

УДК: 581:143:6

Шита О.П., здобувач

Мацкевич В.В., д-р. с.-г. наук, доцент

Білоцерківський національний аграрний університет

[oksanashita@ukr.net](mailto:oksanashita@ukr.net), [vitroplant56@gmail.com](mailto:vitroplant56@gmail.com)

## ДЕКОНТАМІНАЦІЯ ПЕРВИННИХ ЕКСПЛАНТІВ *Prunus dulcis* (Mill.) D.A.Webb.

В даній роботі розглянуто методи запобігання самоінтоксикації продуктами окиснення, ефективній деконтамінації та збільшення відсотку морфогенних первинних деконтамінації первинних експлантів мигдалю солодкого *Prunus dulcis* (Mill.) D.A.Webb.

**Ключові слова:** мигдаль, контамінанти, фенолоподібні речовини, *in vitro*, первинні експланти, маточні рослини

Диверсифікацією традиційного землеробства є за інноваційних органічних біотехнологій, введення груп плодкових, горіхоплідних культур. Так, мигдаль є цінною горіхоплідною культурою, який вирощується в багатьох країнах для отримання мигдальних горіхів. При можливості вирощувати цю культуру в нашій країні майже весь він імпортується, приблизно 2,5 тон горіхів [1,2]. Для того щоб розширити великі площі під мигдалевими садами не вистачає високоякісного, безвірусного садивного матеріалу мигдалю вітчизняних сортів. Актуальним вирішенням цієї проблеми є дослідження і впровадження в виробництво технологій оздоровлення МКР з оптимальними детермінантами на усіх етапах процесу.

Успіх МКР залежить від усіх етапів. Стан рослинних об'єктів залежить від отриманих результатів на попередньому етапі, і чи відбудеться наступний ефект. На підготовчому та першому етапах є проблеми без вирішення яких не можливий етап мультиплікації та наступні. Це зокрема такі перешкоди:

- самоінтоксикація продуктами окиснення фенолоподібних речовин;
- переформатування детермінант на переходах рослинних об'єктів з одних умов в інші: закритий ґрунт (депозитарій) - *in vitro* - відкритий ґрунт;
- езо - та ендогенне контамінування.

При перенесенні донорів первинних експлантів в закритий ґрунт відбуваються перші зміни. При зменшенні інтенсивності освітлення змінюється спектр, стає майже відсутня його ультрафіолетова частина. Виділення продуктів окислення фенолоподібних речовин первинними експлантами корелюється на пряму інтенсивністю світла та його наявністю [3].

Зміна доноро-акцепторних відносин, відбувається при декапітації верхівок материнських рослин, при цьому втрачається апікальне домінування. Це призводить до зменшення синтезу ауксину верхівковою брунькою та пригнічення нею нижче розміщених бруньок [4].

Материнські рослини сортів Е-5 Борозан, М41 Алекс, Джорджия. Луїза вирощували в умовах закритого ґрунту з штучним мікрокліматом. Для культивування об'єктів *in vivo* використовували банки об'ємом 250 мл, де висаджували по одному експланту, згідно загальноприйнятих методик [5] та розроблених рекомендацій А.А. Подгаєцьким та В.В. Мацкевичем [6]. Культивування відбувалося при температурі  $24 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , інтенсивності *in vitro* 2.2 kLux. для об'єктів та фітоперіодом 8 год. темнота 16 год. освітлення. На етапі підготовки було використано комплекс заходів який був розроблений для фундука [7, 6]. Після того як рослини пробудилися провели декапітацію верхівок з метою пробудження бічних гілок. Раз на два тижні, від висадки рослин донорів до ізоляції первинних експлантів, проводилися фунгіцидні обробки. Також регулярно в «депозитарії» проводилися обробки від переносників вірусів та інших збудників рослин.

Для деконтамінації використані були як основні так і допоміжні агенти. Серед основних є: гіпохлорид натрію, препарат Бланідас 300, етанол, та допоміжних Превікур® Енерджи 840 SL, гентаміну сульфат, хлорамфенікол, нітрат срібла, PPM (Plant Preservative Mixture).

Як основний деконтамінант PPM застосовувався для замочування в 33 % розчині, та як допоміжне шляхом додавання в середовище 2,5 мл.

За кількістю неінфікованих експлантів визначали ефективність процесу деконтамінації ( $E_1$ ) після стерелізації (с) у відсотках до вихідної кількості експлантів, що стерелізувалися (S):  $E_1 = (c / s) \times 100\%$ .

За кількістю деконтамінованих експлантів визначали кількість морфогенних експлантів ( $E_m$ ) в яких розпочався морфогенез (м) після стерилізації у відсотках вихідної кількості експлантів, які стерилізувалися (S):  $E_m = (m / s) \times 100\%$ .

В якості первинних експлантів вичленяли: з пагонів сортових рослин – пагонові живці, меристеми та бруньки, із насіння пагони проростків. З маточних рослин зрізали пагони для виведення із стану спокою та поміщали на добу в розчин гіберелінів: суміш ГК 4+7 (75% ГК 4 і 18% ГК 7) і 0,75 мг/л ГК3, препарату Гібб плюс (Gibb plus, (Глобалхем Н.В. [8]) діюча речовина 0,75 мг/л.

Спостереження дослідів в чотирикратній повторності. На першому етапі кількість вибірок *in vitro* – 50 рослинних об'єктів (регенеративних експлантів). На наступному етапі *ex vitro* – одне повторення, одне теплична касета з рослинами. Кращий варіант був в основі наступного досліді. Мигдалю властиве менше фенолутворення порівняно з низками інших культур [9]. Для висадки первинних експлантів взяли 5 класичних прописів живинного середовища (QL, NAM, DKW, NRM, MS ). Розчин гіпохлориту натрію використовували як деконтамінант.

Нами було встановлено що крім підготовки донорів експлантів, які виділяли фенолоподібні речовини, а також за складом живильних середовищ, які мали різну кількість елементів живлення. Вагомий вплив мали елементи живлення різних за складом живильних середовищ. Експлантів із фенолоподібним ексудатом найменше було на середовищах NPM та NAM.

Нітроген і сульфур впливали на утворення «фенольних плям». Високий уміст нітрогену збільшує проникність мембран та вивільнення фенолоподібних речовин [10, 3]. Високий уміст сульфору є однією з причин пролонгованого підкислення середовища а відповідно й збільшення проникності цитоплазматичних мембран та оболонки [7, 10].

Виділення фенолоподібного ексуданту залежало від біологічних особливостей сортів.

Для подальших досліджень було обрано середовище NAM а в якості первинних експлантів бруньки з материнських рослин вирощених в умовах депозитарію. Кращим деконтамінантами були: основний Бліданс 300 та допоміжний РРМ.

За виходом деконтамінованих експлантів (E<sub>1</sub>) та морфогенних (E<sub>m</sub>) серед варіантів: живець що являв собою частину зеленого пагона, брунька, пагін проростака, меристема найвища ефективність деконтамінації (понад 90 %) встановлена у варіантах з використанням в якості первинних експлантів пагона проростка ядра та меристем. Однак у разі використання проростків втрачається генетична константність сорту. Застосування меристем порівняно з іншими варіантами поступалися за кількістю морфогенних експлантів: від 8 % до 17 % при 81-91 % на контролі (пагонові живці). Проте застосування меристем як первинних експлантів може бути вимушеним і єдиним видом експлантів якщо за результатами діагностики материнських донорні рослини *in vivo* містять патогенну мікробіоту (віроїди, віруси, бактерії та ін.).

За порівняння деконтамінації експлантів в різні періоди вегетації встановили, що найбільша ефективність деконтамінації (83-93 %) та кращий показник морфогенності первинних експлантів (E<sub>m</sub>) був на варіанті, що передбачав вичленнення бруньок весною під час природнього пробудження маточних рослин в депозитарію.

**Висновок.** Для запобігання самоінтоксикації продуктами окиснення, ефективній деконтамінації та збільшення відсотку морфогенних первинних експлантів доцільно:

- вирощувати донори експлантів в депозитарії;
- для деконтамінації використовувати антисептик Бланідас 300 та біоцид РРМ;
- ізоляцію первинних експлантів проводити в період природнього.

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. На півдні України з'являться сади мигдалю української селекції URL : <https://kurkul.com/news/22365-na-pivdni-ukrayini-zyavlyatsya-sadi-migdalyu-ukrayinskoyi-selektsiyi>.

2. Науково-практичний семінар «Коли цвітуть мигдалеві сади. Реалії та перспективи розвитку промислових мигдалевих садів в Україні». URL : <https://osau.edu.ua/naukovo-praktychnyj-seminar-koly-tsvitut-mygdalevi-sady-realiyi-ta-perspektyvy-rozvytku-promyslovyh-mygdalevyh-sadiv-v-ukrayini/>.

3. Філіпова Л., Мацкевич В. Утворення регенерантами фенолподібних речовин під час перших субкультивувань залежно від умов та виду рослин. Вісник Львівського національного аграрного університету. Агрономія. 2013. №17(2).С.233-239.
4. Терек О.І., Пацула О.І. Ріст і розвиток рослин : навч. посібник. Львів : ЛНУ імені Івана Франка, 2011. 328 с.
5. Кушнір Г.П., Сарнацька В.В. Мікроклональне розмноження рослин. Теорія та практика. К., Наук. думка, 2005. 270 с.
6. Подгаєцький А.А., Мацкевич В.В., Подгаєцький А.А. Особливості мікроклонального розмноження видів рослин: монографія. Біла Церква: Білоцерківський національний аграрний університет, 2018. 209 с.
7. Мацкевич В.В. Мікроклональне розмноження видів рослин *in vitro* та їх постасептична адаптація. Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису: дис. д-ра с.-г. наук: 06.01.05. Суми, 2020. 478 с.
8. Регулятор росту рослин ГІББ ПЛЮС (GIBB PLUS) (ГЛОБАЛХЕМ Н.В.) : <https://superagronom.com/pesticidi-regulyatori-rostu/gibb-plyus-gibb-plus-id9185>
9. Matskevych V., Yukhnovskyi V., Kimeichuk I., Matskevych O., Shyta O. Peculiarities of determining the morphogenesis of plants *Corylus avellana* L. and *Prunus dulcis* (Mill.) D.A.Webb. *in vitro* culture. Folia Forestalia Polonica, Series A – Forestry. 2023. Vol. 65(1), 1–14.
10. Мацкевич В.В., Філіпова Л.М., Олешко О.Г. Фізіологія і біотехнологія рослин. БНАУ. 2022. 602 с.