приростів минулого року, а в літній – з приростів поточного року. В обидва етапи експланти висаджували на поживне середовище Murashige-Skoog (MS).

У зимовий період рослинний матеріал пророщували до розпускання бруньок в лабораторних умовах. Після проростання, експланти піддавали первинній стерилізації розчином комерційного препарату «Білизна» у співвідношенні 1:5 протягом 20 хвилин з наступною стерилізацією з використанням п'яти різних режимів:

1. 0,1 % р-н хлориду ртуті 3 хв;
2. 70% етанол 30 с, 0,1 % р-н хлориду ртуті 3 хв;
3. 70% етанол 60 с, 0,1 % р-н хлориду ртуті 3 хв;
4. 70% етанол 30 с, 1% р-н лізоформіну;
5. 70% етанол 60 с, 2% р-н лізоформіну.

За всіх застосованих режимів та речовин відзначали високий вихід стерильних експлантів, що становив 70-85% для підщепи Krymsk®1 і 85-95% для підщепи Бест. Відзначали, що при збільшенні часу експозиції етанолом і застосуванні лізоформіну ефективність стерилізації зростала не істотно або не змінювалась. Крім того, збільшувалась кількість некротизованих експлантів, а швидкість розвитку і якість регенерантів знижувались (табл. 1).

Таблиця 1 – Введення підщеп кісточкових культур в умови *in vitro* в зимовий період

Режим стерилізації	Ефективність стерилізації, %	Бактеріальна контамінація, %	Грибна контамінація, %	Некротизовані експланти, %	Регенерували, %
Krymsk®1					
1	80	15	5	0	80
2	75	15	10	0	75
3	80	20	0	10	70
4	70	25	5	10	60
5	85	10	5	30	55
Бест					
1	85	10	5	0	85
2	87,5	7,5	5	0	87,5
3	90	7,5	2,5	7,5	82,5
4	95	5	0	25	70
5	85	12,5	2,5	32,5	52,5

На початку літа експланти також піддавали попередній стерилізації, а потім стерилізували з використанням 70% розчину етанолу протягом 30 с і 0,1% р-ну хлориду ртуті протягом 3 хв, оскільки саме цей режим було визначено оптимальним на попередньому етапі дослідження. За такого режиму стерилізації для підщепи Бест було отримано 54% стерильних експлантів, які регенерували, та для Krymsk®1 – 36%. В період літнього етапу введення значно зросла контамінація експлантів грибами та бактеріями, що призвело до втрати від 37 до 50% матеріалу (табл. 2).

Таблиця 2 – Введення підщеп кісточкових культур в умови *in vitro* в літній період

Підщепа	Ефективність стерилізації, %	Бактеріальна контамінація, %	Грибна контамінація, %	Некротизовані експланти, %	Регенерували, %
Бест	63	14,3	23,1	8,8	53,8
Krymsk®1	49	23,1	27,7	13,8	35,4

Таким чином, зимовий період є оптимальним часом для ініціації культури тканин досліджуваних підщеп, коли експланти мали високу регенераційну здатність і менший прояв грибної та бактеріальної контамінації.

Список літератури

1. Муратова С. А. Особенности введения в культуру *in vitro* плодовых и ягодных растений. *Плодоводство*. 2005. Т.17, ч.2. С. 182–183.
2. Balla I., Mansvelt L. Micropropagation of peach rootstocks and cultivars. In M. Lambardi E., Ozudogru Jain S. (Eds.). *Protocols for Micropropagation of Selected Economically Important Horticultural Plants. Methods in Molecular Biology (Methods and Protocols)*. Totowa, Humana Press. 2012. P. 994. https://doi.org/10.1007/978-1-62703-074-8_10.
3. Czinege A., Soltész M., Nyéki J., Szabó Z. The use of rootstocks for European (*Prunus domestica*) and for Japanese (*Prunus salicina*) plums (review). *International Journal of Horticultural Science*. 2012. Vol. 18 (2). P. 7–13.
4. Dorić D., Ognjanov V., Ljubojević M., Barać G., Dulić J., Pranjić A., Dugalić K. *Not Bot Horti Agrobo*. 2014. Vol. 42(2). P. 488–494.
5. Hossini A.D., Moghadam E.G., Anahid S. Effects of media cultures and plant growth regulators in micropropagation of Gisela 6 rootstock. *Annals of Biological Research*. 2010. Vol. 1 (2). P. 135-141.
6. Mayer N.A., Bianchi V.J., Feldberg N.P., Morini S. Advances in peach, nectarine and plum propagation. *Revista Brasileira de Fruticultura*. 2017. Vol. 39(4). P. 355. <https://doi.org/10.1590/010029452017355>