

**ЗАСТОСУВАННЯ ПРИЙОМУ ЕТІОЛЯЦІЇ ЕКСПЛАНТІВ ВІНОГРАДУ
В КУЛЬТУРІ IN VITRO**

Н. М. ЗЕЛЕНЯНСЬКА, доктор сільськогосподарських наук,
заступник директора з науково–інноваційної діяльності,
<https://orcid.org/0000-0002-9303-8686>

О. І. ГОГУЛІНСЬКА, кандидат сільськогосподарських наук, старший науковий
співробітник, <https://orcid.org/0000-0003-3542-6143>

М. М. АРТЮХ, кандидат сільськогосподарських наук, старший науковий
співробітник, <https://orcid.org/0000-0002-4180-4588>

В. В. БОРУН, кандидат сільськогосподарських наук, старший науковий
співробітник, <https://orcid.org/0000-0002-3431-5612>

Національний науковий центр

*«Інститут виноградарства і виноробства імені В.Є. Таїрова» Національна
академія аграрних наук України*

E-mail: helena.kovb@gmail.com

[https://doi.org/10.31548/dopovid.3\(109\).2024.001](https://doi.org/10.31548/dopovid.3(109).2024.001)

***Анотація.** Мікророзмноження винограду використовують для отримання вихідного та сертифікованого садивного матеріалу для закладання маточних насаджень. Зниження ефективності мікроклонального розмноження пов'язане з труднощами на етапах введення експлантів в культуру in vitro та укорінення. Прийом етіоляції є простим для застосування та дозволяє запобігти фенольному окисленню експлантів, позитивно впливає на збільшення довжини пагонів та кількості коренів. Метою досліджень було визначити ефективність застосування прийому етіоляції на етапах введення експлантів та укорінення мікрочубуків у культурі in vitro. Роботу виконували у лабораторії культури винограду in vitro відділу розсадництва, розмноження та біотехнології винограду ННЦ «ІВіВ ім. В. Є. Таїрова» за загальноприйнятою методикою на столових, технічних та підщепних сортах винограду. Прийом етіоляції застосовували на двох етапах: введення ініціальних експлантів винограду в культуру in vitro (протягом 7, 15 та 25-и діб) та укорінення мікрочубуків винограду (протягом 7 та 15-и діб). Визначали приживлюваність та проліферацію експлантів, основні біометричні показники росту та розвитку мікроклонів. Встановили, що на етапі введення ініціальних експлантів винограду в культуру in vitro застосування прийому етіоляції протягом 15 діб, а на етапі мікророзмноження – протягом 7 діб позитивно впливало на приживання, проліферацію пазушних бруньок та подальший розвиток експлантів та мікрочубуків. Висота стебла дослідних мікроклонів була більшою на 0,6-2,6 см, а кількість листків на 0,4-0,9 шт., ніж у контрольних рослин. Також етіоляція позитивно впливала на збільшення довжини та біомаси коренів у мікрочубуків.*

Зеленянська Н.М., Гогулінська О.І., Артюх М. М., Борун В.В.

*У подальшому планується проаналізувати зміни коефіцієнту розмноження *in vitro* різних сортів винограду під впливом етіоляції.*

Ключові слова: виноград, етіоляція, ініціальні експланти, мікрочубуки, приживання, проліферація, довжина пагонів, корені

Актуальність. Мікроклональне розмноження *in vitro* є одним з найефективніших методів вегетативного розмноження рослин, оскільки незалежно від пори року дозволяє підвищити якість садивного матеріалу та обсяги його виробництва, а також забезпечує збереження і оздоровлення рослинного матеріалу. Мікророзмноження винограду використовується здебільшого для отримання вихідного і сертифікованого садивного матеріалу, вільного від вірусної та бактеріальної інфекції, для закладання маточних насаджень цінних сортів та клонів (Система ..., 2015; Yancheva et al.; 2018, Golino et al., 2017). В умовах культури *in vitro* на процеси розмноження та морфогенезу рослин впливає багато факторів – генотип, вік вихідної рослини, сезонність ізоляції та розмір вихідного експланта, гормональний та мінеральний склад живильного середовища, а також фізичні фактори – кислотність середовища, умови освітлення, температурний режим та відносна вологість повітря (Зеленянская, 2009; Biotechnology of..., 2020).

Зниження ефективності мікроклонального розмноження переважно пов'язане з труднощами на

етапах введення експлантів в культуру *in vitro*, укорінення та адаптації рослин до нестерильних умов. Загибель експлантів унаслідок відсутності росту, виділення фенолів, розвитку калусу та вітрифікації може бути зменшена з допомогою різних технологічних прийомів, способів та методів інтенсифікації регенераційних процесів, зокрема впливу високих або низьких температур, етіоляції, застосування антиоксидантів, біологічно активних речовин на різних етапах мікроклонального розмноження (Péros et al., 1998; Torregrosa et al., 2000; Tasiy, 2012).

Прийом етіоляції (затемнення) є простим та доступним для застосування, але потребує уточнення та деталізації на кожному етапі для певного виду рослин, в тому числі і для винограду (Sharma et al., 1995).

Аналіз останніх досліджень та публікацій. Для винограду та багатьох інших рослин при введенні в умови *in vitro* характерною є фенольна інтоксикація експлантів, за якої у поживне середовище виділяються продукти вторинного обміну. Вони негативно впливають на клітинну проліферацію, пригнічують ріст та розвиток експлантів та загалом регенераційний потенціал рослин під

час тривалого субкультивування (Калинин, 1992; Скрипченко, 2009).

Для запобігання самоотруєння фенолами у поживне середовище додають гліцин, активоване вугілля, лимонну та аскорбінову кислоти, а також часто пересаджують експланти. Важливим є правильний підбір первинних експлантів та способів їх ізоляції з меншою площею ранової поверхні, а також видалення старих тканин, що відмирають (Singh et al., 2002; Подгаєцький та ін., 2018). Для деяких видів рослин на цьому етапі досліджували застосування прийому етіюляції, що запобігає фенольному окисненню експлантів, позитивно впливає на збільшення середньої довжини пагонів та коефіцієнт розмноження рослин (Anderson et al., 2017).

Власне, етіюляція – це зміни в будові рослини, яка росте в темряві, а саме відсутність продукування хлорофілу в тканинах (хлороз) та швидке подовження стебла, тобто видовження міжвузлів завдяки використанню запасних речовин. На світлі відбувається процес деетіюляції, під час якого пригнічується подовження стебла, розвиваються листки, утворюється хлорофіл та починається фотосинтез. Позитивний вплив етіюляції залежить від виду та сорту рослин. Етіюляція викликає ювенілізацію тканин рослин, сприяє запуску біохімічних процесів, які викликають швидке витягування пагонів, підвищує рівень

ендогенних ауксинів і запобігає їх розкладу під впливом світла, стимулює ріст та розтягування клітин, індукує закладку коренів (Smith, 1989; Marks, 1991). Наприклад, для покращення вкорінення проліферуючих мікропагонів яблуні їх розміщували у темряві, причому період етіюляції переривали кількадечним розміщенням на світлі (Zimmerman, 1983).

Для кращого приживання на етапі введення в культуру *in vitro* експланти винограду відбирали з пророщених у темряві пагонів. Загальний вміст фенолів та активність поліфенолоксидази були різко знижені в етіюльованих пагонах. Приживання етіюльованих експлантів було кращим, ніж неетіюльованих, також були виявлені сортові відмінності (Sharma et al., 1995).

Відомо, що прийом етіюляції застосовували для попередньої підготовки материнських рослин авокадо – їх витримували у темряві протягом 7 тижнів або за режиму – 12 год освітлення / 12 годин темрява та на етапі введення експлантів в культуру *in vitro* – протягом 15 днів. Встановлено, що розміщення у темряві усувало фенолізацію експлантів, зменшувало утворення калусу та збільшувало кількість і висоту пагонів (Osorio et al., 2018).

Було досліджено вплив повної темряви порівняно з фотоперіодом 16/8 на здатність до коренеутворення *in vitro* мікропагонів *Acacia mangium*

ювенільного та зрілого походження. Ризогенез мікропагонів значно збільшувався під впливом темряви при культивуванні на поживному середовищі з ауксинами, однак для мікропагонів ювенільного походження стимулюючий ефект темряви в поєднанні з ІОК (індолілоцтова кислота) проявлявся в короткий період (Monteuuis, Bon, 2000).

Для отримання меристем винограду з метою подальшої їх генетичної трансформації пророщені апікальні меристеми витримували 4 тижні у темряві при 25°C (Gray, 2008).

Таким чином, щоб підвищити морфогенетичний потенціал експлантів у культурі *in vitro* та здатність їх до регенерації, необхідно підібрати індивідуальні умови культивування для кожного досліджуваного генотипу, застосовуючи інноваційні для виноградарства прийоми культивування.

Мета досліджень – визначити ефективність застосування прийому етіюляції на етапі введення експлантів та укорінення мікрочубуків у культурі *in vitro* для вдосконалення технології мікроклонального розмноження винограду. **Завданням дослідження** було встановити вплив різної тривалості етіюляції на ініціальні експланти та мікрочубуки, зокрема, на їх показники росту та розвитку.

Матеріали і методи досліджень.

Роботу виконували у лабораторії культури винограду *in vitro* відділу розсадництва, розмноження та біотехнології винограду ННЦ «ІВіВ ім. В. Є. Таїрова» протягом 2021-2022 рр. Дослідження на етапі введення ініціальних експлантів винограду в культуру *in vitro* проводили на столових сортах винограду Таїрян та Персей, на технічному сорті Загрей та підщепному Гарант. На етапі укорінення мікрочубуків використовували столові сорти винограду Аркадія, Одісей, технічні - Каберне Совінйон, Ярило, Ароматний, Загрей та підщепний сорт Добриня.

Введення в культуру *in vitro* та вирощування мікроклонів здійснювали за загальноприйнятою методикою (Зеленянська, 2009). Культивування експлантів проводили у культуральному боксі при температурі 25-27°C, освітленні 2000-2500 люкс фотоперіод 12 год, вологості повітря 60-70%. Кількість повторностей у кожному досліді – 2, кількість чубуків у кожному варіанті 15-20 шт.

Прийом етіюляції застосовували на двох технологічних етапах: введення ініціальних експлантів винограду в культуру *in vitro* (дослід 1) та укорінення мікрочубуків винограду в культурі *in vitro* (дослід 2).

Дослід 1: Варіант 1.1 – етіюляція протягом 7-и діб;

Варіант 1.2 – етіюляція протягом 15-и діб;

Варіант 1.3 – етіюляція протягом 25-и діб;

Варіант 1.4 – без етіюляції (контроль).

У всіх варіантах поживне середовище містило 0,5 мг/л 6-БАП (6-бензиламінопурин).

Дослід 2: Варіант 2.1 – етіюляція протягом 7-и діб;

Варіант 2.2 – етіюляція протягом 15-и діб;

Варіант 2.3 – без етіюляції (контроль).

У всіх варіантах поживне середовище містило 0,25 мг/л ІОК.

При проведенні досліджень визначали: приживлюваність ініціальних експлантів та інтенсивність проліферації пазушних бруньок експлантів, % (через 7, 15 та 30 діб), довжину пагонів та коренів, см, кількість листків та коренів, шт., площу листової поверхні, см², біомасу коренів та пагонів, г (через 65-75 діб).

Розробка схем та закладання дослідів проводили у відповідності до загальних методологічних принципів «Методики польового досліджу» Б. О. Доспехова (1985), отримані результати обробляли методом варіаційної статистики і прикладним пакетом програм Microsoft Excel.

Результати досліджень та їх обговорення. *Етап введення ініціальних експлантів винограду в культуру in vitro.* На даному етапі основними проблемами є затримка проліферації вічок експлантів, їх фенольне окислення, некроз тканин. Застосування прийому етіюляції дозволяє запобігти цим явищам та покращує приживання та розвиток експлантів (рис. 1).

Встановили, що у контрольному варіанті на 30-у добу після введення приживалось у середньому 60,9% експлантів сорту Персей, 45,5 % експлантів сорту Гарант (показники низькі через некроз тканин експлантів), 83,3 % експлантів сорту Таїрян, 70,0 % експлантів сорту Загрей (рис. 2). Проліферація пазушних вічок експлантів розпочиналась на 5-7 день та досягала масовості на 20-30 день. На цей час найвищі показники проліферації відмічали у сорту Персей – у 75,0 % експлантів, а найнижчі – у сорту Гарант – у 27,3 % експлантів. Розвиток коренів спостерігали у одиничних експлантів на 25-30-й день після висаджування. Слід зазначити, що у частини експлантів спостерігали ознаки некрозу та відмирання, а також фенольне окислення середовища навіть після успішної проліферації вічка, таке відмічено, зокрема, у 22,8 % експлантів сорту Персей, у 33,5 % експлантів сорту Таїрян та у 45,8 % експлантів сорту Гарант.

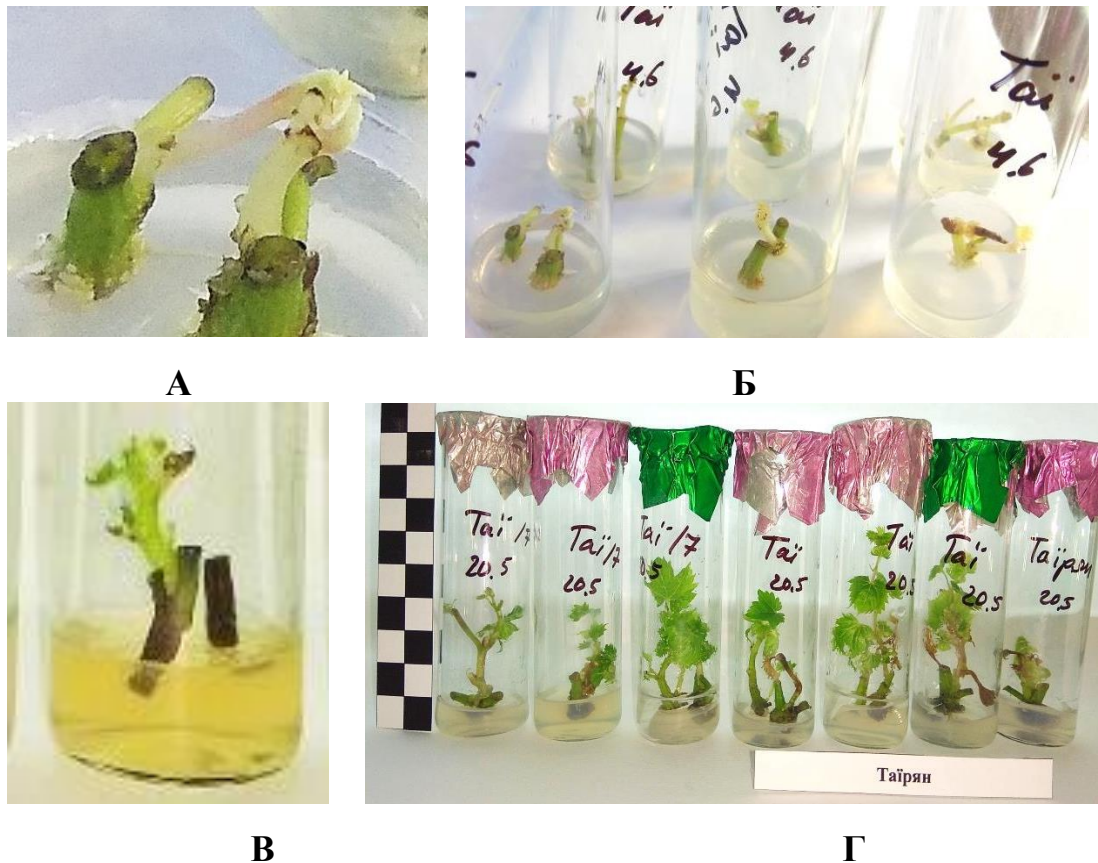


Рис. 1. Ведення винограду в культуру *in vitro*. А. Етіюльований експлант винограду сорту Таїрян (велике збільшення). Б. Проліферація етіюльованих експлантів винограду після етіюляції протягом 25 діб. В. Експлант винограду сорту Гарант з фенольним окисненням середовища. Г. Експланти винограду сорту Таїрян після етіюляції протягом 7 діб (зліва) та контрольні експланти (30 доба після висаджування).

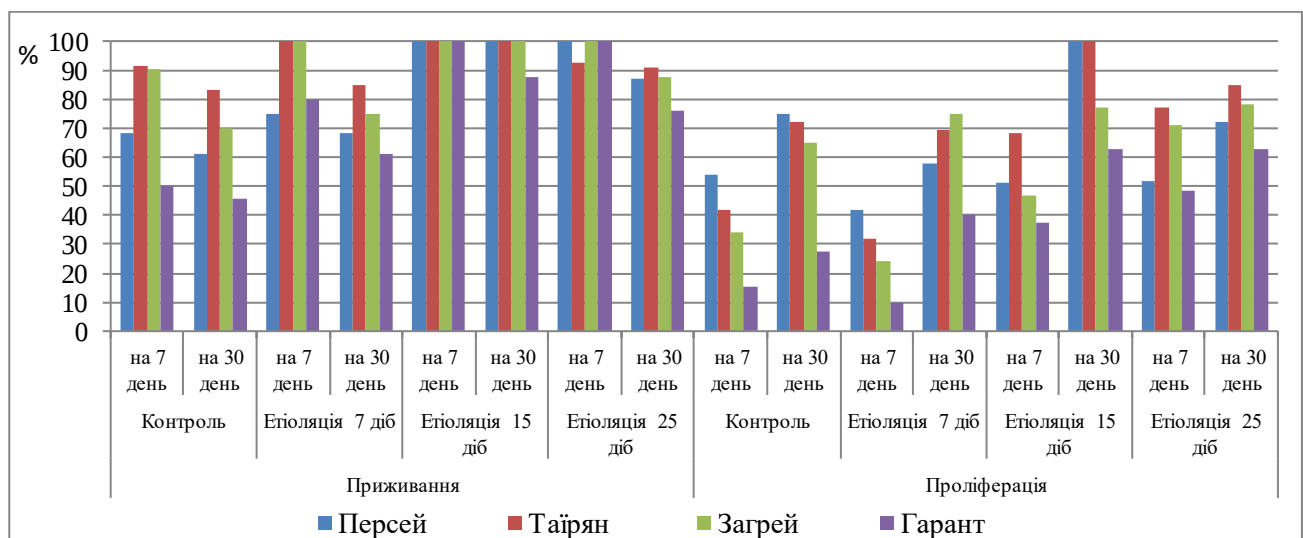


Рис. 2. Вплив тривалості етіюляції на приживання та проліферацію пазушних бруньок експлантів винограду

Після застосування прийому етіюляції тривалістю 7 діб у експлантів відмічено вищі, порівняно з контролем, показники приживання та проліферації експлантів сортів Таїрян (84,6-100,0 %) та Загрей (75-100 %), для інших сортів істотної різниці з контролем не відмічено. Етіюляція протягом 15-25-и діб також сприяла приживанню (до 87,5-100 %) та проліферації (до 50,0-76,9 %) експлантів усіх досліджуваних сортів винограду, також у окремих випадках на 7-15-у добу після висаджування спостерігали появу коренів.

Через 75 діб культивування проводили біометричні обліки росту та розвитку експлантів. Встановили, що найдовше стебло, найбільшу

кількість листків та коренів мали рослини після витримування експлантів у темряві протягом 15-и діб (рис. 3). Так, експланти сортів Таїрян та Персей добре розвивались, в середньому їх пагони мали висоту 4,2-4,3 см, що більше контролю на 13,2-16,7 %, листків було 4,6-4,7 шт., а коренів – 0,4-1,0 шт. У дослідних експлантів сорту Загрей розвивалися пагони довжиною 4,8 см, що перевищує контроль на 84,6 %, а кількість листків була більшою на 14,6 %, кількість коренів залишалася на рівні контролю. Експланти сорту Гарант за впливу етіюляції розвивались гірше, ніж на світлі, таку ж динаміку розвитку спостерігали і в подальшому.

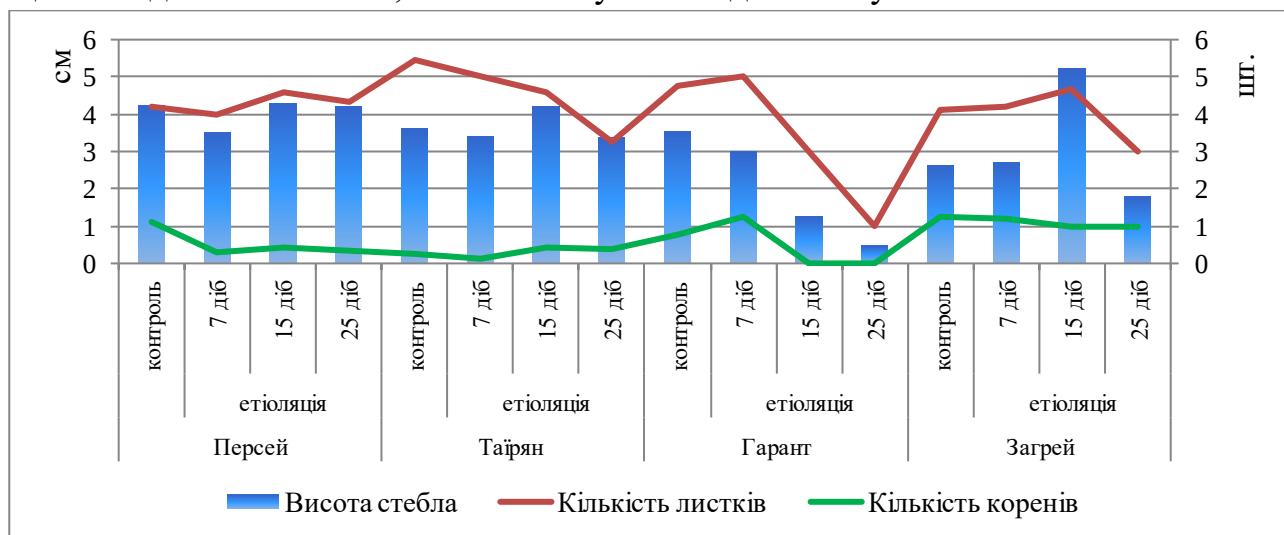


Рис. 3. Біометричні показники росту та розвитку експлантів винограду за різної тривалості етіюляції

Після проведення обліків експланти з розвиненими пагонами переносили на нове поживне середовище, доповнене ІОК. Через 2,5 місяці було відмічено більш рівномірний розвиток експлантів за всіма дослідними варіантами, лише

для сорту Загрей відзначено найінтенсивніший розвиток стебла (10,7 см) та коренів (4,3 шт.) у варіанті з етіюляцією тривалістю 15 діб (на етапі введення).

Етап укорінення мікрочубуків у культурі in vitro. На етапі

Зеленянська Н.М., Гогулінська О.І., Артюх М. М., Борун В.В.

чубукування чи власне мікророзмноження винограду частим випадком є затримка розвитку коренів та, як наслідок, розвитку мікроклону. Вирішенням проблеми є відбір чубуків для розмноження з середньої частини стебла рослини, індивідуальний для кожного сорту підбір вмісту та співвідношення фітогормонів у середовищі, що не є зручним в умовах масового розмноження. З огляду на це було досліджено вплив прийому етіюляції і на розвиток мікрочубуків винограду. Однак, після періоду етіюляції 15 діб у багатьох чубуків відмітили блідіше забарвлення листкової пластинки та затримку росту пагонів, тому згодом

від цього варіанту відмовилися. Найкращі результати отримали після застосування прийому етіюляції протягом 7 діб. Приживання чубуків було на рівні 69,2-85,0 %, проліферація вічка – 53,8-85,0%, а ризогенез відмітили у 69,2-100 % чубуків, що перевищувало контрольні показники. Появу корневих горбиків на базальному кінці чубуків спостерігали уже на 5-7-у добу після висаджування. Через 2,5 місяці культивування за показником висота стебла виділялись дослідні мікроклони сортів Одісей, Ароматний та Добриня, у яких порівняно з контрольними вказані величини були більшими на 12,9-29,8 % (табл. 1).

1. Показники росту та розвитку пагонів та листків мікроклонів винограду за впливу етіюляції протягом 7 діб

Сорт	Висота стебла, см	Кількість листків, шт.	Середній діаметр листків, см	Площа листків, см ²	Волога маса приросту, г	Суха маса приросту, г	Вміст води, %
Контроль							
Аркадія	6,2	6,4	1,9	21,4	0,417	0,055	86,8
Одісей	5,7	4,5	2,1	10,7	0,253	0,035	85,9
Каберне Совіньйон	8,2	7,3	1,4	14,5	0,328	0,039	88,2
Загрей	6,2	5,0	2,1	19,3	0,378	0,052	86,3
Ароматний	9,9	10,0	1,9	32,7	0,570	0,065	88,6
Ярило	10,8	7,6	2,3	31,2	0,682	0,081	88,1
Добриня	11,8	7,4	1,7	23,7	0,584	0,063	89,2
Етіюляція 7 діб							
Аркадія	6,6	5,6*	1,8	15,7*	0,392	0,052	86,8
Одісей	7,4*	6,3*	1,5*	13,4	0,288	0,040	86,0
Каберне Совіньйон	8,2	7,1	1,6	16,3	0,479*	0,060	87,5
Загрей	6,4	7,7*	1,8	20,6	0,282*	0,043	84,9
Ароматний	11,4*	10,5	1,7	24,2*	0,459	0,055	88,0
Ярило	10,2	8,4	1,8*	26,0*	0,559*	0,064	88,6
Добриня	14,3*	7,7	1,8	25,4	0,667*	0,077	88,4
НІР _{0,05}	1,53	1,08	0,29	3,36	0,07	0,03	

Кількість листків була більшою у дослідних мікроклонів сортів Одісей, Загрей, Ароматний та Ярило (на 10,5-54,0 %), однак діаметр листків та площа листової поверхні були меншими порівняно з контролем. Лише у мікроклонів сортів Каберне Совіньйон та Добриня цей показник був більшим, ніж у контрольних рослин на 7,2-12,4 %.

Біомаса приросту переважно була більшою у контрольних рослин, ніж у етіюльованих, за винятком сортів Каберне Совіньйон та Добриня. Однак, більшу біомасу коренів відмічено у дослідних мікроклонів (табл. 2). Так, наприклад, у технічних сортів (крім сорту Загрей) та у підщепного сорту Добриня маса коренів перевищувала контрольні значення на 20,1-23,0 %.

2. Показники росту та розвитку коренів мікроклонів винограду за впливу етіюляції протягом 7 діб

Сорт	Кількість коренів I порядку, см	Довжина коренів I порядку, см	Кількість коренів II порядку, шт.	Довжина коренів II порядку, см	Волога маса коренів, г	Суха маса коренів, г	Вміст води, %	Розмір ризогенної зони, мм
Контроль								
Аркадія	4,3	7,3	6,1	1,5	0,178	0,024	86,5	2,5
Одісей	3,8	6,8	1,2	0,8	0,116	0,013	88,8	2,0
Каберне Совіньйон	8,0	5,1	2,3	1,0	0,130	0,014	89,1	3,5
Загрей	3,8	4,0	2,3	0,8	0,102	0,014	86,3	1,7
Ароматний	5,2	5,6	4,4	1,3	0,152	0,019	87,5	2,5
Ярило	6,6	6,7	6,9	1,8	0,112	0,013	88,4	2,5
Добриня	8,1	5,6	4,2	2,7	0,654	0,066	89,9	3,8
Етіюляція 7 діб								
Аркадія	4,9	6,6*	2,2*	1,4	0,147	0,018	87,8	2,8
Одісей	4,3	5,8*	3,3*	1,6*	0,119	0,015	87,4	2,2
Каберне Совіньйон	8,9	3,9*	3,7*	1,3	0,186*	0,019	89,8	3,2
Загрей	5,0*	2,4*	1,9	0,9	0,107	0,013	88,1	2,0
Ароматний	6,9*	5,4	3,6	1,5	0,187	0,019	89,8	2,6
Ярило	6,1	5,1*	3,1*	1,4	0,173*	0,021	87,9	2,6
Добриня	8,4	4,9*	4,8	2,1*	0,786*	0,081	89,7	4,4*
НІР _{0,05}	1,00	0,67	1,13	0,50	0,05	0,02		0,46

Встановили, що кількість коренів I порядку у дослідних рослин винограду була більшою на 0,4-1,2 шт. залежно від сорту, а їх довжина була більшою у контрольних рослин на 0,2-1,6 см. За кількістю та

довжиною коренів II порядку виділялись мікроклони сортів Добриня, Каберне Совіньйон, Ароматний.

Найбільшу величину ризогенної зони – 4,4 мм визначили у дослідних

мікроклонів сорту Добриня, загалом, як і у дослідних рослин майже всіх сортів, що в поєднанні з іншими показниками розвитку кореневої системи підтверджує позитивний вплив прийому етіюляції на укорінення та розвиток мікрочубуків винограду.

Отримані результати узгоджуються з даними інших авторів. Введення попередньо пророщених у темряві лоз винограду сприяло приживанню експлантів винограду *in vitro* (Sharma, 1995). Також при пророщуванні *in vitro* експлантів орхідеї *Cattleya labiata* Anderson та інші дослідники (2017) виявили, що кількість проліферуючих пагонів та довжина сегмента стебла збільшувалась під впливом етіюляції.

Краще приживалися етіюльовані протягом 15 днів експланти авокадо, у них відмічено нижчий відсоток фенолізації. Також у етіюльованих експлантів розвивалися довші пагони (Osorio et al., 2018).

У наших дослідженнях відмічено, що маса пагонів та листків мікроклонів була більшою в умовах освітлення, у статті Anderson та ін. (2017) вказано, що загальна суха маса проростків орхідеї *Cattleya labiata* також зростала у рослин, розміщених на світлі. Кількість коренів у них була більшою, ніж у етіюльованих проростків. Укорінення *Acacia mangium* відбувалося швидше та кількість адвентивних коренів була більшою саме у темряві, ніж за

стандартних умов освітлення 16/8. З іншого боку, світло стимулювало подовження коренів (Monteuuis, Bon, 2000), ці результати узгоджуються з нашими.

Висновки і перспективи. Застосування прийому етіюляції протягом 15 діб на етапі введення ініціальних експлантів винограду в культуру *in vitro* позитивно впливало на їх приживання та подальший розвиток. Порівняно з контролем приживання експлантів збільшувалось на 1,3-10,0 %, а інтенсивність проліферації пазушних бруньок – на 1,9-22,7 % в залежності від сорту. Розвиток дослідних експлантів був кращим і після пересадки – висота стебла була більшою на 0,6-2,6 см, а кількість листків на 0,4-0,9 шт., ніж у контрольних рослин. На етапі мікророзмноження винограду оптимальним було застосування прийому етіюляції протягом 7 діб. В середньому по досліджуваних сортах показники приживання та проліферації збільшувалися на 4,2-12,5 % та на 3,4-10,8 % відповідно. Також етіюляція сприяла розвитку пагонів та коренів, позитивно впливала на збільшення довжини та біомаси коренів.

У наступній роботі планується проаналізувати зміни коефіцієнту розмноження різних сортів винограду за умови застосування етіюляції на різних етапах мікроклонального розмноження рослин, оскільки цей

прийом є ефективним для отримання більшої кількості життєздатних експлантів та мікроклонів винограду.

Список використаних джерел

1. Система сертифікованого виноградного розсадництва України: [монографія] / за ред. В.В. Власова. НААН України, Нац. наук. центр "Ін-т виноградарства і виноробства ім. В.Є. Таїрова". Київ: Аграр. наука, 2015. 287 с.
2. Yancheva S., Marchev P., Yaneva V., Roichev V. & Tsvetkov I. In vitro propagation of grape cultivars and rootstocks for production of pre-basic planting material. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*. 2018. Vol. 24(5). P. 801–806.
3. Golino D.A., Fuchs M., Sim S., Farrar K., Martelli G.P. Improvement of grapevine planting stock through sanitary selection and pathogen elimination. In book: *Grapevine Viruses: Molecular Biology, Diagnostics and Management*; Springer: Cham, Switzerland. 2017, Pp.561-579. DOI:10.1007/978-3-319-57706-7_27
4. Зеленянская Н.Н. Технология размножения винограда с использованием культуры тканей in vitro. *ВиноГрад*. 2009. № 3. С. 50-53.
5. *Biotechnology of fruit and nut crops* / edited by Richard E. Litz. Boston: CABI Publishing, 2020. 724 p. ISBN 9781780648293
6. Peros J.-P., Torregrosa L., Berger G. Variability among *Vitis vinifera* cultivars in micropropagation, organogenesis and antibiotic sensitivity. *J. of Experimental Botany*. 1998. Vol. 49, № 319. P. 171-179.
7. Torregrosa L., Bouquet A., Goussard P.G. In vitro culture and propagation of grapevine, In: Roubelakis-Angelakis K.A., (Ed.), *Molecular Biology and Biotechnology of Grapevine*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, 2000. Pp. 195–240. DOI:10.1007/978-94-017-2308-4_12
8. Tasiu Isah. Adjustments to in vitro culture conditions and associated anomalies in plants. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*. 2015. Vol. 57 (2). P. 9–28. DOI: 10.1515/abcsb-2015-0026
9. Sharma H.C., Sharma R.R., Goswami A.M. Effect of etiolation on polyphenol oxidase activity in shoots of grape and its subsequent in vitro survival. *Indian Journal of Horticulture*. 1995. Vol. 52 (2) P. 104-107. Print ISSN : 0972-8538.
10. Калинин Ф.Л., Кушнir Г.П., Сарнацька В.В. Технология микрклонального размножения растений. Киев: Наук. думка, 1992. 232 с.
11. Скрипченко Н.В. Динаміка вмісту фенольних речовин в пагонах актинїдії та регенераційна здатність при розмноженні. Вісник харківського національного аграрного університету. Серія «Біологія». 2009. Вип. 1 (16). С. 63–67.
12. Singh S.K., Khawale R.N., Singh S.P. Effect of season, type of explant and pre-treatments to minimize polyphenols exudation on in-vitro culture establishment in grape. *Indian Journal of Horticulture*. 2002. Vol. 59 (3). P. 233-238. Print ISSN : 0972-8538.
13. Подгаєцький А.А., Мацкевич В.В., Подгаєцький А.Ан. Особливості микрклонального розмноження видів рослин. Біла Церква: БНАУ, 2018. 209 с.
14. Anderson Antonio de Jesus Rodrigues, Santos Eder de Oliveira, Takane Roberto Jun et al. Artificial light and growth regulators on the in vitro etiolation of *Cattleya labiata*. *Rev. Ciênc. Agron*. 2017. Vol. 48 (2). P. 296-302. DOI: 10.5935/1806-6690.20170034
15. Smith D.L. Ethylene associated phase change from juvenile to mature phenotype of daylily. *Physiol. Plantarum*. 1989. Vol. 76. P. 466-473.
16. Marks T.R. Rhododendron cuttings. I. Improved rooting following 'rejuvenation' in vitro. *J. Hort. Sci*. 1991. Vol. 66. P.103-111.
17. Zimmerman R.H. Factors affecting in vitro propagation of apple cultivars. *Acta Hort*. 1983. Vol. 131. P. 171-178. DOI: 10.17660/ActaHortic.1983.131.19).
18. Osorio C.R., Velásquez F.A.G., Correal A.G., Torres B., Urrea A. In vitro propagation of avocado (*Persea americana* Mill.) cv. Hass through morphogenesis. *Acta Agronómica*. 2018. Vol. 67 (1). P. 160-167. DOI:10.15446/acag.v67n1.61474
19. Monteuuis O., Bon M. Influence of

auxins and darkness on in vitro rooting of micropropagated shoots from mature and juvenile *Acacia mangium*. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 2000. Vol. 63. P. 173-177. DOI:10.1023/A:1010611126950

20. Gray D., Li Z., Dutt M., Dhekney S. Transgenic plants from shoot apical meristems of *Vitis vinifera* L. "Thompson Seedless" via *Agrobacterium*-mediated transformation. *Plant Cell Reports*. 2008. Vol. 26 (12). P. 2101-10. DOI:10.1007/s00299-007-0424-6

References

1. Vlasov, V.V. (Ed.). (2015). System of certified grape nurseries of Ukraine. Kyiv: Agricultural science.

2. Yancheva, S., Marchev, P., Yaneva, V., Roichev, V. & Tsvetkov, I. (2018). In vitro propagation of grape cultivars and rootstocks for production of pre-basic planting material. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 24(5), 801–806.

3. Golino, D.A., Fuchs, M., Sim, S., Farrar, K., Martelli, G.P. (2017). Improvement of Grapevine Planting Stock Through Sanitary Selection and Pathogen Elimination.. In book: *Grapevine Viruses: Molecular Biology, Diagnostics and Management*. Springer: Cham, Switzerland. (pp.561-579) DOI:10.1007/978-3-319-57706-7_27

4. Zelenianskaia, N.N. (2009). Grape propagation technology using in vitro tissue culture. *Grape*, 2009, 50-53.

5. Litz, R.E. (Ed.). (2020). *Biotechnology of fruit and nut crops*. Boston : CABI Publishing. ISBN 9781780648293

6. Peros, J.-P. (1998). Variability among *Vitis vinifera* cultivars in micropropagation, organogenesis and antibiotic sensitivity. *J. of Experimental Botany*, 49 (319), 171-179.

7. Torregrosa, L., Bouquet, A., Goussard, P.G. (2000). In vitro culture and propagation of grapevine, In: Roubelakis-Angelakis K.A., (Ed.), *Molecular Biology and Biotechnology of Grapevine*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands. 195–240 DOI:10.1007/978-94-017-2308-4_12

8. Tasiu I. (2015). Adjustments to in vitro culture conditions and associated anomalies in plants. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*, 57/2, 9–28. DOI: 10.1515/abcsb-2015-0026

9. Sharma, H.C., Sharma, R.R., Goswami, A.M. (1995). Effect of etiolation on polyphenol oxidase activity in shoots of grape and its subsequent in vitro survival. *Indian Journal of Horticulture*, 52 (2), 104-107. Print ISSN : 0972-8538.

10. Kalynyn, F.L., Kushnyr, H.P., & Sarnatska, V.V. (1992). Technology of microclonal propagation of plants. Kyiv: Scientific thought.

11. Skrypchenko, N. V. (2009). Dynamics of the content of phenolic substances in actinidia shoots and regeneration capacity during reproduction. *Bulletin of Kharkiv National Agrarian University. Series "Biology"*, 1 (16), 63–67.

12. Singh, S.K., Khawale, R.N., Singh, S.P. (2002). Effect of season, type of explant and pre-treatments to minimize polyphenols exudation on in-vitro culture establishment in grape. *Indian Journal of Horticulture*, 59 (3), 233-238. Print ISSN : 0972-8538.

13. Podhaietskyi, A.A., Matskevych, V.V., Podhaietskyi, A.An. (2018). Peculiarities of microclonal propagation of plant species. Bila Tserkva: BNAU.

14. Anderson Antonio de Jesus Rodrigues, Santos Eder de Oliveira, Takane Roberto Jun et al. (2017). Artificial light and growth regulators on the in vitro etiolation of *Cattleya labiata*. *Rev. Ciênc. Agron.* 48 (2), 296-302. DOI: 10.5935/1806-6690.20170034

15. Smith, D.L. (1989). Ethylene associated phase change from juvenile to mature phenotype of daylily. *Physiol. Plantarum*, 76, 466-473.

16. Marks, T.R., (1991). Rhododendron cuttings. I. Improved rooting following 'rejuvenation' in vitro. *J. Hort. Sci.*, 66, 103-111.

17. Zimmerman, R.H. (1983). Factors affecting in vitro propagation of apple cultivars. *Acta Hort.*, 131, 171-178. DOI: 10.17660/ActaHortic.1983.131.19).

18. Osorio C.R., Velásquez F.A.G., Correal A.G., Torres B., Urrea A. (2018). In vitro propagation of avocado (*Persea americana* Mill.) cv. Hass through morphogenesis. *Acta Agronómica*, 67 (1), 160-167. DOI:10.15446/acag.v67n1.61474

19. Monteuiis, O., Bon, M. (2000). Influence of auxins and darkness on in vitro

Зеленянська Н.М., Гогулінська О.І., Артюх М. М., Борун В.В.

rooting of micropropagated shoots from mature and juvenile *Acacia mangium*. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.*, 63, 173-177.
DOI:10.1023/A:1010611126950

20. Gray, D., Li, Z., Dutt, M., Dhekney,

S. (2008). Transgenic plants from shoot apical meristems of *Vitis vinifera* L. "Thompson Seedless" via *Agrobacterium*-mediated transformation. *Plant Cell Reports*, 26(12), 2101-10. DOI:10.1007/s00299-007-0424-6

APPLICATION OF ETIOLATION OF GRAPE EXPLANTS IN VITRO CULTURE

N. M. Zelenyanska, O. I. Gogulinska, M. M. Artiukh, V. V. Borun

Abstract. Micropropagation of grapes is used to obtain original and certified planting material for planting mother plants. The decrease in the efficiency of microclonal reproduction is associated with difficulties at the stages of introducing explants into in vitro culture and rooting. The method of etiolation is simple to use and allows you to prevent phenolic oxidation of explants, has a positive effect on increasing the length of shoots and the number of roots. The purpose of the research was to determine the effectiveness of etiolation at the stages of introducing explants and rooting microcuttings in in vitro culture. The work was carried out in the laboratory of in vitro grape culture of the department of grape nursery, propagation and biotechnology of the National Scientific Centre «V.Ye. Tairov Institute of Viticulture and Winemaking» NAAS of Ukraine according to the generally accepted method on table, technical and grafted varieties of grapes. Etiolation was applied in two stages: introduction of initial grape explants into in vitro culture (for 7, 15, and 25 days) and rooting of grape microcuttings (for 7 and 15 days). The survival and proliferation of explants, the main biometric indicators of growth and development of microclones were determined. It was established that at the stage of introduction of initial explants of grapes into in vitro culture, the use of etiolation for 15 days, and at the stage of micropropagation - for 7 days, had a positive effect on rooting, proliferation of axillary buds and further development of explants and microcuttings. The height of the stem of the experimental microclones was 0.6-2.6 cm higher, and the number of leaves was 0.4-0.9 more than that of the control plants. Also, etiolation had a positive effect on the increase in the length and biomass of roots in microcuttings. In the future, it is planned to analyze changes in the in vitro reproduction coefficient of various grape varieties under the influence of etiolation.

Key words: grapes, etiolation, initial explants, microcuttings, survival, proliferation, shoot length, roots

How to Cite: Zelenyanska, N., Gogulinska, O., Artiukh, M., & Borun, V. (2024). Application of etiolation of grape explants in vitro culture. *Scientific Reports of NULES of Ukraine*, 0(3/109). doi:[http://dx.doi.org/10.31548/dopovidi.3\(109\).2024.001](http://dx.doi.org/10.31548/dopovidi.3(109).2024.001)