

# Зеленянська\_Стаття.docx

---

WORD COUNT

7329

TIME SUBMITTED

19-APR-2023 09:14AM

PAPER ID

98879385

## Вплив поживних середовищ на фізіологічні показники мікроклонів винограду

**Анотація.** Вирощування мікроклонів винограду за контрольованих умов *in vitro* призводить до морфо-фізіологічних змін, які негативно впливають на їх адаптацію до умов *in vivo*. Тому для успішної адаптації мікроклональних рослин необхідно: з одного боку забезпечити ряд оптимальних фізичних факторів, з іншого – рослини повинні перебувати у такому фізіолого-біохімічному стані, щоб поступово адаптувалися до неконтрольованих умов навколишнього середовища. Важливу роль у цьому процесі відіграють показники водного режиму та інтенсивності транспірації вегетативної маси (листки, пагони) мікроклонів. Метою роботи було визначити окремі фізіологічні показники мікроклонів винограду підщепних і технічних сортів за умов культивування на різних поживних середовищах *in vitro*; встановити їх вплив на приживлюваність мікроклонів в умовах *in vivo*. Контрольне поживне середовище Мурасіге-Скуга готували за прописом. У дослідних варіантах до Мурасіге-Скуга додавали біологічно активні препарати – Radifarm і Clonex gel та мінеральні субстрати – агроперліт, вермікуліт (структуровані поживні середовища). Отримані результати показали, що для оптимізації фізіологічних процесів у тканинах листків та пагонів мікроклонів винограду, підвищення їх приживлюваності в умовах *in vivo* доцільним є їх культивування *in vitro* на структурованих поживних середовищах (МС + агроперліт, МС + вермікуліт, МС + агроперліт + вермікуліт) із вмістом фітогормонів ІОК – 0,2 мг/л, і 6-БАП – 0,3 мг/л. Структуровані поживні середовища сприяли підвищенню водозатримуючої здатності та зниженню інтенсивності транспірації тканин листків і пагонів мікроклонів як технічних, так і підщепних сортів. Протягом 60 хв. досліджень у мікроклонів технічних сортів випаровувалось від 0,006 г до 0,034 г води, у мікроклонів підщепних сортів – відповідно від 0,003 г до 0,053 г. Інтенсивність транспірації (через 10 хв.) зменшувалась в 1,7 – 1,8 рази. На контрольному поживному середовищі Мурасіге-Скуга за відповідний проміжок часу рослини випаровували більшу кількість води: від 0,006 г до 0,079 г (технічні сорти) та від 0,008 г до 0,086 г (підщепні сорти); інтенсивність транспірації була вищою. Після культивування мікроклонів винограду на структурованих поживних середовищах вони характеризувалися більшим вмістом сухих речовин у тканинах листків і пагонів (14,6 – 15,0%) та кращими показниками приживлюваності в умовах *in vivo* (76,3 – 98,5%, при 58,5 – 65,2% у контролі). Достовірність отриманих результатів підтверджено результатами багатofакторного дисперсійного аналізу.

**Ключові слова:** *in vitro*, водозатримуюча здатність, інтенсивність транспірації, приживлюваність, фітогормони, біологічно активні препарати, мінеральні субстрати.

## The impact of nutrient medium on physiological parameters of grapevine microclones

**Abstract.** Controlled *in vitro* cultivation of grapevine microclones leads to their morpho-physiological changes. These changes affect negatively plant adaptation to *in vivo* conditions. It is necessary to provide a range of optimal physical factors, while the plants adapt to the uncontrolled conditions of the environment gradually. An important role in plant adaptation belongs to water content and transpiration intensity indicators of the vegetative mass (leaves, shoots) of microclones. The aim of the study was to determine certain physiological indicators of rootstock and wine-grape microclones under cultivation conditions in different nutrient media *in vitro*, and to establish their effect on the survival of microclones under *in vivo* conditions. The control nutrient medium Murashige-Skoog was prepared according to the protocol. Biologically active preparations, such as Radifarm and Clonex gel, and mineral substrates such as agropelite and vermiculite (structured

nutrient media) were added to the Murashige-Skoog in the experimental variants. The obtained results showed the expediency of grapevine microclones cultivation under *in vitro* conditions on structured nutrient media (MS + agropelrite, MS + vermiculite, MS + agropelrite + vermiculite) containing phytohormones IAA – 0.2 mg/L, and 6-BAP – 0.3 mg/L. It was necessary for optimization of physiological processes in tissues of leaves and shoots of grapevine microclones, and for increasing their adaptation to *in vivo* conditions. Structured nutrient media contributed to an increase in water-holding capacity and a decrease in transpiration intensity of tissues in leaves and shoots of wine-grape and grape-rootstock microclones. The wine-grape microclones had water evaporation varied from 0.006 g to 0.034 g, and the grape-rootstock microclones had the same indicator varied from 0.003 g to 0.053 g from microclones of rootstock varieties during 60 minutes of the research. Transpiration intensity (after 10 minutes) decreased by 1.7 – 1.8 times. The plants evaporated a larger amount of water: from 0.006 g to 0.079 g (wine-grape varieties) and from 0.008 g to 0.086 g (grape-rootstock varieties); transpiration intensity was higher in the control nutrient medium Murashige-Skoog, during the corresponding time interval. Grape microclones were characterized by higher levels of dry matter in the tissues of leaves and shoots and better survival rates under *in vivo* conditions after culturing on structured nutrient media. The levels of dry matter were (14.18–15.0%). The survival rates under *in vivo* conditions - 76,3 – 98,5%, at 58,5 – 65,2% - control. The validity of the obtained results was confirmed by the results of multifactorial dispersion analysis.

**Keywords:** *in vitro*, water-holding capacity

у, transpiration intensity, survival rate, phytohormones, biologically active substances, mineral substrates.

## Вступ

Сьогодні метод культури тканин і органів *in vitro* широко використовують у сільськогосподарській практиці для прискореного розмноження цінних генотипів. В основі цього методу лежить індукція органогенезу з ініціальної бруньки на штучних поживних середовищах в умовах стерильних культуральних приміщень. Цей процес відбувається в три та більше етапів: 1 – введення ініціальних експлантів в культуру *in vitro*; 2 – розмноження пагонів у культурі *in vitro*; 3 – одержання рослин із коренями та їх попередня адаптація до умов відкритого ґрунту; 4 – перенесення рослин в умови *in vivo* (Riabovol & Riabovol, 2019; Medvedieva, 2012).

Кінцевим етапом у цій технології є адаптація рослин до нестерильних, неконтрольованих умов довкілля. Саме на цьому етапі гине чи ушкоджується найбільша кількість рослин. Це пов'язано з тим, що в культурі *in vitro* рослини перебувають в умовах, які відрізняються від природних за багатьма фізико-хімічними параметрами: світловим, водним, температурним режимами, газовим складом повітря усередині культуральних ємкостей, консистенцією поживного середовища та ін. Культивування рослин *in vitro* у закритих культуральних ємкостях також передбачає дотримання режиму стерильності, певного газового середовища, забезпечує постійне підтримання відносної вологості повітря усередині ємкостей. Усе це в комплексі призводить до зміни перебігу багатьох морфо-фізіологічних процесів та функціональних змін рослин *in vitro*: вони характеризуються недорозвиненою восковою кутикулою листків, пошкодженим продишувим апаратом, слабкою фотосинтетичною активністю, вітрифікацією, слабким судинним зв'язок між коренем та пагоном, нерозгалуженою кореневою системою та недорозвиненими кореневими волосками (Gritsak & Drobuk, 2020). Тому для успішної акліматизації мікроклональних рослин до умов *ex vitro* необхідно з одного боку забезпечити ряд оптимальних фізичних факторів (відповідний субстрат, вологість повітря, вентиляція, кислотно-лужний баланс (pH) та ін.), з іншого – рослини повинні перебувати в такому фізіолого-біохімічному стані, щоб поступово адаптувалися до нових, неконтрольованих умов навколишнього середовища,

тобто необхідно оптимізувати умови **росту та розвитку рослин ще на етапі культивування *in vitro***.

Одним із визначальних факторів, який впливає на фізіолого-біохімічний, анатомо-морфологічний стан мікроклональних рослин, зокрема загальне обводнення, водозатримуючу здатність, інтенсивність транспірації, вміст листових пігментів, сухих речовин у пагонах та листках є склад та якість поживного середовища.

Дослідженнями багатьох авторів встановлено, що рослини можуть по-різному реагувати на склад поживного середовища *in vitro*. Тому його необхідно підбирати з урахуванням видової і сортової специфіки. Це проявлялось у зміні анатомічних показників (Martins, 2018), показників росту та розвитку (Coelho *et al.*, 2021), коефіцієнту розмножен<sup>20</sup> (Vujovic *et al.*, 2020; Zare Khafri *et al.*, 2020), перебігу фізіолого-біохімічних процесів (Gago *et al.*, 2022; Cantabella *et al.*, 2022; Martins *et al.*, 2018). І це зрозуміло, оскільки, поживне середовище забезпечує рослини необхідними макро- і мікроелементами, вітамінами, фітогормонами та видалення продуктів метаболізму. Тому питання визначення впливу поживного середовища на перебіг фізіологічних процесів мікроклонів винограду *in vitro*, їх регулювання з метою підвищення адаптаційного потенціалу є актуальним та своєчасним.

Метою роботи було визначити окремі фізіологічні показники мікроклонів винограду підщепних і технічних сортів за умов культивування на різних поживних середовищах *in vitro*; встановити їх вплив на приживлюваність мікроклонів в умовах *in vivo*.

Завдання дослідження:

1. Визна<sup>17</sup>ти показники водозатримуючої здатності, інтенсивності дихання, вмісту сухих речовин у тканинах листків та пагонів мікроклонів винограду *in vitro* на різних **типах поживних середовищ та за різного вмісту фітогормонів**.
2. Визначити **приживлюваність мікроклонів винограду в умовах *in vivo*, після культивування на різних типах поживних середовищ**.
3. Визначити частку впливу факторів - сорт винограду, вміст фітогормонів у поживному середовищі Мурасіге-Скуга (МС) та його структурованої основи на фізіологічні показники мікроклонів винограду *in vitro*; встановити залежність приживлюваності мікроклонів винограду *in vivo* від фізіологічного стану рослин *in vitro*.

## Огляд літератури

Питанням вивчення фізіолого-біохімічного стану рослин в умовах *in vitro* та *in vivo* присвячено не багато наукових праць. І всі вони розглядаються переважно з точки зору моделювання, впливу абіотичного стресу та скринінгу стійких генотипів. Найпоширенішими абіотичними стресами, які впливають на ріст і продуктивність рослин є посуха та засолення. Вони спричиняють величезні економічні втрати в результаті зниження продуктивності сільського господарства. У таких умовах рослини стикаються з порушенням осмотичного потенціалу, транспорту поживних речовин, зниженням фотосинтезу. Традиційні селекційні методи не завжди призводять до бажаного результату по відбору й оцінці стресостійких форм і видів рослин. Проте, завдяки застосуванню методів культури тканин і органів *in vitro*, у короткі строки та невеликому об'ємі рослинного матеріалу, можливо вивчити механізм та прове<sup>5</sup>ти скринінг стійких форм і сортів рослин.

Martínez-Santos E., Cruz-Cruz C. A., Spinoso-Castillo J. L. та ін. (2021) (Córdoba campus postgraduate school (Іспанія) оцінювали фізіолого-біохімічний стан *Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews в умовах водного стресу *in vitro*, індукованого поліетиленгліколем (ПЕГ). Мікроклональні рослини *Vanilla planifolia* Jacks. культивували на напівтвердому поживному середовищі Мурасіге і Скуга (МС) з додаванням ПЕГ-6000 (0%, 1%, 2% і 3% мас./об.). Через 60 діб визначали висоту рослин, у тканинах листків та пагонів - вміст сухої речовини, хлорофілу, розчинних білків, проліну, гліцину, індекс продохів та кількість відкритих продохів на одиницю площі епідермісу. Отримані результати показали, що зі збільшенням концентрації ПЕГ-6000 у складі поживного середовища, висота рослин, вміст хлорофілів,

розчинних білків, кількість відкритих проростів зменшувались, а вміст сухих речовин і амінокислот, навпаки збільшувався.

Hernández-Pérez C. A., Gómez-Merino, F. C., Spinoso-Castillo, J. L. та ін. (2021) (Córdoba campus postgraduate school) застосовуючи аналогічні концентрації ПЕГ- 6000 у поживному середовищі МС на основі визначення біометричних показників росту, вмісту у тканинах сухих речовин, загального білка, проліну, гліцин-бетаїну проводили скринінг *in vitro* *Saccharum* spp. Hybrids, сортів Mex 69-290, Mex 79-431, CP 72-2086 та MOTZ Mex 92-207 стійких до водного стресу. На основі отриманих результатів було встановлено толерантний до водного стресу сорт Mex 69-290. Оскільки при збільшенні концентрації ПЕГ у складі поживного середовища мікроклональні рослини цього сорту відповідали біометричним параметрам розвитку, у тканинах спостерігали збільшення сухої речовини та амінокислот.

Gao H., Xu D., Zhang H. та ін. (2020) (Guangdong Pharmaceutical University (КНР) досліджували вплив осмотичного стресу на гіпергідратацію тканин мікроклонів *Dendrobium officinale* L. Останні культивували на твердому поживному середовищі МС доповненому регуляторами росту рослин, різними концентраціями сахарози та агару. Рівень гіпергідратації оцінювали за показниками водного режиму, відносною електропровідністю, активністю ферментів. Отримані результати показали, що високі концентрації сахарози, агару, ПЕГ-6000 у складі поживного середовища значно підвищували загальний вміст води, вміст вільної води, відносну електропровідність, активність пероксидази та знижували вміст зв'язаної води, проліну, розчинного білка і цукрів.

Згідно з даними Khalid H., Kumari M., Nasim M. (2021) (Defence Institute of Bioenergy Research (Індія), які вивчали зміни фізіолого-біохімічного стану та біометричних показників росту *Camelina sativa* L. за впливу модельної посухи МС+ПЕГ-6000 (1-7%) показано, що при збільшенні концентрації ПЕГ до 2,0% здатність насіння до проростання, вміст води, хлорофілів і каротиноїдів у листках значно підвищувалися, а процеси розгортання сім'ядолей і поява справжніх листків прискорювались. У подальшому підвищення концентрації ПЕГ призвело до зниження цих показників порівняно з контролем. Це є свідченням того, що *Camelina sativa* L. може переносити помірний водний стрес без будь-якого негативного впливу на ріст і фізіологічні і біохімічні параметри.

Bareera N., Humera R., M. Hammad Nadeem T. (2019) (University of Agriculture (Пакистан) проводили скринінг *in vitro* посухостійких сортів *Brassica napus* L. Для цього на поживних середовищах з ПЕГ-6000 отримували калюсні культури сортів B-56, B-18, ZMR-4, ZM-21, KM-256, ZMR-10, Punjab Sarsoon, Cyclon, Rainbow and UAF-11, життєздатність яких оцінювали за вмістом сухих речовин, проліну, гліцину, бетаїну, загальним вміст розчинного цукру. Автори показали, що за впливу невисоких концентрацій ПЕГ-6000 у тканинах калюсних культур всі вище перераховані показники збільшувалися. Виключенням був показник маси вологого калюсу, який навпаки зменшувався.

Kovalikova Z., Jiroutova P., Toman J. та ін. (2020) (University of Hradec Kralove (Чехія) досліджували реакцію мікроклональних рослин п'яти сортів *Malus domestica* L. («Malinové holovouské», «Fragrance», «Rubinstep», «Idared», «Car Alexander»), п'яти сортів *Prunus avium* L. («Regina», «Napoleonova», «Kaštánka», «Sunburst», «P- HL-C») на осмотичний стрес, змодельований підвищеними концентраціями ПЕГ-6000 у середовищі. Стрес подібний до посухи, негативно вплинув на загальний вміст води, вміст хлорофілу, площу листків обох видів рослин. Загальні результати свідчать про широкий діапазон толерантності до дефіциту води серед культур *Malus domestica* L. та *Prunus avium* L. *in vitro*.

В окремих наукових працях за фізіолого-біохімічними, біометричними показниками мікроклональних рослин оцінювали солестійкість рослин *in vitro*. Так, Putnik-Delić M. I., Daničić M. M., Vujanov T. M. та ін. (2019) (University of Novi Sad (Сербія) досліджували вплив різних концентрацій NaCl (0,2, 0,6 та 1,2 г/л) у поживному середовищі МС на інтенсивність транспірації мікроклонів *Brassica napus* L. сорту Slavica. Вони довели, що інтенсивність транспірації знижувалась із збільшенням концентрації NaCl у поживному середовищі. Al-Khateeb, S.A., Al-Khateeb, A.A., Sattar, M.N. та ін. (2020) (King Faisal

University (Саудівська Аравія) вивчали вплив різного вмісту солі NaCl (від 0 до 300 мМ) у складі поживного середовища на фотосинтез, інтенсивність транспірації та продихову провідність *Phoenix dactylifera* L. *in vitro*. Результати показали, що підвищення концентрації солі у поживному середовищі знижували інтенсивність перебігу вказаних процесів.

У своїй науковій роботі Сіоґ М., Kalisz A., Żupnik M. та ін. (2019) з Krakow University of Agriculture (Польща), досліджували вплив червоного та синього спектру світла (у співвідношенні 7:3), різних концентрацій 6-бензиладеніну (БА) (1, 2,5 та 5 мкМ) при вирощуванні мікроклонів *Gerbera jamesonii* Bolus. Вони довели, що підвищення концентрації БА сприяло збільшенню висоти рослин, кількості листових пластинок, а модифікація освітлення – площі листових пластинок. Проте автори роботи зазначили, що підвищення концентрації БА супроводжувалося зменшенням вмісту сухих речовин у вегетативній масі, підвищення інтенсивності освітлення – збільшенню вмісту листових пігментів. Робота Ki Young Choi, Md. Rayhan Ahmed Shawon, Jae Kyung Kim та ін. (2022) (Kangwon National University (Південна Корея)) визначали вплив інтенсивності білого світлодіодного світла на ріст мікроклонів *Malus domestica* (M-9). Мікроклони вирощували протягом 30 діб під впливом п'яти білих світлодіодів (LED), різної інтенсивності: 100–500 (L1), 250–500 (L2), 500–500 (L3), 250–250 (L4) і 100–100 (L5). Автори стверджують, що кількість листків, діаметр стебла, маса вологих пагонів, коренів та суха маса пагона під впливом білого світлодіодного світла 500–500 (L3) були значно більшими, ніж ті, що культивували при освітленні іншої інтенсивності. Крім того, була встановлена позитивна кореляція між продишовою провідністю та швидкістю транспірації. Ці результати свідчать про те, що інтенсивність світла PPFD 500-500 була сприятливою для росту мікроклонів *in vitro*.

Ergasheva F.Sh., Abdurasulova M.A., Usmanov M.R. та ін. (2022) вказують на необхідність визначення фізіолого-біохімічного стану мікроклональних рослин при переведенні їх у неконтрольовані умови зовнішнього середовища. Від цього буде залежати їх приживлюваність та вихід стандартних саджанців. Так, науковці Gulistan State University (Узбекистан) визначали загальне обводнення листків та інтенсивність транспірації *Punica granatum* L. у передадаптаційний період *in vitro* та при пересаджуванні рослин у нестерильний ґрунт місцевих сортів - «Qora qayim», «Qizil anor», «Oq dona (Tuyatish)», «Achchiq dona». Як результат показали, що при переведенні мікроклональних рослин у неконтрольовані умови спостерігалась висока інтенсивність транспірації, суттєве зменшення вмісту води в листках, тобто спостерігався водний дефіцит. Тому авторка рекомендує на етапі передадаптації *in vitro* підвищувати рівень вологості до 90–95%, а потім поступово знижувати його до 50%, щоб забезпечити оптимальні механізми адаптації рослини до умов *in vivo*.

В University of Bonn (Німеччина) досліджували вплив різних умов вирощування *Populus canescens* L. - умови *in vitro*, *ex vitro*, кліматична камера, оранжерея на розвиток листового апарату, склад кутикулярного воску та транспірацію відокремлених листків. Дослідження показали, що при перенесенні рослин *in vitro* в інші умови вони швидко зневоднювались, незалежно від кількості кутикулярного воску (Grünhofer *et al.*, 2021).

Отже, короткий літературний огляд свідчить про те, що наукових праць, у яких наведено результати досліджень по визначенню основних фізіологічних показників рослин у культурі тканин і органів *in vitro*, в залежності від модифікації мінеральної та фітогормональної основи поживного середовища МС дуже мало. А для винограду такі дослідження взагалі не проводились.

#### Матеріали та методи (Методологічне обґрунтування)

Робота проводилась у відділі розсадництва, розмноження та біотехнології винограду ННЦ «ІВіВ ім. В. Є. Таїрова» протягом 2018–2022 рр.

Матеріалом для досліджень були мікроклони підщепних сортів винограду – Добриня, Гарант та технічних – Ярило, Загрей.

Усі роботи, пов'язані з розмноженням винограду в культурі тканин і органів *in vitro* здійснювали в асептичних умовах ламінарних та культуральних боксів, обладнаних ультрафіолетовими опромінювачами. Температура повітря в культуральному боксі дорівнювала 24–25 °С, фотоперіод – 16 годин, освітлення 2500–3000 люкс, вологість повітря 60–70 %.

Мікроклони винограду культивували на поживних середовищах Мурасіге і Скуга (МС), які містили фітогормони - індолілоцтову кислоту (ІОК) та 6-бензиламінопурин (6-БАП), біологічно активні препарати (Radifarm і Clonex gel) та мінеральні субстрати (агроперліт і (чи) вермикуліт).

Схема досліджень була наступною:

Контроль 1 – МС + 0,3 мг/л ІОК, 0,2 мг/л БАП;

Контроль 2 – МС + 0,6 мг/л ІОК, 0,5 мг/л БАП;

Варіант 1 – МС + 0,3 мг/л ІОК, 0,2 мг/л БАП + Radifarm 2,5 мл/л;

Варіант 2 – МС + 0,6 мг/л ІОК, 0,5 мг/л БАП + Radifarm 2,5 мл/л;

Варіант 3 – МС + 0,3 мг/л ІОК, 0,2 мг/л БАП + Clonex gel;

Варіант 4 – МС + 0,6 мг/л ІОК, 0,5 мг/л БАП + Clonex gel;

Варіант 5 – МС + 0,3 мг/л ІОК, 0,2 мг/л БАП + агроперліт;

Варіант 6 – МС + 0,6 мг/л ІОК, 0,5 мг/л БАП + агроперліт;

Варіант 7 – МС + 0,3 мг/л ІОК, 0,2 мг/л БАП + вермикуліт;

Варіант 8 – МС + 0,6 мг/л ІОК, 0,5 мг/л БАП + вермикуліт;

Варіант 9 – МС + 0,3 мг/л ІОК, 0,2 мг/л БАП + (агроперліт + вермикуліт);

Варіант 10 – МС + 0,6 мг/л ІОК, 0,5 мг/л БАП + (агроперліт + вермикуліт).

Поживне середовище МС готували за рецептом, після чого додавали інші компоненти. Препарат Clonex gel застосовували шляхом обробки базальної частини одновічкових чубуків перед висаджуванням їх на поживне середовище.

*Radifarm* – це витяжка рослинного походження, що містить полісахариди, стероїди, глікозиди, амінокислоти, бетаїн, мікроелементи та вітаміни. Препарат зменшує стрес, спричинений пересадкою рослин і сприяє їх швидкому укоріненню, рівномірному росту, розвитку вегетативної маси та кореневої системи.

*Clonex gel* – це комплекс ризогенноактивних речовин, до складу якого входять індолілмасляна кислота, гормони, вітаміни, повний спектр мікроелементів і поживних речовин, необхідних для розвитку кореневої системи рослин.

*Агроперліт, вермикуліт* – екологічно чисті мінерали групи гідролюд, які утворюються в земній корі. Їх застосування дозволяє підвищувати аераційні властивості субстратів (середовищ), що позитивно впливає на розвиток кореневої системи.

Для желювання поживних середовищ використовували агар-агар у кількості 7,0 г/л (для першого – четвертого варіантів) та 6 г/л (для п'ятого – десятого варіантів). Усі поживні середовища стерилізували шляхом автоклавування під тиском 1 атм. протягом 15 хв. Після автоклавування і застигання середовищ у культуральних ємностях п'ятого – десятого варіантів утворювалося двошарове середовище: - для агроперліту: верхній шар – агроперліт, просякнений середовищем, нижній – агарове середовище з вкрапленням агроперліту; - для вермикуліту: верхній шар – поживне середовище, нижній – вермикуліт. Оптимальне співвідношення поживне середовище:мінеральні субстрати – 1,0 : 0,5.

Після 90 днів культивування мікроклонів винограду у тканинах листків і пагонів визначали: водозатримуючу здатність (%), інтенсивність транспірації ( $г \times (м^2 \times год.)$ ), вміст сухих речовин (%) (Sheger, 2011; Mashevskaya, 2015). Приживлюваність мікроклонів винограду *in vivo* визначали на 30 добу після пересаджування в теплицю.

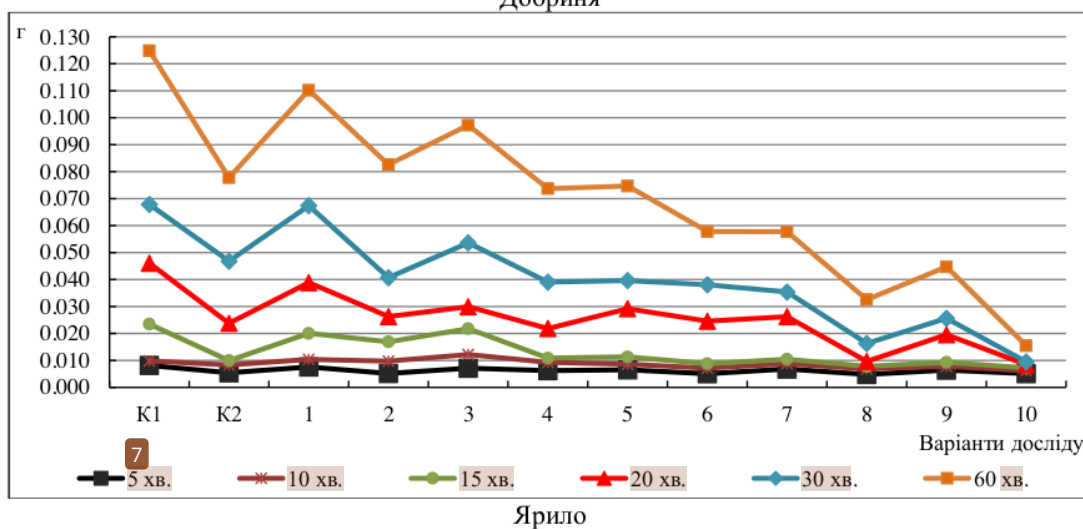
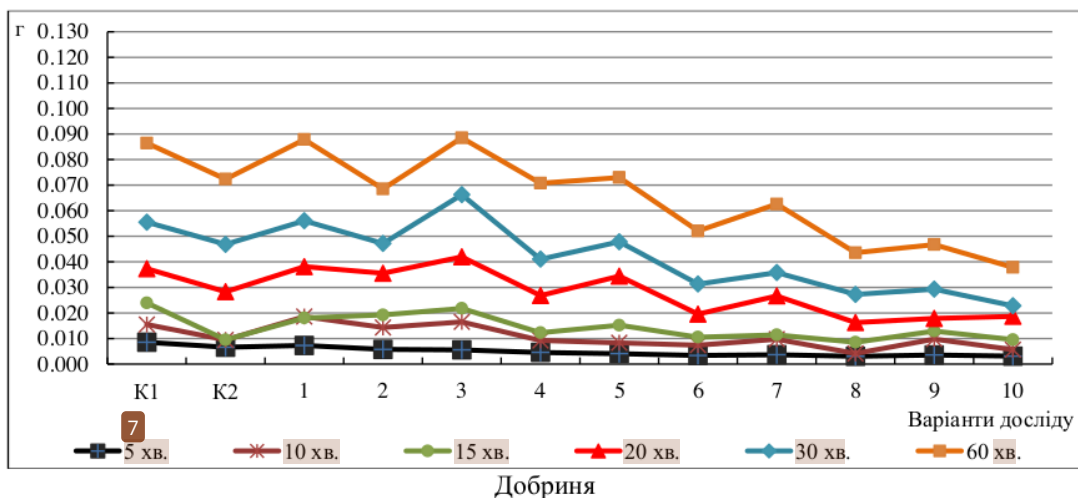
### Результати та Обговорення

У клітинах і тканинах розрізняють дві форми води – вільну і зв'язану. Вільна вода характеризується достатньою рухомістю, є розчинником, що забезпечує перебіг усіх фізіолого-біохімічних реакцій. Дія стресового фактору, у першу чергу, призводить до

випаровування та зменшення у клітинах саме цієї форми води (Mashevska, 2015). Зв'язана вода поділяється на зв'язану осмотично- і колоїдно- зв'язану, вона знаходиться або ж у середині колоїдної системи або на поверхні колоїдів, між ними. Здатність рослин утримувати за рахунок осмотичних сил і підвищення гідрофільності біоколоїдів певну частину води, є універсальною реакцією організму на погіршення умов довкілля. Тому за дії будь-якого стресора зменшення водовіддачі відбувається за рахунок підвищення водозатримуючої здатності тканин.

*Водозатримуюча здатність* – це показник, який характеризує втрату води вегетативними органами рослин за певний проміжок часу. У технології розмноження винограду *in vitro* він важливий з точки зору переведення рослин у неконтрольовані умови *in vivo* та їх приживлюваності.

Аналіз динаміки втрати води листками та пагонами мікроклонів винограду *in vitro* (етап передаптації) підщепних і технічних сортів, які культивували на модифікованих поживних середовищах з агроперлітом, вермікулітом та їх сумішшю (п'ятий-десятий варіанти) показав, що вони зменшувались по відношенню до контрольних значень (контроль 1, контроль 2). Так, мікроклони винограду підщепних сортів втрачали 0,003 г через 5 хв., 0,008 г через 10 хв., 0,011 г через 15 хв., 0,022 г через 20 хв., 0,032 г через 30 хв. та 0,053 г через 60 хв. води, що на 50,0% (через 5 хв.), 36,3% (через 10 хв.), 33,3% (через 15 хв.), 26,6% (через 20 хв.), 32,0% (через 30 хв.) та на 37,2% (через 60 хв) менше контрольних значень (Рис. 1).





**Рисунок 1.** Динаміка втрати води мікроклонами винограду підщепних і технічних сортів на різних типах поживних середовищ (середнє за 2018-2022 рр.)

Джерело: розроблено авторами.

Мікроклони технічних сортів втрачали через вказані проміжки часу відповідно 0,006 г, 0,007 г, 0,009 г, 0,014 г, 0,020 г, 0,034 г води, що так само було менше контрольних значень на 16,6%, 22,2%, 46,6%, 44,0%, 56,8%, 58,2%.

У мікроклонів винограду на поживних середовищах із препаратами Clonex gel та Radifarm (перший-четвертий варіанти) – показник втрати води був на рівні контролю. У середньому рослини цих варіантів через 5–60 хв. втрачали від 0,007 г до 0,082 г води (підщепні сорти) та від 0,006 г до 0,088 г води (технічні сорти).

Отже, наведені результати визначень свідчать про те, що водозатримуюча здатність тканин мікроклонів винограду, на структурованих поживних середовищах була найбільшою, що свідчить про потенційно більшу стійкість цих мікроклонів у змінних умовах. Крім того, слід зазначити, що показник водозатримуючої здатності загалом був більшим у дослідних і контрольних варіантах, де вміст фітогормонів у складі МС дорівнював 0,2 мг/л 6-БАП, 0,3 мг/л ІОК (перший, третій, п'ятий, сьомий, дев'ятий варіанти).

Після аналізу експериментального матеріалу було проведено множинний дисперсійний аналіз. Головними факторами впливу були: сорт винограду (фактор 1), вміст фітогормонів у поживному середовищі МС (0,2 мг/л 6-БАП, 0,3 мг/л ІОК) (фактор 2) та структурована основа МС (додавання БАП чи мінеральних субстратів) (фактор 3). Згідно з отриманими результатами виявлені відмінності в результатах досліду є достовірними, оскільки отримані фактичні значення критерію Фішера (за всіма головними факторами впливу) при рівні значущості  $P = 0,05$  були більшими за їх табличні значення (Табл. 1).

**Таблиця 1.** Результати дисперсійного аналізу впливу складу поживного середовища МС на водозатримуючу здатність вегетативної маси мікроклонів винограду

Фактори впливу	$F_{\text{факт.}} / F_{\text{теор.}}$				
	Частка впливу факторів, %				
	Випаровування води				
	5 хв.	10 хв.	20 хв.	30 хв.	60 хв.
Фактор 1	314,23/2,69 20,14	591,66/2,69 24,72	523,34/2,69 27,11	476,35/2,69 31,84	439,83/2,69 26,22
Фактор 2	887,63/3,94 18,96	960,05/3,94 13,37	887,02/3,94 17,58	681,06/3,94 15,17	769,04/3,94 15,28
Фактор 3	356,00/2,30 38,03	557,59/2,30 38,83	278,83/2,30 31,63	338,37/2,30 37,70	465,00/2,30 46,20
Фактор 1*	30,40/2,69	130,24/2,69	20,00/2,69	19,13/2,69	24,53/2,69
Фактор 2	1,94	5,44	1,18	1,27	1,46
Фактор 1*	14,76/1,77	52,37/1,77	32,35/1,77	17,46/1,77	20,62/1,77
Фактор 3	4,73	10,94	9,61	5,83	6,14
Фактор 2*	98,05/2,30	34,64/2,30	42,77/2,30	14,42/2,30	8,87/2,30
Фактор 3	10,47	2,41	4,23	1,60	0,88
Фактор 1*	11,35/1,77	14,04/1,77	22,59/1,77	13,19/1,77	6,33/1,77
Фактор 2*	3,63	2,93	6,71	4,40	1,88
Фактор 3					
Похибка	2,10	1,36	1,95	2,59	1,94

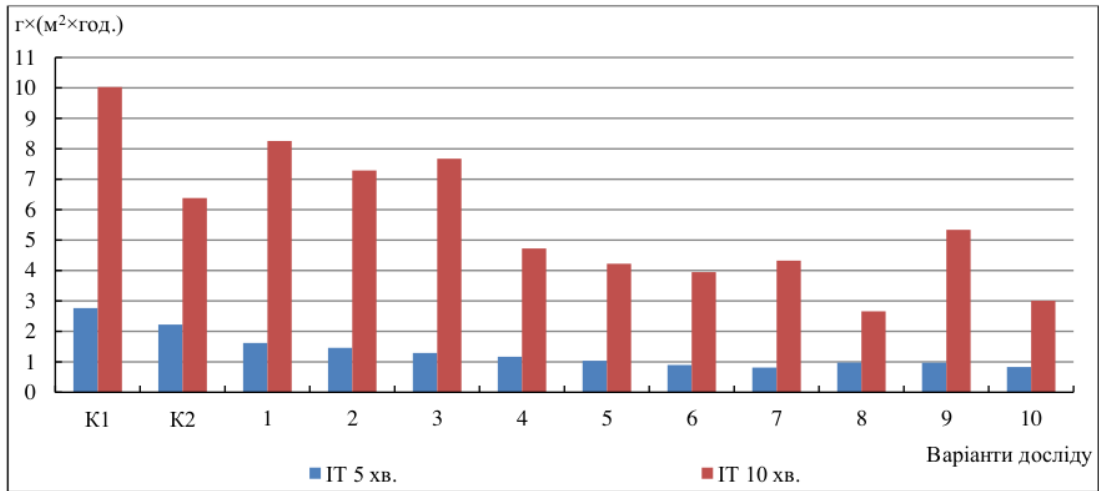
Джерело: розроблено авторами.

Даний метод дозволило також виділити частку впливу кожного фактору на водозатримуючу здатність вегетативної маси мікроклонів винограду із загальної їх сукупності. Так, найвагомішу частку впливу мали фактори 3 (структурована основа МС) та 1 (сорт винограду). У залежності від варіантів, вони знаходилися у межах 31,63 – 46,20% (фактор 3) та 20,14 – 31,84% (фактор 1) від загальної 100% сукупності. Вплив Фактору 2 (вміст фітогормонів у поживному середовищі МС) дещо зменшувався і знаходився у межах 13,37 –

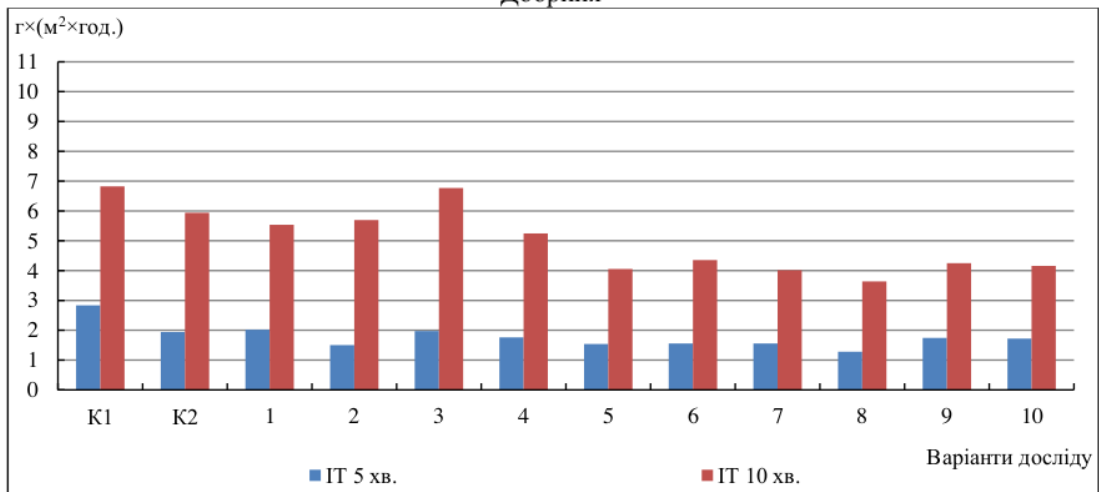
18,96%, взаємодія цих факторів була в межах 1,18 – 10,94%. Частка неврахованих факторів була невеликою і складала 1,36 – 2,59%.

**Транспірація** – це процес випаровування води з поверхні рослин за одиницю часу. Величина транспірації залежить від багатьох факторів, у т.ч. температури, освітлення, водопостачання тощо.

Визначення інтенсивності транспірації мікроклонів винограду *in vitro* показало, що вона залежала від структурованої основи поживного середовища та вмісту фітогормонів у ньому. Найбільшою вона була у рослин контролю (K1) та після застосування біологічно активних препаратів (перший, другий, третій варіанти) (Рис. 2).



Добриня



Ярило

**Рисунок 2.** Інтенсивність транспірації мікроклонів винограду підщепних і технічних сортів на різних типах поживних середовищ (середнє за 2018-2022 рр.)

Джерело: розроблено авторами.

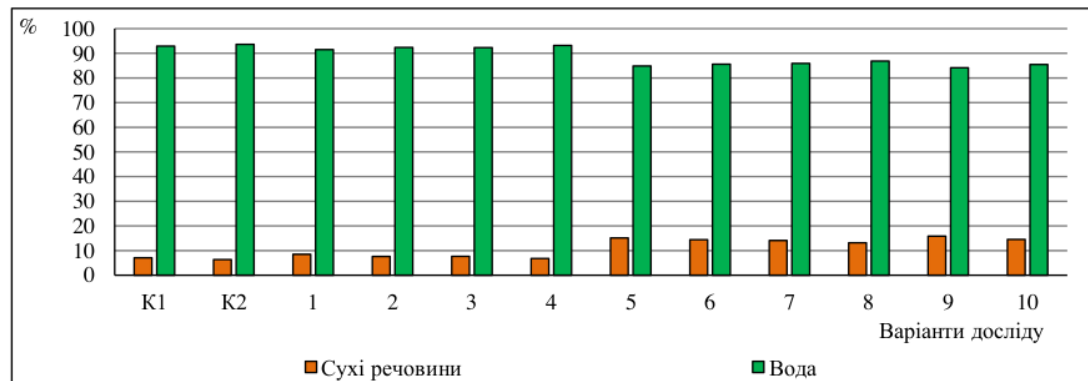
Так, для сорту Добриня, інтенсивність транспірації мікроклонів у першому варіанті (МС + Radifarm + ІОК 0,3 мг/л; 6-БАП 0,2 мг/л) була найбільшою серед дослідних варіантів і дорівнювала 1,6 г×(м²×год.) через 5 хв., 8,3 г×(м²×год.) через 10 хв. У порівнянні з контрольними значеннями відмічалася зниження на 1,1% (через 5 хв.) та 1,6% (через 10 хв.). У другому варіанті (МС + Radifarm + ІОК 0,6 мг/л; 6-БАП 0,5 мг/л) інтенсивність транспірації

дорівнювала 1,5 г×(м<sup>2</sup>×год.) через 5 хв., 7,3 г×(м<sup>2</sup>×год.) – через 10 хв., що було більше за контроль (К 2) на 1,3%, 2,7%. У третьому варіанті, де застосовували препарат Clopex gel (ЮК 0,3 мг/л; 6-БАП 0,2 мг/л), інтенсивність транспірації була меншою за контрольні значення на 1,5%, 2,7%. Для мікроклонів винограду технічних сортів, за вказаними дослідними варіантами була відмічена аналогічна закономірність, хоч рівень інтенсивності транспірації був нижчим, і знаходився у межах 5,5 – 6,8 г×(м<sup>2</sup>×год.), тоді як у мікроклонів підщепних сортів – у межах 7,3 – 8,3 г×(м<sup>2</sup>×год.).

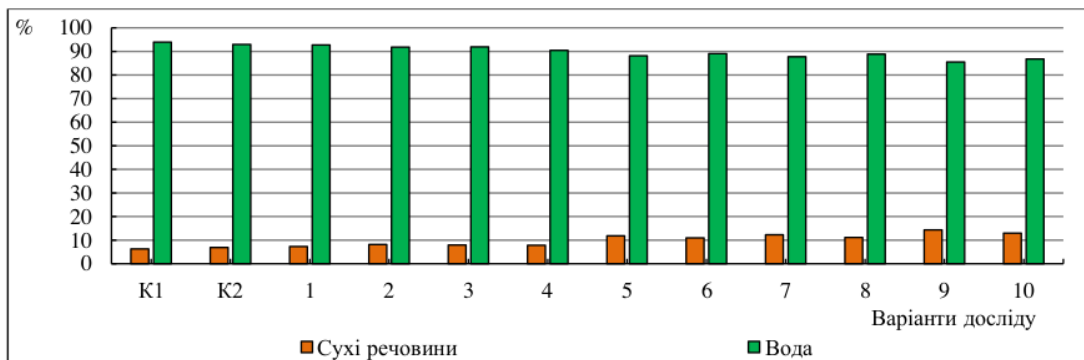
Після культивування мікроклонів винограду на структурованих поживних середовищах (п'ятий–десятий варіанти) інтенсивність транспірації вегетативної маси була нижчою, порівняно як з першим – четвертим варіантами (МС+БАП), так і з контролями (К. 1, К. 2). У мікроклонів підщепних сортів така різниця з контролями дорівнювала 1,5 (через 5 хв.) – 3,4 (через 10 хв.) г×(м<sup>2</sup>×год.), з варіантами, де застосовували БАП – 0,4 (через 5 хв.) – 1,9 (через 10 хв.) г×(м<sup>2</sup>×год.), у мікроклонів технічних сортів – 0,8 – 2,5 г×(м<sup>2</sup>×год.) і 0,3 – 1,3 г×(м<sup>2</sup>×год.) відповідно до варіантів.

Результати дисперсійного аналізу показали, що різниця між дослідними та контрольними варіантами була достовірною тільки після визначення інтенсивності транспірації вегетативної маси рослин через 10 хв. ( $F_{\text{факт.}} > F_{\text{теор.}}$ ); після визначення цього показника через 5 хв. значення  $F_{\text{факт.}}$  було меншим за  $F_{\text{теор.}}$ . Також були отримані дані, які дозволили виділити частку впливу кожного фактору на інтенсивність транспірації. Доведено суттєвий вплив фактору 3 (структурована основа МС (додавання БАП чи мінеральних субстратів)) – 52,7% та фактору 1 (сорт винограду) – 21,5%; вплив фактору 2 (вміст фітогормонів у поживному середовищі МС) хоч і був суттєвим, але його вплив оцінювався у 5,4%.

У процесі підготовки та переведення мікроклонів винограду з умов *in vitro* до умов *in vivo* важливого значення набуває структура тканин вегетативної маси. Її прийнято оцінювати за накопиченням сухої речовини або загальним обводненням тканин. Проведене нами визначення маси вологого і сухого приросту мікроклонів винограду з подальшим визначенням вмісту сухих речовин показало, що найбільше їх синтезувалося у листках і пагонах рослин, які культивували на структурованих поживних середовищах (Рис. 3).



Добриня



Ярило

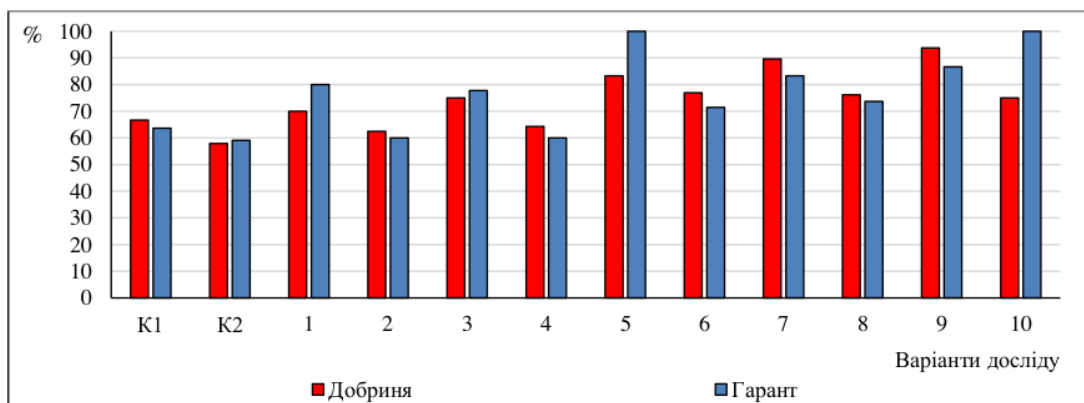
**Рисунок 3.** Вміст сухих речовин і води у тканинах листків та пагонів мікроклонів винограду підщепних і технічних сортів на різних типах поживних середовищ (середнє за 2018-2022 рр.)

Джерело: розроблено авторами.

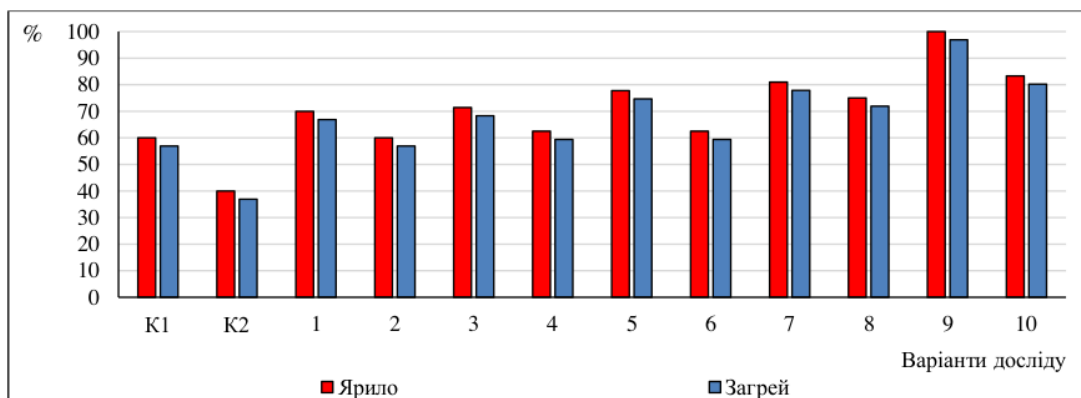
Так, у вказаних варіантах дослідження вміст сухих речовин дорівнював 12,0 – 15,2% (підщепні сорти), 11,0 – 14,9% (технічні сорти). На поживних середовищах з застосуванням біологічно активних препаратів Radifarm і Clonex gel цей показник дорівнював, у середньому 6,8 – 8,7 % (підщепні сорти) та 7,3 – 9,1% (технічні сорти). У рослин контрольних варіантів вміст сухих речовин у тканинах вегетативної маси дорівнював 6,7 – 7,5% та 6,6 – 7,8% відповідно у підщепних та технічних сортів винограду. Таким чином у мікроклонів першого-четвертого варіантів вміст сухих речовин був більший за контрольні значення на 0,8 – 1,2%, у мікроклонів п'ятого-десятого варіантів – на 5,6 – 7,8%.

Аналіз результатів множинного дисперсійного аналізу показав, що виявлені відмінності в результатах дослідження є достовірними ( $F_{\text{факт}} > F_{\text{теор.}}$ ) при рівні значущості  $P = 0,05$ . Найбільший вплив на накопичення сухої речовини у вегетативній масі мікроклонів винограду у процесі культивування *in vitro* мав фактор структурована основа МС – 90,5%. Інші головні фактори впливу (сорт винограду, гормональна основа МС), хоч і були значущі, але їх вплив оцінювався у 2,2%.

Приживлювання мікроклонів винограду *in vivo*. Результати досліджень показали: найбільше таких рослин було після культивування мікроклонів винограду *in vitro* на поживних середовищах із мінеральними субстратами, але переважно на тих, де вміст фітогормонів у складі МС дорівнював 0,3 мг/л ІОК, 0,2 мг/л БАП (п'ятий, сьомий, дев'ятий і десятий варіанти). Приживлюваність мікроклонів підщепних сортів винограду була на рівні 85,5% (Добриня) – 92,5 (Гарант), мікроклонів технічних сортів - на рівні 82,4% (Загрей) і 85,5% (Ярило) (Рис. 4).



Підщепні сорти



Технічні сорти

**Рисунок 4.** Приживлюваність мікроклонів винограду підщепних і технічних сортів в умовах *in vivo* (середнє за 2018 – 2022 рр.)

Джерело: розроблено авторами.

У порівнянні з контролем 1 різниця була від 12,0 до 40,0%. Після застосування біологічно активних препаратів показник приживлюваності мікроклонів винограду був на рівні контрольного значень. В аналогічних варіантах, але з більшим вмістом фітогормонів – 0,6 мг/л ІОК, 0,5 мг/л БАП (другий, четвертий, шостий, восьмий варіанти) приживлюваність мікроклонів зменшувалась і була на рівні контролю 2.

Для встановлення залежності приживлюваності мікроклонів винограду в умовах *in vivo* від їх фізіологічного стану, що сформувався в умовах *in vitro* (водний режим, інтенсивність транспірації, вміст сухих речовин) було проведено множинний кореляційно-регресійний аналіз. Результати показали, що множинний коефіцієнт кореляції між незалежними змінними водозатримуюча здатність, інтенсивність транспірації, вміст сухих речовин та залежною змінною приживлюваність мікроклонів *in vivo* дорівнював 0,82, що свідчить про високу множинну кореляцію (за шкалою Чеддока). Згідно з коефіцієнтом множинної детермінації  $R^2$  можна стверджувати, що варіація приживлюваності мікроклонів винограду залежала від вказаних незалежних змінних на 70,0%. Визначення стандартизованого регресійного коефіцієнту  $\beta$  дозволило порівняти відносний вклад кожної незалежної змінної в прогнозування залежної змінної. Як свідчать отримані дані предиктори вміст сухих речовин, водозатримуюча здатність є статистично значимі та важливі –  $\beta$ (сухі речовини) = 1,04,  $\beta$ (водозатримуюча здатність) = 0,36.

**Обговорення.** Для того, щоб рослини *in vitro* успішно приживалися у нестерильних умовах, вони повинні бути готові подолати стреси, яким піддаються у процесі адаптації. Згідно з даними багатьох авторів (Leite, 2021; Bag, 2019; Podgayetskyi, 2020), щоб збільшити відсоток приживлюваності рослин *in vivo* необхідно починати їх готувати до нових умов ще *in vitro*, у тому числі до зниження рівня вологості повітря. У зв'язку з цим, першочергового значення набувають якість та фізичні властивості поживного середовища. Дослідженнями багатьох авторів встановлено, що різні сільськогосподарські рослини, їх сорти, форми по-різному реагують та проявляють себе в культурі *in vitro* на різних типах поживних середовищ, тому склад поживного середовища необхідно підбирати з урахуванням сортової специфіки. Для розмноження більшості сортів і клонів винограду *in vitro* застосовують поживні середовища на основі середовища Мурасіге і Скуга. До його складу входять макросолі, мікросолі, хелат заліза, хлорид кальцію, вітаміни, індолілоцтова кислота (ІОК), 6-бензиламінопурин (6-БАП), сахароза та агар (Zelenianska, 2022). Згідно результатів наших досліджень для кращого росту, розвитку мікроклонів винограду підщепних і технічних сортів, перебігу фізіологічних процесів у тканинах листків та пагонів оптимальним є поживне середовище Мурасіге і Скуга з мінімальним вмістом фітогормонів у складі: 0,3 мг/л ІОК, 0,2 мг/л БАП. Подібні результати були отримані (Okello, 2021; Sota, 2019) на культурі *Aspilia africana* (Pers.) C. D. Adams та *Rosmarinus officinalis* L.).

У момент переведення рослин *in vitro* в умови *in vivo* вони піддаються потужному впливу водного стресу. Як результат це призводить до зневоднення тканин, руйнування мембран. Особливо чутливі рослини до зневоднення одразу після видалення їх із культуральних ємкостей, що пов'язано з нефункціонуючими продохами, скороченням поглинання води, і високою транспірацією. Основна втрата води відбувається у перші 10-14 днів через нефункціональні продиhi. Тому важливо, щоб до перенесення рослин в умови *in vivo* вони мали функціонуючі листки. Відомо, що закриття продохів відбувається за вологості повітря 65%, але за такої вологості відбувається і швидке в'янення та загибель рослин. Тому (Grytsak, 2020; Hannachi, 2021; Podgayetskyi, 2020) рекомендують спочатку підтримувати (умови *in vivo*) вологість у межах 99-95%, надалі зменшувати до 50-60%. Але без дорогих систем контролю температурно-вологісного режиму досягнути цього дуже важко (Podgayetskyi, 2020; Chen, 2021; Skripchenko, 2017).

Щоб отримати функціонуючі листки у мікроклональних рослин необхідно досягнути балансу водообміну (оптимізувати водний обмін та транспірацію) ще в умовах *in vitro*. Це можна зробити шляхом зменшення температури в основі культуральних ємкостей, застосуванням тонкого шару ланолінової пасти, рослинного масла, парафіну, поліетиленгліколю, на поживному середовищі. Проте дослідні рослини за таких впливів характеризувалися слабким ростом та розвитком. Базуючись на цій інформації ми припустили, що додавання до поживного середовища МС (створення структурованих поживних середовищ) агроперліту і (чи) вермікуліту також буде сприяти зниженню вологості у культуральних ємкостях та сприяти додатковій аерації поживного середовища. Отримані експериментальні результати за показниками водного режиму, в т. ч. інтенсивності транспірації підтвердили наше припущення. Було встановлено, що на структурованих поживних середовищах (МС+агроперліт, МС+вермікуліт, МС+агроперліт+вермікуліт) мікроклони винограду характеризувалися (порівняно з контролем, МС за прописом) вищою водозатримуючою здатністю та меншою інтенсивністю транспірації тканин листків і пагонів. Відомо, що чим більшою буде водозатримуюча здатність листків рослин, тим краще вони будуть переносити негативний вплив абіотичних факторів довкілля (Makrushin, 2006). У нашому випадку чим більшою буде водозатримуюча здатність мікроклонів винограду, тим краще вони будуть приживатися у неконтрольованих умовах. Отримані результати показали, що на структурованих поживних середовищах, які ми визначили, як найбільш ефективні (МС+агроперліт, МС+вермікуліт, МС+агроперліт+вермікуліт), тканини листків і пагонів мікроклонів винограду мали вищу водозатримуючу здатність, меншу інтенсивність транспірації, а їх приживлюваність *in vivo* була на рівні 76,3 – 98,5%. Для порівняння; у контролі приживлюваність мікроклонів винограду *in vivo* знаходилась на рівні 58,5 – 65,2%. Це пояснюється тим, що на вказаних поживних середовищах мікроклони винограду вже в умовах *in vitro* економніше витрачали воду. Така економія пов'язана зі структуризацією, додаванням мінеральних субстратів до поживного середовища. Це з одного боку, покращувало аерацію субстрату, з іншого – моделювало більш природні умови культивування. Подібні результати були отримані (Mayorova, 2015) у процесі культивування *Gentiana lutea* L., на поживному середовищі з агроперлітом.

Перед висаджуванням мікроклонів винограду в умови *in vivo* ми визначали також вміст сухих речовин у листках та пагонах. Згідно з нашими результатами найбільша їх кількість синтезувалась на структурованих поживних середовищах. Згідно з даними (Hrytsak, 2020; Gago, 2014) встановлено, що за максимальних значень показників вологості та сухої маси приросту рослин в умовах *in vivo* набагато швидше утворюють нові листки.

У результаті проведеного множинного дисперсійного та кореляційно-регресійного аналізу нами було відмічено високу залежність формування показників водного режиму листків та пагонів винограду, вмісту сухих речовин від складу поживного середовища та високу кореляційну залежність між показниками водного режиму мікроклонів та їх приживлюваністю *in vivo*.

## Висно<sup>4</sup>ги

1. Для підвищення адаптаційного потенціалу мікроклонів винограду в умовах *in vitro* доцільним є їх культ<sup>4</sup>ування на структурованих поживних середовищах із мінеральними субстратами – МС (ІОК 0,3 мг/л+6-БАП 0,2 мг/л) з додаванням агроперліту чи (або) вермікуліту (МС+агроперліт, МС+вермікуліт, МС+агроперліт+вермікуліт).

2. На структурованих поживних середовищах мікроклони винограду характеризувалися (порівняно з контролем) вищою водозатримуючою здатністю та меншою інтенсивністю транспірації тканин листків і пагонів. Підсушування рослин та визначення кількості вологи, що випаровувалась через короткі проміжки часу (через 5, 10, 15, 20, 30 та 60 хв.) показало, що водозатримуюча здатність збільшувалась (у середньому за варіантами) на 0,5 – 8,1% (технічні сорти) та на 0,6 – 3,0% (підщепні сорти).

Інтенсивність транспірації (через 10 хв.) мікроклонів винограду навпаки зменшувалась, що було характерно як для технічних, так і для підщепних сортів. Порівняно з контролем цей показник зменшувався в 1,8 рази, у рослин на поживних середовищах МС + агроперліт, МС + вермікуліт та в 1,6 рази у рослин на поживних середовищах МС + агроперліт + вермікуліт.

У тканинах листків та пагонів мікроклонів винограду синтезувалася більша кількість сухих речовин. Порівняно з контролем, у мікроклонів технічних сортів накопичувалося на 6,0% (МС + агроперліт), 5,9% (МС + вермікуліт), 7,4% (МС + агроперліт + вермікуліт) більше сухих речовин; у мікроклонів підщепних сортів – відповідно на 6,9%, 6,6%, 8,1%.

3. Найбільша кількість рослин, які приживалися в умовах *in vivo* і надалі характеризувалися активним ростом та розвитком була після культивування *in vitro* на структурованих поживних середовищах. У порів'язі з контролем цей показник збільшувався на 19,8 – 26,5% у варіантах МС + агроперліт, на 21,0 – 21,3% у варіантах МС+вермікуліт та на 25,1– 40,0 % у варіантах МС + агроперліт+ вермікуліт.

4. Достовірність отриманих результатів підтверджено результатами множинного дисперсійного та кореляційно-регресійного аналізу. Показано, що на показники водозатримуючої здатності, інтенсивності транспірації вегетативної маси мікроклонів винограду *in vitro* найбільший вплив мали такі фактори як структурована основа МС (27 – 52%) та сорт винограду (20 – 30%), на показник вмісту сухих речовин суттєво впливав тільки фактор структурована основа МС (90%). Встановлено позитивну корелятивну залежність приживлюваності мікроклонів винограду *in vivo* від фізіологічного стану, що сформувався в умовах *in vitro* ( $R = 0,82$ ).

## Подяки

Науковим співробітникам відділу розсадництва, розмноження та біотехнології винограду Національного наукового центру «Інститут виноградарства і виноробства імені В. Є. Таїрова» НААН за практичну, технологічну допомогу у виконанні роботи.

## Конфлікт інтересів

Немає.

## References

- [1] Al-Khateeb, S.A., Al-Khateeb, A.A., Sattar, M.N., & Mohmand, A.S. (2020). Induced *in vitro* adaptation for salt tolerance in date palm (*Phoenix dactylifera* L.) cultivar Khalas. *Biological Research*, 53, 37. doi: 10.1186/s40659-020-00305-3
- [2] Bag, N., Palni, L. & Nandi, Sh. (2019). An efficient method for acclimatization: *in vitro* hardening of tissue culture-raised tea plants (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze). *Current Science*, 117, 288. doi: 10.18520/cs/v117/i2/288-293.

- [3] Bareera, N., Humera, R., & Tahir, M.H.N. (2019). Development of best screening method at seedling stage under drought stress for *Brassica napus* L. *Big Data In Agriculture*, 1, 11–14. doi: 10.26480/bda.01.2019.11.14
- [4] Cantabella, D., Mendoza, C.R., Teixidó, N., Vilaró, F., Torres, R., & Dolcet-Sanjuan, R. (2022). GreenTray® TIS bioreactor as an effective *in vitro* culture system for the micropropagation of *Prunus* spp. rootstocks and analysis of the plant-PGPMs interactions. *Science Horticulture*, 291. doi: 10.1016/j.scienta.2021.110622
- [5] Chen, B., Fiers, M., Dekkers, B., Maas, L., Esse, G. W., Angenent, G. C., Zhao, Y., & Boutilier, K. (2021). ABA signalling promotes cell totipotency in the shoot apex of germinating embryos. *Journal of Experimental Botany*, 72, 18. 6418–6436. doi: 10.1093/jxb/erab306
- [6] Choi, K.Y., Shawon, Md.R.A., Kim, J.K., Yoon, Y.J., Park, S.J., & Na, J.K. (2022). Effect of white LED light on the growth of apple seedlings in controlled environment system. *Horticulturae*, 8, 692. 1–10. doi: 10.3390/horticulturae8080692
- [7] Cioć, M., Kalisz, A., Żupnik, M., & Pawłowska, B. (2019). Different LED light intensities and 6-benzyladenine concentrations in relation to shoot development, leaf architecture, and photosynthetic pigments of gerbera jamesonii bolus *in vitro*. *Agronomy*, 9, 358. doi: 10.3390/agronomy9070358
- [8] Coelho, N., Filipe, A., Medronho, B., Magalhães, S., Vitorino, C., Alves, L., Gonçalves, S. & Romano, A. (2021). Rheological and microstructural features of plant culture media doped with biopolymers: Influence on the growth and physiological responses of *in vitro*-grown shoots of thymus lotocephalus. *Polysaccharides*, 2, 538–553. doi: 10.3390/polysaccharides2020032
- [9] Ergasheva, F.Sh., Abdurasulova, M.A., Usmanov, M.R., Goipova, S.A. & Abdurashitov, S.S. (2022). Dynamics of transpiration process in transplanting into the ground the pomegranate (*Punica granatum* L.) seedlings grown under *in vitro* conditions. *International Journal of Agriculture, Environment and Bioresearch*, 7, 130–140. doi: 10.35410/IJAEB.2022.5705
- [10] Fetjah, D., Ainhout, L.F.E., Ihssane, B., Houari, A., Idardare, Z., & Bouqbis, L. (2021). Biological, physico-chemical and morphological analyses of four biochars derived from agricultural waste. *Journal of Ecological Engineering*, 22, 36–46. doi: 10.12911/22998993/133964
- [11] Fortini, E.A., Batista, D.S., Mamedes-Rodrigues, T.C., Felipe, S.H.S., Correia, L.N.F., Chagas, K., Silva, P.O., Rocha, D.I. & Otoni, W.C. (2021). Gas exchange rates and sucrose concentrations affect plant growth and production of flavonoids in *Vernonia condensata* grown *in vitro*. *Plant Cell Tiss Organ Cult*, 144, 593–605. doi: 10.1007/s11240-020-01981-5
- [12] Gago, D., Sánchez, C., Aldrey, A., Christie, C.B., Bernal, M.Á., & Vidal, N. (2022). Micropropagation of plum (*Prunus domestica* L.) in bioreactors using photomixotrophic and photoautotrophic conditions. *Horticulturae*, 8, 286. doi: 10.3390/horticulturae8040286
- [13] Gago, J., Martínez-Núñez, L., Landín, M., Flexas, J., & Gallego, P. P. (2014). Modeling the effects of light and sucrose on *in vitro* propagated plants: a multiscale system analysis using artificial intelligence technology. *Public Library of Science ONE*, 9. doi: 10.1371/journal.pone.0085989.
- [14] Gao, H., Xu, D., Zhang, H., Cheng, X., & Yang, Q. (2020). Effects of culture medium composition and PEG on hyperhydricity in *Dendrobium officinale*. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*, 56, 143–149. doi: 10.1007/s11627-020-10075-y
- [15] Grünhofer, P., Herzig, L., Sent, S., Zeisler-Diehl, V.V., & Schreiber, L. (2021). Increased cuticular wax deposition does not change residual foliar transpiration. *Plant Cell Environ*, 45, 1157–1171. doi: 10.1111/pce.14274
- [16] Grytsak, L. R., & Drobyk, N. M. (2020). Modern technologies of increasing the tolerance of *in vitro* cultured plants to *ex vitro* conditions. *Factors of experimental evolution of organisms*, 26, 183–189. doi: 10.7124/FEEO.v26.1347
- [17] Hannachi, S., Werbrouck, S., Bahrini, I., Abdelgadir, A., & Affan-Siddiqui, H. (2021). Agronomical, physiological and biochemical characterization of *in vitro* selected eggplant somaclonal variants under NaCl stress. *Plants*, 10, 2544. doi: 10.3390/plants10112544



- [18] Hernández-Pérez, C.A., Gómez-Merino, F.C., Spinoso-Castillo, J.L., & Bello-Bello, J.J. (2021). *In vitro* screening of sugarcane cultivars (*Saccharum* spp. Hybrids) for tolerance to polyethylene glycol-induced water stress. *Agronomy*, 11, 598. doi: 10.3390/agronomy11030598
- [19] Hrytsak, L. R., Drobyk, N. M. (2020). Modern technologies for enhancing the resistance of *in vitro* cultured plants to *ex vitro* conditions. Scientific Proceedings of the I.I. Mechnikov Odessa National University. Biology, 123–189.
- [20] Khalid, H., Kumari, M., & Nasim, M. (2021). Drought tolerance studies in *in vitro* grown *Camelina sativa* (L.) Crantz by exogenous application of polyethylene glycol. *International Journal of Advanced Research in Biological Sciences*, 8, 80–90. doi: 10.22192/ijarbs.2021.08.05.010
- [21] Kovalikova, Z., Jiroutov, P., Toman, J., Dobrovolna, D., & Drbohlavova, L. (2020). Physiological responses of apple and cherry *in vitro* culture under different levels of drought stress. *Agronomy*, 10, 1689. doi: 10.3390/agronomy10111689
- [22] Leite, M. S., Pinto, T. E. F., Centofante, A. R., Neto, A. R., Silva, F. G., Selari, P. J. R. G., & Martins, P. F. (2021). Acclimatization of *Pouteria gardeneriana* Radlk micropropagated plantlets: Role of *in vitro* rooting and plant growth-promoting bacteria. *Current Plant Biology*, 27. doi: 10.1016/j.cpb.2021.100209
- [23] Makrushin, M. M., Makrushina, Ye. M., Peterson, N. V., & Melnikov, M. M. (2006). *Plant Physiology*. (M. M. Makrushin, Ed.). Vinnytsia, Ukraine: Nova Knyha.
- [24] Mancilla-Álvarez, E., Pérez-Sato, J.A., Núñez-Pastrana, R., Spinoso-Castillo, J.L., & Bello-Bello, J.J. (2021). Comparison of different semi-automated bioreactors for *in vitro* propagation of taro (*Colocasia esculenta* L. Schott). *Plants*, 10, 1010. doi: 10.3390/plants10051010
- [25] Martínez-Santos, E., Cruz-Cruz, C.A., Spinoso-Castillo, J.L. & Bello-Bello, J. J. (2021). *In vitro* response of vanilla (*Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews) to PEG-induced osmotic stress. *Scientific Reports*, 11, 22611. doi: 10.1038/s41598-021-02207-0
- [26] Martins, J.P.R., Santos, E.R., Rodrigues, L.C.A., Gontijo, A.B.P.L. & Falqueto, A.R. (2018). Effects of 6-benzylaminopurine on photosystem II functionality and leaf anatomy of *in vitro* cultivated *Aechmea blanchetiana*. *Biologia Plantarum*, 62, 793–800. doi: 10.1007/s10535-018-0822-3
- [27] Mashevskaya, A.S., & Yermeychuk, T. M. (2015). Physiology and biochemistry. *Materials for working out the topic “Plants physiology and biochemistry” for second-year and third-year students full-time and part-time studies*. Lutsk: Vezha-Druk. (in Ukrainian)
- [28] Mayorova, O. Yu., Hrytsak, L. R., & Drobyk, N. M. (2015). Adaptation of *Gentiana lutea* L. plants obtained *in vitro* to *ex vitro* and *in situ* condition. *Biotechnologia Acta*, 8, 6. 77–86.
- [29] Medvedieva, T.V. (2012). The use of aquaculture for acclimatization of cultivated *in vitro* plants. *Gardening*, 66. 338–343. (in Ukrainian)
- [30] Okello, D., Yang, S., Komakech, R., Rahmat, E., Chung, Y., Gang, R., Kim, Y-G., Omujal, F., & Kang, Y. (2021). An *in vitro* Propagation of *Aspilia africana* (Pers.) C. D. Adams, and Evaluation of Its Anatomy and Physiology of Acclimatized Plants. *Frontiers in Plant Science*, 12. doi: 10.3389/fpls.2021.704896
- [31] Podgayetskyi, A. A., Matskevich, V. V., Philipova, L. M., Kravchenko, N. V., & Hnitetyskyi, M. O. (2020). Adaptability of plants during *in vitro* to *ex vitro* transition. *East European Scientific Journal*, 4, 56. 25–33. (in Ukrainian)
- [32] Putnik-Delić, M.I., Danicic, M.M., Vujanov, T.M., & Kastori, R.R. (2019). Effect of low NaCl concentrations on the water relations of rapeseed. *Matica Srpska Journal of Natural Sciences – Novi Sad*, 137, 67–75. doi:10.2298/zmspn1937067p
- [33] Riabovol, L.O., & Riabovol, Ya.S. (2019). Microclonal propagation of plant material. *In Methodological recommendations to laboratory studies for students on subject “Fundamentals of Biotechnology in Plant Production”*. Uman: Uman National University of Horticulture. (in Ukrainian)
- [34] Sherer, V.O., Zelenianska, N.M. (2011). *Features of the grape plant and methods for evaluating the performance of organs and tissues: scientific and methodical manual*. Odesa: National Scientific Centre «V.Ye. Tairov Institute of Viticulture and Winemaking». (in Ukrainian)

- [35] Skripchenko, N. V., Matskevich, V. V., Philipova, L. M., & Kibenko, I. I. (2017). Features of micropropagation of *Actinidia* species. *Plant Introduction: International Scientific Journal*, 1, 88–96.
- [36] Sota, V., Themeli, S., Zekaj, Zh., & Kongjika, E. (2019). Exogenous cytokinins application induces changes in stomatal and glandular trichomes parameters in rosemary plants regenerated *in vitro*. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 9, 25–28. doi: 10.15414/jmbfs.2019.9.1.25-28
- [37] Villalobos-Olivera, A., Hernández, L., Martínez, J., Quintana, N., Zevallos, B.E., Yabor, L., Martinez-Montero, M.E., Gonzales-Olmedo, J., Shershen & Lorenzo, J.C. (2020). Euclidean distance can recognize the Biojas concentration that produces the ideal physiological status of pineapple *in vitro* plantlets. *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant*, 56, 259–263. doi: 10.1007/s11627-019-10023-5
- [38] Vujović, T., Jevremović, D., Marjanović, T., & Glišić, I. (2020). *In vitro* propagation and medium-term conservation of autochthonous plum cultivar “Crvena Ranka”. *Acta Agriculturae Serbica*, 25, 141–147. doi: 10.5937/AASer2050141V
- [39] Zare Khafri, A., Solouki, M., Zarghami, R., Fakheri, B., Mahdinezhad, N., & Naderpour, M. (2020). *In vitro* propagation of three Iranian apricot cultivars. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*, 57, 102–117. doi: 10.1007/s11627-020-10112-w
- [40] Zelenianska, N.M., & Samofalov, M.O. (2022, June). *Method of increase survival of grape microclones in the conditions in vivo*. In Modern problems of biology in the conditions of climate change: Materials of the All-Ukrainian internet-conference. Uman: Uman National University of Horticulture. (in Ukrainian)

# Зеленянська\_Стаття.docx

## ORIGINALITY REPORT

# 19%

SIMILARITY INDEX

### PRIMARY SOURCES

1	<a href="http://www.tnv-agro.ksauniv.ks.ua">www.tnv-agro.ksauniv.ks.ua</a> Internet	370 words — 6%
2	<a href="http://ojs.ukrlogos.in.ua">ojs.ukrlogos.in.ua</a> Internet	358 words — 5%
3	<a href="http://www.tairov.org.ua">www.tairov.org.ua</a> Internet	136 words — 2%
4	<a href="http://interconf.top">interconf.top</a> Internet	70 words — 1%
5	<a href="http://www.mdpi.com">www.mdpi.com</a> Internet	36 words — 1%
6	<a href="http://dspace.tnpu.edu.ua">dspace.tnpu.edu.ua</a> Internet	34 words — 1%
7	<a href="http://essuir.sumdu.edu.ua">essuir.sumdu.edu.ua</a> Internet	32 words — < 1%
8	<a href="http://www.researchgate.net">www.researchgate.net</a> Internet	26 words — < 1%
9	<a href="http://ijaeb.org">ijaeb.org</a> Internet	20 words — < 1%
10	<a href="http://www.jmbfs.org">www.jmbfs.org</a> Internet	

20 words — < 1%

11 [bigdatainagriculture.com](http://bigdatainagriculture.com)  
Internet

19 words — < 1%

12 [dspace.ksau.kherson.ua](http://dspace.ksau.kherson.ua)  
Internet

17 words — < 1%

13 [coe.osenu.org.ua](http://coe.osenu.org.ua)  
Internet

15 words — < 1%

14 [docplayer.net](http://docplayer.net)  
Internet

13 words — < 1%

15 [openaccess.ogu.edu.tr:8080](http://openaccess.ogu.edu.tr:8080)  
Internet

12 words — < 1%

16 [www.coursehero.com](http://www.coursehero.com)  
Internet

12 words — < 1%

17 [pdfs.semanticscholar.org](http://pdfs.semanticscholar.org)  
Internet

11 words — < 1%

18 [dspace.luguniv.edu.ua](http://dspace.luguniv.edu.ua)  
Internet

10 words — < 1%

19 [conftiapv.at.ua](http://conftiapv.at.ua)  
Internet

9 words — < 1%

20 [www.frontiersin.org](http://www.frontiersin.org)  
Internet

9 words — < 1%

EXCLUDE BIBLIOGRAPHY ON

EXCLUDE MATCHES

< 9 WORDS