

**Н. М. Зеленианська**

доктор сільськогосподарських наук, старший науковий співробітник, заступник директора з науково-інноваційної діяльності, Національний науковий центр «Інститут виноградарства і виноробства імені В. Є. Таїрова» НААН України (м. Одеса, Україна)
E-mail: natalyanikolaevna2019@ukr.net

М. І. Рябий

аспірант, Національний науковий центр «Інститут виноградарства і виноробства імені В. Є. Таїрова» НААН України (м. Одеса, Україна)
E-mail: ryaby.nikolay@gmail.com



ЗАСТОСУВАННЯ МЕТОДУ АПІКАЛЬНИХ МЕРИСТЕМ ДЛЯ РОЗМНОЖЕННЯ ВИНОГРАДУ *IN VITRO*

Одним із способів отримання рослин винограду, вільних від вірусних, мікоплазмозних хвороб та бактеріального раку є метод культури апікальних меристем. Ефективність цієї технології залежить від того, яка кількість ініціальних експлантів буде морфогенно активною, успішно приживатися на поживному середовищі та регенерувати у рослини. Метою роботи було визначити вплив поживних середовищ та розмірів апікальних меристем винограду *in vitro* на їх регенераційну здатність. У роботі використували біотехнологічні, лабораторні та статистичні методи досліджень для визначення приживлюваності, рівня регенерації ініціальних експлантів, кількості утворених пагонів, висоти рослин-регенерантів. Дослідження проводили на мікроклонах винограду технічного сорту Каберне Совіньйон клон 15. На приживлюваність апікальних меристем винограду *in vitro* впливали їх розмір та склад поживного середовища. Найбільше життєздатних апікальних меристем було отримано з ініціальних експлантів розміром 0,5–0,7 мм (30,0–56,0%) та 0,8–1,0 мм (33,0–58,0%). Для їх культивування слід використовувати поживне середовище з підвищеним вмістом вітамінів і фітогормонів (МС 2). Порівняно з контролем (МС за прописом) на середовищі МС 2 збільшувалася кількість пагонів на 80,0%, висота пагонів – на 65,7% для ініціальних експлантів розміром 0,5–0,7 мм та на 53,8 і 55,0% для ініціальних експлантів розміром 0,8–1,0 мм. Результати статистичного аналізу довели достовірність отриманих результатів та дали змогу встановити вплив кожного чинника на отримання результативних показників. На показники приживлюваності апікальних меристем, кількість регенерованих пагонів, їх висоту найбільший вплив мав чинник А (склад поживного середовища) – 39,6–54,4%, на прояв рівня регенерації апікальних меристем – чинник Б (розмір апікальних меристем) – 38,5–52,9%.

Ключові слова: ініціальні експланти, поживне середовище, приживлюваність, рівень регенерації, рослини-регенеранти, кількість пагонів, висота пагонів.

N. M. Zelenianska

Doctor of Agricultural Sciences, Senior Research Scientist, Deputy Director for Research and Innovation, National Scientific Centre "V. Ye. Tairov Institute of Viticulture and Winemaking" NAAS of Ukraine (Odesa, Ukraine)
E-mail: natalyanikolaevna2019@ukr.net

M. I. Riabyi

Graduate Student, National Scientific Centre "V. Ye. Tairov Institute of Viticulture and Winemaking" NAAS of Ukraine (Odesa, Ukraine)
E-mail: ryaby.nikolay@gmail.com

APPLICATION OF THE METHOD OF APICAL MERISTEMS FOR GRAPE PROPAGATION *IN VITRO*

One of the ways to obtain grape plants free from viral, mycoplasma diseases and bacterial cancer is the method of apical meristem culture. The effectiveness of this technology depends on the number of initial explants that will be morphogenically active, successfully take root on the nutrient medium and regenerate into plants. The purpose of the work was to determine the effect of nutrient media and the size of grape apical meristems *in vitro* on their regeneration capacity. At work we used biotechnological, laboratory and statistical research methods were used to determine the survival rate, the level of regeneration of initial explants, the number of shoots formed, and the height of regenerated plants. The study was conducted

on microclones of grapes of the technical variety Cabernet Sauvignon clone 15. The survival rate of grape apical meristems *in vitro* was influenced by their size and composition of the nutrient medium. The most viable apical meristems were obtained from initial explants of 0.5–0.7 mm (30.0–56.0%) and 0.8–1.0 mm (33.0–58.0%). For their cultivation, a nutrient medium with a high content of vitamins and phytohormones should use (MS 2). Compared to the control (MS as prescribed), the number of shoots increased by 80.0% on MS 2 medium, shoot height by 65.7% for initial explants of 0.5–0.7 mm and by 53.8 and 55.0% for initial explants of 0.8–1.0 mm. The results of the statistical analysis proved the reliability of the obtained results and made it possible to determine the influence of each factor on the obtained performance indicators. The survival rate of apical meristems, the number of regenerated shoots, and their height were most influenced by factor A (composition of the nutrient medium) – 39.6–54.4%, and the level of apical meristem regeneration was most influenced by factor B (size of apical meristems) – 38.5–52.9%.

Key words: initial explants, nutrient medium, viability, level of regeneration, regenerating plants, number of shoots, height of shoots.

Постановка проблеми. Багато хвороб, таких як вірусні, фітоплазмові, грибні та бактеріальні уражають виноградну рослину і наносять значний збиток врожаю, зменшують тривалість експлуатації та продуктивність виноградних насаджень. Природно-кліматичні умови півдня України сприятливі для адаптації збудників хвороб, тому й імовірність розповсюдження їх дуже висока.

Виробництво сертифікованого садивного матеріалу винограду в Україні передбачає відсутність ураження лози та щеплених саджанців винограду вірусами коротковузля, мозаїки резухи, першим, третім серотипами вірусу скручування листя, вірусом мармуровості, вірусами А, В винограду та контроль на відсутність фітоплазмової інфекції і бактеріального раку [9].

Одним із способів отримання рослин винограду, вільних від вірусних, мікоплазмових хвороб та бактеріального раку є метод культури апікальних меристем [12]. Його використання для оздоровлення рослин засновано на тому принципі, що у напрямку до верхівки пагону вміст збудників хвороб зменшується. Апікальна меристема зазвичай вільна від бактерій, вірусів та фітоплазм. Вона являє собою конус клітин, що активно діляться висотою 0,1–1,0 мм [3].

Ефективність технології культивування апікальних меристем залежить від того, яка кількість ініціальних експлантів буде морфогенно активною, успішно приживатися на поживному середовищі та регенерувати у рослини *in vitro* з високим коефіцієнтом розмноження [1]. Одержання таких експлантів залежить від їх розмірів та складу поживного середовища для культивування [7]. Слід зазначити, що наукових праць щодо культивування апікальних меристем *in vitro* винограду, серед вітчизняних і зарубіжних науковців дуже мало, а окремі питання, експериментальні дані, висновки залишаються дискусійними.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Метод культивування апікальних меристем *in vitro* у рослинництві найчастіше використовують для отримання якісного насінневого та садивного матеріалу. Меристемні методи – це біотехнологічні процеси ізолювання, регенерації та культивування рослин *in vitro* для звільнення від патогенних, контамінуючих мікроорганізмів, які широко використовують для отримання однорідного генетичного матеріалу рослин впродовж короткого періоду часу, у промислових кількостях [5].

Демчук І. В. та Зарицький М. М. на основі результатів багаторічної роботи по оздоровленню картоплі від вірусних хвороб дійшли висновку, що тільки апікальні меристеми розміром до 100 мкм дають близько 50% безвірусних регенерантів, але експланти такого розміру, дуже погано приживаються на поживних середовищах. Тому у практичній роботі вони рекомендують використовувати верхівкові, пазушні меристеми розміром 100–300 мкм [2]. Шпак В. А. також стверджує, що морфогенетична здатність експланта залежить від його розмірів. Якщо апікальна меристема малих розмірів, то вона слабше проявляє здатність до органогенезу, при цьому існує можливість генетичної нестабільності. Якщо експлант великих розмірів генетична стабільність вища, але більша ймовірність наявності вірусу в його клітинах [10].

Мацкевич В. В., Філіпова Л. М., Мацкевич Ю. В. при оновленні протоколу отримання безвірусного садивного матеріалу суниці садової вказують на необхідність використання у якості ініціальних експлантів апікальних меристем (особливо якщо донори експлантів містять збудників хвороб). Для їх успішного культивування вони рекомендують використовувати поживне середовище МС (Мурасіге і Скуга) зі зменшенням вмістом макросолей (1/3), сполук кальцію, хелатних комплексів заліза та додавати фітогормони різної активності: 6-БАП (6-бензиламінопурин), аденін, кінетин в однаковому співвідношенні [5].

Олійник О. О., Ключаваденко А. А., Мельничук М. Д. у своїх дослідженнях показали, що троянда ефіроолійна також добре розмножується *in vitro* за використання у якості ініціальних експлантів апікальних меристем вегетативних бруньок. Проте автори роботи довели, що для різних сортів необхідно індивідуально підбирати поживні середовища [6]. Ці автори також вивчали вплив різних розмірів меристемних експлантів та модифікацій поживних середовищ для отримання безвірусного матеріалу хмелю. Показано, що для активізації регенераційних процесів меристем та подальшого росту мікропагонів доцільно використовувати ініціальні експланти розміром 400–550 мкм, які слід культивувати на поживному середовищі МС з вмістом 6-БАП у концентрації 1,0–1,5 мг/л (у залежності від сорту) та ГК₃ (гіберелова кислота) у концентрації 1,0 мг/л [4].

Отже, вищенаведений аналіз показує, що використання апікальних меристем, як

ініціальних експлантів для введення рослин в культуру тканин і органів *in vitro* має ряд переваг. Підвищується генетична однорідність матеріалу, відбувається оздоровлення рослин від вірусних та бактеріальних хвороб. Проте, залишається і низка питань, які потребують подальшого вивчення. Немає єдиної думки щодо оптимальних розмірів апікальних меристем (як з точки зору оздоровлення, так і з точки зору їх регенерації на поживних середовищах), типу і складу поживних середовищ для їх культивування. Крім того, наведені результати свідчать про видову і сортової специфічність, що передбачає встановлення оптимальних розмірів апікальних меристем та складу поживних середовищ для кожної культури і навіть сорту.

Наведений вище аналіз наукових праць свідчить про актуальність і своєчасність подальшого проведення таких досліджень у рослинництві загалом та сільськогосподарській практиці зокрема. Наукових праць, з даного напрямку, у виноградарстві дуже мало і це переважно роботи зарубіжних вчених.

Mostafa F. M. A., Shaaban M. M., Doaa S. Elazab and Kamel M. T. (Єгипет) для введення у культуру тканин і органів *in vitro* винограду сортів Конкорд (*Vitis lubrasca*), Томпсон безнасінний, Красуня безнасінна та Кінг Рубі (*Vitis vinifera*) у якості ініціальних експлантів використовували верхівкові меристеми. Їх культивували на поживному середовищі МС з додаванням 6-БАП та кінетину у кількості 1,0 мг/л та α-НОК у кількості 0,01 мг/л. Автори показали, що саме на цьому поживному середовищі приживлюваність ініціальних експлантів була найвищою (87,5–100%) протягом трьох пасажів, подальше пасажування знижувало цей показник. Проте автори не вказують які за розмірами верхівкові меристеми використовували для введення в культуру, а приживлюваність і подальший розвиток ініціальних експлантів, на різних поживних середовищах розглядали як результат впливу кількості проведених пасажів [13].

Sabbadini S., Capriotti L., Limera S., Navacchi O., Tempesta G., and Mezzetti B. (Італія) розробляли протоколи регенерації *in vitro* для сортів винограду – Глера, Верментіно, Санджовезе, Томпсон безнасінний, підщеп Польсен 1103 та Ріхтер 110, які передбачали застосування у якості ініціальних експлантів апікальні меристеми. Останні вводили в культуру тканин і органів *in vitro* з метою одержання калюсних культур [15]. Anca Butiuc-Keul, Ana Coste також вказують на необхідність використання культури апікальних меристем винограду з подальшим соматичним органогенезом, як альтернативу класичній селекції і виведення сортів винограду, стійких до біотичного та абіотичного стресу [11].

Nadra K., Maqsood A., Ishfaq H., Nadeem A., Shaghef E. and Muhammad A. (Пакистан) для отримання рослин-регенерантів сорту Кінг Рубі апікальні меристеми культивували на поживному середовищі МС, яке містило ГК₃ (0,1 мг/л), 6-БАП (1,0 мг/л), кінетин або гліцин. На такому поживному середовищі було отримано

рослини-регенеранти з більшою кількістю пагонів (5,33 шт.) та висотою (2,75 см). У подальшому їх використовували для одержання калюсних культур [14].

Отже, у виноградарстві переважна кількість наукових праць з питань культивування апікальних меристем *in vitro* спрямована, переважно, на одержання калюсних культур, регенерацію рослини з широкою генетичною варіабельністю, які використовуються для розширення різноманіття вихідного селекційного матеріалу. І практично відсутні дослідження щодо чинників впливу на регенераційний потенціал апікальних меристем у процесі мікроклонального розмноження та оздоровлення винограду.

Мета статті. Визначити вплив поживних середовищ та розмірів апікальних меристем винограду *in vitro* на їх регенераційну здатність.

Методика дослідження. Робота виконувалась у лабораторії культури винограду *in vitro* відділу розсадництва, розмноження і біотехнології винограду ННЦ «ІВіВ ім. В. Є. Таїрова» протягом 2021–2024 рр. Матеріалом для роботи були мікроклональні рослини сорту Каберне Совіньйон клон 15.

У культуру *in vitro* вводили апікальні меристеми (ініціальні експланти) 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). Їх виділяли в стерильних умовах ламінарного боксу під бінокулярним мікроскопом і культивували на модифікованих поживних середовищах – МС 1, МС 2 та МС (стандарт) (табл. 1).

Поживні середовища розливали у культуральні ємності по 30 мл і автоклали при 1,0 атм. 15 хв.

Роботи, пов'язані з розмноженням рослин винограду в культурі тканин і органів *in vitro* здійснювали в асептичних умовах ламінарних та культивувальних боксів. Фізичні параметри культивування: температура 24–25 °С, 16-годинний фотоперіод, освітлення 2500–3000 лк., вологість повітря 60–70%

У роботі використовували біотехнологічні та статистичні методи досліджень [8]. Визначали приживлюваність ініціальних експлантів (%), рівень регенерації ініціальних експлантів (%), кількість утворених пагонів (шт.), їх висоту (мм). Достовірність отриманих результатів оцінювали за допомогою програми StatSoft Statistica.

Основні результати дослідження. Проведені спостереження показали, що на першому етапі культивування (2–3 тижні) частина меристем (45–70% залежно від розміру експланта), почала некротизувати і відмирала. На нашу думку відмирання апікальних меристем у процесі культивування, відбувалося і через пошкодження апікальних структур у процесі їх виділення. Ті меристеми, які залишилися давали початок розвитку мікропагонів.

Визначення показника приживлюваності апікальних меристем на досліджуваних поживних

Таблиця 1

Склад поживних середовищ, які використовували у роботі

Компоненти середовища	МС (стандарт)	МС 1	МС 2
	мг/дм ³		
Макроелементи			
NH ₄ NO ₃	1650,0	1650,0	1650,0
KNO ₃	1900,0	1900,0	1900,0
MgSO ₄ ·7H ₂ O	370,0	370,0	370,0
KH ₂ PO ₄	170,0	170,0	170,0
CaCl ₂	331,0	440,0	440,0
Хелат заліза			
FeSO ₄ ·7H ₂ O	27,8	27,8	27,8
Na ₂ ЭДТА	37,3	37,3	37,3
Мікроелементи			
H ₃ BO ₃	6,2	6,2	6,2
MnSO ₄ ·4H ₂ O	22,3	22,3	22,3
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	8,6	8,6	8,6
KJ	0,83	0,83	0,83
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0,25	0,25	0,25
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0,025	0,025	0,025
CoCl ₂ ·6H ₂ O	0,025	0,025	0,025
Вітаміни			
Тіамін-НCl	1,0	5,0	5,0
Піридоксин-НCl	1,0	5,0	5,0
Нікотинова кислота	1,0	5,0	5,0
Мезоінозит	75,0	100,0	100,0
Фітогормони			
6-БАП	0,1	1,0	1,0
ІОК	0,2	0,2	0,2
ГК ₃	–	1,0	0,5
Інші складові			
Сахароза	20000,0	20000,0	20000,0
Агар	7000,0	7000,0	7000,0

Таблиця 2

Регенераційна здатність та розвиток апікальних меристем сорту Каберне Совіньйон клон 15 на модифікованих поживних середовищах

Розмір ініціальних експлантів, мм	Рівень регенерації ініціальних експлантів, %	Кількість пагонів, шт.	Висота основного пагону, мм
МС 1			
0,2-0,4	32,0	1,0±0,05	3,8±0,2
0,5-0,7	51,0	1,6±0,08	5,0±0,3
0,8-1,0	56,0	1,8±0,08	5,6±0,3
МС 2			
0,2-0,4	36,0	1,4±0,06	4,1±0,6
0,5-0,7	56,0	1,8±0,09	5,8±0,6
0,8-1,0	62,0	2,0±0,09	6,2±0,7
МС (стандарт)			
0,2-0,4	29,0	0,8±0,05	3,0±0,4
0,5-0,7	35,0	1,0±0,06	3,5±0,5
0,8-1,0	42,0	1,3±0,07	4,0±0,5

середовищах показало, що найбільше життєздатних меристем було отримано з ініціальних експлантів, розміром 0,5–0,7 мм (30,0–56,0%) та 0,8–1,0 мм (33,0–58,0%). З ініціальних експлантів 0,2–0,4 мм життєздатних меристем було менше – їх кількість знаходилась на рівні 25,0–38,0% (рис. 1).

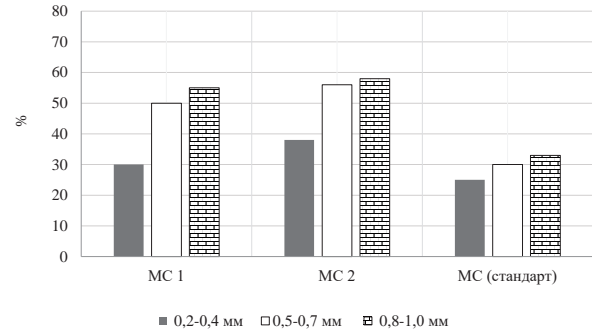


Рис. 1. Приживлюваність апікальних меристем винограду на модифікованих поживних середовищах

На приживлюваність апікальних меристем впливав і фітогормональний склад поживного середовища. На модифікованих поживних середовищах із підвищеним вмістом вітамінів (тіамін, піридоксин, нікотинова кислота, мезоінозит) і фітогормонів (6-БАП, ГК₃) приживалося на 20,0–22,0% (МС 1, крім апікальних меристем розміром 0,2–0,4 мм) та на 25,0–26,0% (МС 2) більше ініціальних експлантів, ніж на поживному середовищі МС (стандарт).

Через 70–80 діб культивування визначали ступінь регенерації апікальних меристем та проводили обліки їх розвитку. На основі отриманих результатів було встановлено наступне. Рівень прояву регенераційних процесів залежав від обох факторів – розмір ініціального експланту та гормональний склад поживного середовища. Найвищим він був після культивування апікальних меристем на поживному середовищі МС 2. Апікальні меристеми розміром 0,2–0,4 мм характеризувалися рівнем регенерації 36,0%, що на 7,0% більше за аналогічний варіант на МС (стандарт); апікальні меристеми розміром 0,5–0,7 та 0,8–1,0 мм характеризувалися рівнем регенерації 56,0 та 62,0%, що на 21,0–22,0% більше за стандарт (табл. 2).

На поживному середовищі МС 1 рівень регенерації апікальних меристем збільшувався порівняно з варіантами МС (стандарт) на 3,0 (0,2–0,4 мм), 16,0 (0,5–0,7 мм) та 14,0 (0,8–1,0 мм)%.

Протягом періоду культивування апікальних меристем відбувалося формування основних пагонів. Відмічено, що на МС (стандарт) апікальні меристеми давали початок, у середньому, 1,0 пагону висотою 3,5 мм. На МС 1 та МС 2 апікальні меристеми найменших розмірів давали початок 1,2 шт. пагонів висотою 3,9 мм.

Апікальні меристеми розміром 0,5–0,7 мм на МС 1 формували по 1,6 пагонів, висотою 5,0 мм,

на МС 2 – відповідно по 1,8 шт. пагонів, висотою 5,8 мм. Апікальні меристеми розміром 0,8–1,0 мм на МС 1 формували по 1,8 шт. пагонів висотою 5,6 мм, на МС 2 – відповідно по 2,0 пагони, висотою 6,2 мм.

Порівняно зі стандартним МС на середовищі МС 2 ці показники збільшувалися на 75,0 (кількість пагонів) і 36,6 (висота пагонів)%, для ініціальних експлантів розміром 0,2–0,4 мм, на 80,0 і 65,7% для ініціальних експлантів розміром 0,5–0,7 мм та на 53,8 і 55,0% для ініціальних експлантів розміром 0,8–1,0 мм. На МС 1 так само відмічали збільшення цих показників. Відповідно на 28,5 і 7,3% (для ініціальних експлантів розміром 0,2–0,4 мм), на 11,1–13,7% (для ініціальних експлантів розміром 0,5–0,7 мм) та на 10,0–9,6% (для ініціальних експлантів розміром 0,8–1,0 мм).

Оскільки вищенаведені дослідження проводились уперше, було проведено двохфакторний дисперсійний аналіз отриманих результатів (табл. 3).

Основними чинниками впливу на результативні показники (приживлюваність апікальних меристем, рівень регенерації апікальних меристем, кількість регенованих пагонів, висота регенованих пагонів) були: чинник А – тип поживного середовища, чинник Б – розмір апікальних меристем.

У результаті аналізу було отримано фактичні значення критерію Фішера, які порівнювали з табличними величинами. Для чинників А і Б отримані величини критерію Фішера дорівнювали 5821,86 (чинник А), 4121,68 (чинник Б) – за показником приживлюваності апікальних меристем, 420,78 (чинник А) і 562,17 (чинник Б) – за показником рівня регенерації апікальних меристем, 166,47 (чинник А) і 145,34 (чинник Б) – за показником кількості регенованих пагонів та 430,95 (чинник А) і 335,75 (чинник Б) – за

показником висоти регенованих пагонів, за табличного їх значення 3,55. Отже, $F_{\text{факт.}}$ за всіма показниками було більшим за $F_{\text{теор.}}$. Звідси робимо висновок, що обидва чинники достовірно впливали на результативні показники, як окремо, так і при їх взаємодії (за виключенням показника кількості регенованих пагонів).

Даний метод статистичного аналізу дозволив встановити частку впливу кожного чинника з загальної їх сукупності на прояв результативних показників. Доведено, що вплив обох чинників був достатньо високим і знаходився на рівні 39,6–54,4% (чинник А) та 38,5–52,9% (чинник Б) від загальної 100% сукупності. Для всіх показників, крім прояву рівня регенерації, найбільший вплив мав чинник тип поживного середовища. Прояв регенераційних властивостей апікальних меристем у більшій мірі залежав від їх розмірів.

Висновки. На основі експериментальних досліджень встановлено, що найвищим регенераційним потенціалом *in vitro* характеризувалися апікальні меристеми мікроклонів винограду сорту Каберне Совіньйон клон 15 розміром 0,5–1,0 мм після культивування на поживному середовищі МС із підвищеним вмістом фітогормонів (1 мг/л 6-БАП, 0,5 мг/л ГК) та вітамінів. Їх приживлюваність знаходилась на рівні 56,0–62,0%, вони формували по 1,8–2,0 шт. пагонів, висотою 5,8–6,2 мм.

Результати статистичного аналізу довели достовірність отриманих результатів та дали змогу встановити вплив кожного чинника на отримання результативних показників. На показники приживлюваності апікальних меристем, кількість регенованих пагонів, їх висоту найбільший вплив мав чинник А (склад поживного середовища) – 39,6–54,4%, на прояв рівня регенерації апікальних меристем – чинник Б (розмір апікальних меристем) – 38,5–52,9%.

Таблиця 3

Результати дисперсійного аналізу

Джерело варіації	Сума квадратів	Ступені свободи	Дисперсія	$F_{\text{факт.}}$	р-знач.	Вплив чинників, %
Приживлюваність апікальних меристем, %						
Чинник А	2220,93	2	1110,467	5821,86	0,000	54,4
Чинник Б	1572,34	2	786,174	4121,68	0,000	38,5
Чинник А*Чинник Б	287,30	4	71,826	376,56	0,000	7,0
Похибка	3,43	18	0,191			0,1
Рівень регенерації апікальних меристем, %						
Чинник А	1365,20	2	682,601	420,78	0,000	39,6
Чинник Б	1823,93	2	911,967	562,17	0,000	52,9
Чинник А*Чинник Б	229,24	4	57,310	35,32	0,000	6,6
Похибка	29,20	18	1,622			0,9
Кількість регенованих пагонів, шт.						
Чинник А	2,12	2	1,063	166,47	0,000	51,0
Чинник Б	1,85	2	0,928	145,34	0,000	44,5
Чинник А*Чинник Б	0,07	4	0,018	2,82	0,055	1,7
Похибка	0,11	18	0,006			2,8
Висота регенованих пагонів, мм						
Чинник А	15,64	2	7,821	430,95	0,000	52,6
Чинник Б	12,18	2	6,093	335,75	0,000	41,0
Чинник А*Чинник Б	1,61	4	0,402	22,19	0,000	5,4
Похибка	0,32	18	0,018			1,0

Література

1. Андрієвський В. В., Врублевський А. Т., Мацкевич В. В., Мацкевич О. В. Проблеми мікроклонального розмноження фундука. *Агробіологія*. 2019. № 1. С. 74–84. doi: 10.33245/2310-9270-2019-146-1-74-84

2. Демчук І. В., Зарицький М. М. Проблеми оздоровлення картоплі методами біотехнології. *Вісник Сумського національного аграрного університету*. 2012. Випуск 2 (23). С. 179–194.

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

4. Ключаденко А. А., Мельничук М. Д. Особливості клонального мікророзмноження хмелю (*HUMULUS LUPULUS* L.) на безвірусній основі. *Науковий вісник Ужгородського університету. Серія Біологія*. 2007. Випуск 21. С. 218–224.

5. Мацкевич В. В., Філіпова Л. М., Мацкевич Ю. В. Розробка окремих елементів протоколу сталого росту та розмноження суниці садової (*Fragaria ananassa* Duch.) в асептичних умовах. *Агробіологія*. 2023, № 2. С. 172–186. <https://agrobiologiya.btsau.edu.ua/uk/content/rozrobka-okremykh-elementiv-protokolu-stalogo-rostu-ta-rozmnozheniya-sunytsi-sadovoyi-fragaria>

6. Олійник О. О., Ключаденко А. А., Мельничук М. Д. Покращення складу живильних середовищ для пришвидшення росту і розвитку троянди ефірооїдної в культурі *in vitro*. *Науковий вісник НЛТУ України*. 2016. Вип. 26.7. С. 134–139. https://www.researchgate.net/publication/319628082_OPTIMIZATION_OF_CULTURE_MEDIA_CONTENT_FOR_ACCELERATION_OF_GROWTH_AND_CULTIVATION_OF_ROSA_DAMASCENA_MILL_IN_IN_VITRO_CULTURE

7. Подгаєцький А. А. Особливості мікроклонального розмноження видів рослин : монографія. Біла Церква : БНАУ, 2018. 209 с.

8. Сатарова Т. М., Абраїмова О. Є., Вінніков А. І., Черенков А. В. Біотехнологія рослин : навч. посіб. Дніпропетровськ, 2016. С. 11–57.

9. Система сертифікованого виноградного розсадництва України : монографія / В. В. Власов та ін. Київ : Аграрна наука, 2015. 288 с.

10. Шпак В. А. Вплив методів діагностики в добірї зразків картоплі в технології оздоровлення *in vitro*. *Екологічнобезпечні технології в рослинництві в умовах воєнного стану*: матер. Всеукраїнської наук.-практ. конф. (Київ-Сквира, 10 серпня 2022 року). 2022. С. 166–168.

11. Anca Butiuc-Keul, Ana Coste Biotechnologies and Strategies for Grapevine Improvement. *Horticulturae*. 2023 (9). P. 62. <https://doi.org/10.3390/horticulturae9010062>

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

13. Mostafa F. M. A., Shaaban M. M., Doaa S. Elazab and Kamel M. T. *In vitro* Propagation of Four Grape Cultivars. *Assiut J. Agric. Sci.* 2015 (46) No. (4). P. 65–76 http://www.aun.edu.eg/faculty_agriculture/arabic

14. Nadra Khan, Maqsood Ahmed, Ishfaq Hafiz, Nadeem Abbasi, Shaghef Ejas, Muhammad Anjum Optimizing the concentrations of plant growth regulators for *in vitro* shoot cultures, callus induction and shoot regeneration from calluses of grapes. *J. Int. Sci. Vigne Vin*, 2015 (49). P. 37–45.

15. Sabbadini S., Capriotti L., Limerá C., Navacchi O., Tempesta G., and Mezzetti B. A plant regeneration platform to apply new breeding techniques for improving disease resistance in grapevine rootstocks and cultivars : *BIO Web of Conferences 12, 01019 (2019). 41st World Congress of Vine and Wine.* <https://doi.org/10.1051/bioconf/20191201019>.

References

1. Andriievskiy, V. V., Vrublevskiy, A. T., Matskevych, V. V., Matskevych, O. V. (2019) Problemy mikroklonalnohorozmnozheniafunduka [The problems of hazelnut microclonal propagation]. *Ahrobiolohiia*. 1. 74–84. doi: 10.33245/2310-9270-2019-146-1-74-84. [in Ukrainian]

2. Demchuk, I. V., Zarytskyi, M. M. (2012) Problemy ozdovlennia kartopli metodamy biotekhnolohii [Problems of disease eradication systems for potato cultivars by biotechnological methods]. *Visnyk Sumskoho natsionalnoho ahrarnoho universytetu*. 2 (23). 179–194. [in Ukrainian] 1Vlasov, V. V. (Ed) (2015) Systema sertyfikovanoho vynohradnoho rozsadnytstva Ukrainy : monohrafiia [The system of certified grape nurseries of Ukraine: monograph] / ta in. Kyiv : Ahrarna nauka. [in Ukrainian]

3. Kyienko, Z. B., Kimeichuk, I. V., Matskevych, V. V. (2022) Mikroklonalne rozmnozhenia roslyn rodu *Actinidia* Lindl [Micropropagation of plants of the genus *Actinidia* Lindl.]. *Sortovyvchennia ta sortoznavstvo*. 18 (3). 220–229. <https://doi.org/10.21498/2518-1017.18.3.2022.269022> [in Ukrainian]

4. Kliuvadenko, A. A., Melnychuk, M. D. (2007) Osoblyvosti klonalnoho mikrorozmnozhenia khmeliu (*Humulus Lupulus* L.) na bezvirusnii osnovi [Ability of Micropagation of Hops (*Humulus Lupulus* L.) on Anvirus Basis]. *Naukovyi visnyk Uzhhorodskoho universytetu. Seriiá Biolohiia*. 21. 218–224. [in Ukrainian]

5. Matskevych, V. V., Filipova, L. M., Matskevych, Yu. V. (2023) Rozrobka okremykh elementiv protokolu staloho rostu ta rozmnozhenia sunytsi sadovoi (*Fragaria ananassa* Duch.) v aseptychnykh umovakh [Development of individual elements of a protocol for sustainable growth and propagation of garden strawberries (*Fragaria ananassa* Duch.) under aseptic conditions]. *Ahrobiolohiia*. 2. 172–186. <https://agrobiologiya.btsau.edu.ua/uk/content/rozrobka-okremykh-elementiv-protokolu-stalogo-rostu-ta-rozmnozheniya-sunytsi-sadovoyi-fragaria> [in Ukrainian]

6. Oliinyk, O. O., Kliuvadenko, A. A., Melnychuk, M. D. (2016) Pokrashchennia skladu zhyvylynykh seredovyshch dlia pryshvydshennia

rostu i rozvytku troiandy efirooliinoi v kulturi *in vitro* [Optimization of Culture Media Content for Acceleration of Growth and Cultivation of Rosa Damascena Mill. *in vitro* Culture]. *Naukovyi visnyk NLTU Ukrainy*. 26.7. 134–139. https://www.researchgate.net/publication/319628082_OPTIMIZATION_OF_CULTURE_MEDIA_CONTENT_FOR_ACCELERATION_OF_GROWTH_AND_CULTIVATION_OF_ROSA_DAMASCENA_MILL_IN_IN_VITRO_CULTURE [in Ukrainian]

7. Podhaietskyi, A. A. (2018) Osoblyvosti mikroklonalnoho rozmnozhennia vydiv roslin : monohrafiia [Peculiarities of microclonal propagation of plant species: monograph]. Bila Tserkva : BNAU. [in Ukrainian]

8. Satarova T. M., Abraimova O. Ye., Vinnikov A. I., Cherenkov A. V. (2016) Biotehnologiya roslin : navch. posib. [Biotechnology of plants]. Dnipropetrovsk. [in Ukrainian]

9. Vlasov, V. V. (Ed) (2015) Systema sertyfikovanoho vynohradnoho rozsadnytstva Ukrainy : monohrafiia [The system of certified grape nurseries of Ukraine: monograph] / ta in. Kyiv : Ahrarna nauka. [in Ukrainian]

10. Shpak, V. A. (2022) Vplyv metodiv diahnostyky v dobori zrazkiv kartopli v tekhnologii ozdorovlennia *in vitro* [The influence of diagnostic methods in the selection of potato samples in the technology of *in vitro* improvement]. *Ekolohobezpechni tekhnologii v roslinnytstvi v umovakh voiennoho stanu*: mater.

Vseukrainskoi nauk.-prakt. konf. (Kyiv-Skvyra, 10. 08. 2022). 166–168. [in Ukrainian]

11. Anca Butiuc-Keul, Ana Coste (2023) Biotechnologies and Strategies for Grapevine Improvement. *Horticulturae*. 9. 62. <https://doi.org/10.3390/horticulturae9010062>

12. Medzihradzky, 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 Patholog.* 12. 1748–1758. <https://doi.org/10.1111/mpp.12875>

13. Mostafa, F. M. A., Shaaban, M. M., Doaa, S. Elazab and Kamel, M. T. (2015) *In vitro* Propagation of Four Grape Cultivars. *Assiut J. Agric. Sci.*. 46. (4). 65–76 http://www.aun.edu.eg/faculty_agriculture/arabic

14. Nadra Khan, Maqsood Ahmed, Ishfaq Hafiz, Nadeem Abbasi, Shaghef Ejas, Muhammad Anjum (2015) Optimizing the concentrations of plant growth regulators for *in vitro* shoot cultures, callus induction and shoot regeneration from calluses of grapes. *J. Int. Sci. Vigne Vin*. 49. 37–45.

15. Sabbadini, S., Capriotti, L., Limerá, C., Navacchi, O., Tempesta, G. & Mezzetti B. (2019) A plant regeneration platform to apply new breeding techniques for improving disease resistance in grapevine rootstocks and cultivars : BIO Web of Conferences 12, 01019. 41st World Congress of Vine and Wine. <https://doi.org/10.1051/bioconf/20191201019>