

## АНТИТРАНСPIРАНТИ ДЛЯ УСПIШНОЇ АДАПТАЦIЇ МIКРОКЛОНIВ ВИНОГРАДУ

**Н.М. ЗЕЛЕНЯНСЬКА**, кандидат сiльськогосподарських наук  
Нацiональний науковий центр «Институт виноградарства i виноробства  
iм. В.С. Таїрова» (ННЦ «IBiB iм. В.С. Таїрова») НААН України

Наведено результати наукових досліджень із застосування препаратів групи антитранспірантів для адаптації мікроклонів винограду до умов *in vivo*. Встановлено, що 0,3 і 0,5% концентрації препарату Vapor Gard та 0,4% концентрація препарату ЕПАА сприяють зниженню інтенсивності транспірації мікроклонів винограду, збільшенню кількості життєздатних рослин та покращенню їх біометричних показників росту.

**Ключові слова:** *in vitro*, антитранспіранти, мікроклони винограду, ЕПАА, Vapor Gard.

У біотехнологічній науці та сільськогосподарській практиці для масового розмноження багатьох видів культурних рослин нині широко застосовують методи культури тканин і органів *in vitro*, зокрема метод клонального мікророзмноження [5,9,10]. Перед традиційними способами він має ряд переваг: високий коефіцієнт розмноження, виробництво здорового садивного матеріалу, розмноження сортів, які погано розмножуються загальноприйнятими способами, виключає перезараження рослин, усуває вірогідність завезення і поширення карантинних об'єктів при інтродукції рослин, дозволяє тривалий час зберігати цінний генофонд.

Загальна схема клонального мікророзмноження рослин складається з таких етапів: відбір і стерилізація первинних експлантів; введення експлантів у культуру *in vitro*; проліферація бруньок та індукція розвитку пагонів;

укорінення і розмноження на поживних середовищах; адаптація рослин до умов *in vivo* [1, 2, 6].

Найвідповідальнішим і фінальним етапом цієї технології є адаптація мікроклональних рослин до нестерильних умов. Саме на цьому етапі спостерігається високий відсоток рослин, які гинуть чи пошкоджуються, за деякими оцінками, лише 25 % регенерованих мікроклонів успішно приживаються в нестерильних умовах [7].

Результати наукових досліджень показують, що стрес, якому піддаються рослини при зміні умов *in vitro* на умови *in vivo* є результатом цілої низки анатомо-фізіологічних особливостей мікроклональних рослин: недорозвинена воскова кутикула листків, неактивний продиховий апарат, слабка фотосинтетична активність, вітрифікація та недосконалий судинний зв'язок між коренем і пагоном, недорозвинені або відсутні кореневі волоски, що ускладнює поглинання і транспорт води та елементів живлення [5,6,7]. Такі особливості будови мікроклонів і умови їх культивування *in vitro* призводять до високого рівня транспірації листків рослин, і як наслідок, їх зневоднення і в'янення [7].

Багато наукових праць присвячено і адаптації мікроклонів винограду. Так, Т.М. Черевата запропонувала спосіб суміщення етапів мікрочубукування, вирощування та адаптації. Культивування рослин необхідно проводити на суміші Біони і цеоліту у співвідношенні 3:1 [11]. На етапі адаптації рослин винограду до природних умов Л.В. Іванова-Ханіна рекомендує суміш торфу, піску і ґрунту в співвідношенні 1:1:1 з додаванням у нижній шар субстрату гідроабсорбент Теравет [3], а А.М. Ребров стверджує, що адаптуванню оздоровлених рослин винограду до умов довкілля сприяє застосування регуляторів росту. Найефективнішими з них він вважає лігногумат калійний, екстрасол, емістим, циркон за використання субстрату глауконіту [8]. Але слід відзначити, що практичне застосування цих прийомів сприяє переважно адаптації кореневої системи і тільки частково – вегетативної маси.

Отже, багато наукових досліджень присвячено проблемі акліматизації рослин *in vitro*, у тому числі і винограду. Але практичні результати свідчать, що загибель пробірочних рослин винограду (залежно від сорту) на етапі адаптації до нестерильних умов залишається високою і коливається у межах від 30 до 70%.

**Метою нашого дослідження** було удосконалення способу адаптації мікроклонів винограду до умов *in vivo* при застосуванні антитранспірантів Vapor Gard та ЕПАА.

**Матеріал і методика досліджень.** Дослідження проводили у відділі розсадництва і розмноження винограду Національного наукового центру «Інститут виноградарства і виноробства ім. В.Є. Таїрова» протягом 2006-2010 рр. на мікроклонах винограду технічного сорту Шардоне.

Для стимуляції процесів проліферації пазушних бруньок і апікальних меристем на першому етапі культивування використовували модифіковане середовище Мурасіге і Скуга з додаванням цитокініну 6 – БАП.

На другому етапі експланти пересаджували у культуральні ємкості більшого об'єму на свіжі поживні середовища з додаванням фітогормонів ауксинів. Перше та наступні живцювання рослин проводили після досягнення ними висоти 8-10 см. Одновічкові мікрочубуки висаджували на безгормональні поживні середовища або середовища з мінімальною кількістю ауксинів. Етап живцювання мікроклонів винограду суміщали з вирощуванням та адаптацією на іонообмінному субстраті Біона.

Фізичні параметри у культуральному боксі були такими: температура 25 - 27° С, освітлення 800-1000 лкс. (впродовж першого тижня), надалі 2000-5000 лкс., 16-годинний фотоперіод.

Перший етап адаптації проводили в умовах культурального боксу впродовж 7-10 днів. Для адаптації відбирали мікроклони винограду висотою 6-8 см, які мали по 5-8 листочків, добре розвинену кореневу систему, без калусних утворень. Пристосування рослин до зниженої вологості повітря здійснювали відкриванням кришечок ємкостей протягом 3-7 днів, поступово

збільшуючи експозицію. Перед першим відкриванням кришечок проводили обприскування рослин розчинами антитранспірантів Vapor Gard та ЕПАА різних концентрацій, поверхню поживного середовища заливали тонким шаром дистильованої, автоклавованої води.

На другому етапі адаптації мікроклони винограду переносили в адаптаційну кімнату, де вони перебували ще 5-7 днів, після цього їх пересаджували у вегетаційні ємкості об'ємом 150 мл на суміш кокосового субстрату, вермикуліту, агроперліту. Після пересаджування мікроклони винограду вдруге обприскували розчинами антитранспірантів.

Схема досліджень щодо застосування препаратів Vapor Gard та ЕПАА на етапі адаптації мікроклонів винограду до нестерильних умов складалася з таких варіантів обприскування мікроклонів: 1 – 0,3%-ним розчином Vapor Gard, 2 – 0,5%-ним розчином Vapor Gard, 3 – 1,0%-ним розчином Vapor Gard, 4 – 1,5%-ним розчином Vapor Gard, 5 – 0,2%-ним розчином ЕПАА, 6 – 0,3%-ним розчином ЕПАА, 7 – 0,4%-ним розчином ЕПАА, 8 – дистильованою водою (контроль).

Препарат Vapor Gard належить до групи антитранспірантів. Діючі речовини – пінолін, емульгатор. Після нанесення на рослину препарат під впливом сонячного світла формує напівпроникну, прозору плівку, завдяки якій зменшується транспірація, підвищується приживлювання рослин, зменшується вплив абіотичних факторів та стресу після висаджування рослин у ґрунт.

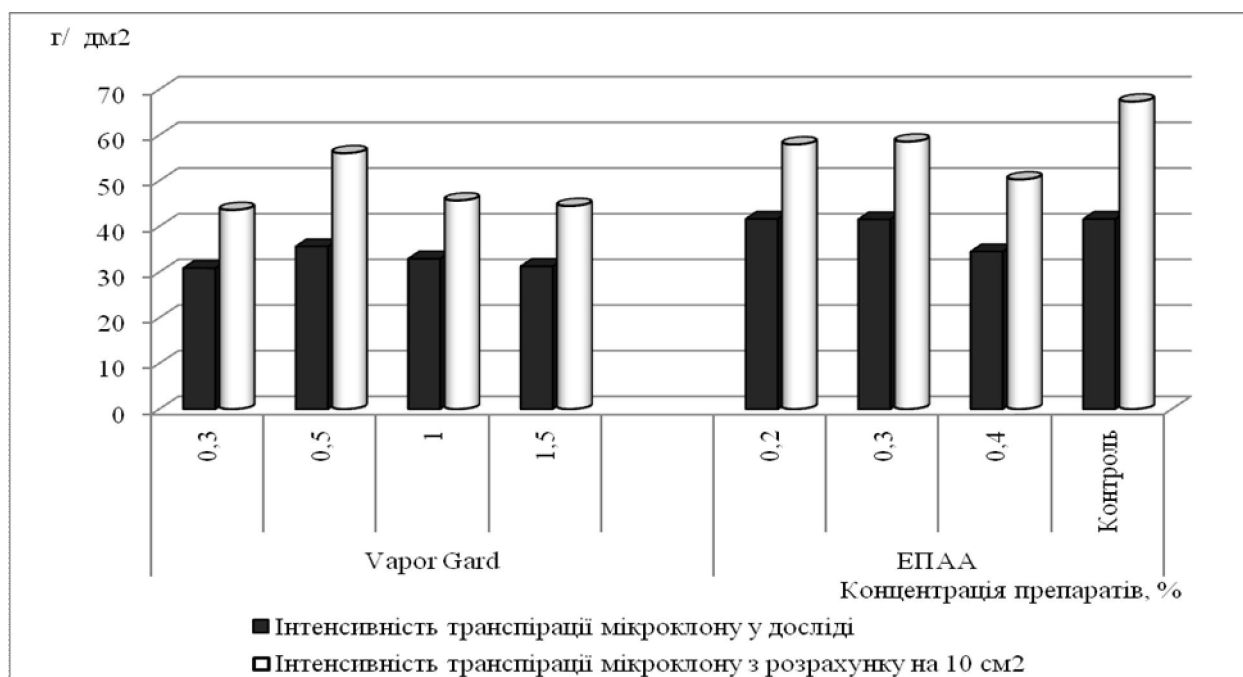
Біологічний гель ЕПАА створений на основі мікробних полісахаридів [4]. Він добре розчиняється у воді, має високу клейку здатність, утворює міцні плівки на рослинах, які фіксують корисну для рослин мікрофлору, допомагає їм переносити посуху та інші стреси і стимулює їх ріст. Препарат виготовлений в Інституті мікробіології і вірусології НАН України.

Для встановлення ефективності дії антитранспірантів у процесі проведення досліджень визначали інтенсивність транспірації мікроклонів з

нативною площею листків та у розрахунку на 10 см<sup>2</sup> [12], приживлюваність мікроклонів, їх висоту, кількість, площу листків, облистяність рослини.

**Результати досліджень та їх обговорення.** Відомо, що фізіологічний процес випаровування води рослиною – транспірація відбувається з поверхні основних органів транспірації – листків та продихів. Як результат, у клітинах листків знижується водний потенціал (тобто зростає всисна сила), що призводить до посилення поглинання клітинами листків води з ксилеми жилок і її руху у ксилемі від коренів до листки. Таким чином, висока всисна сила клітин листової паренхіми створює та підтримує роботу «верхнього кінцевого двигуна» і рух води вгору по рослині. Чим інтенсивніше відбувається транспірація, тим більша сила «верхнього кінцевого двигуна». Враховуючи недосконалу анатомічну будову мікроклонів винограду, зумовлену умовами *in vitro*, можна твердити про низьку всисну здатність кореневої системи, а відповідно і недостатню кількість води, яка буде рухатися ввєрх по рослині. Поряд із цим, через листовий апарат випаровується необмежена кількість води. Тому неузгодженість процесів її поглинання та випаровування у рослин *in vitro* супроводжується їх швидким в'яненням, особливо при зміні штучних умов на природні.

Згідно з літературними даними, витрати води листками культивованих *in vitro* рослин можна зменшити застосуванням плівкоутворювальних препаратів [7]. Як свідчать отримані результати після обробки мікроклонів винограду препаратами Vapor Gard і ЕПАА, інтенсивність транспірації мікроклонів усіх дослідних варіантів, порівняно із контролем, знижувалась (рис. 1).



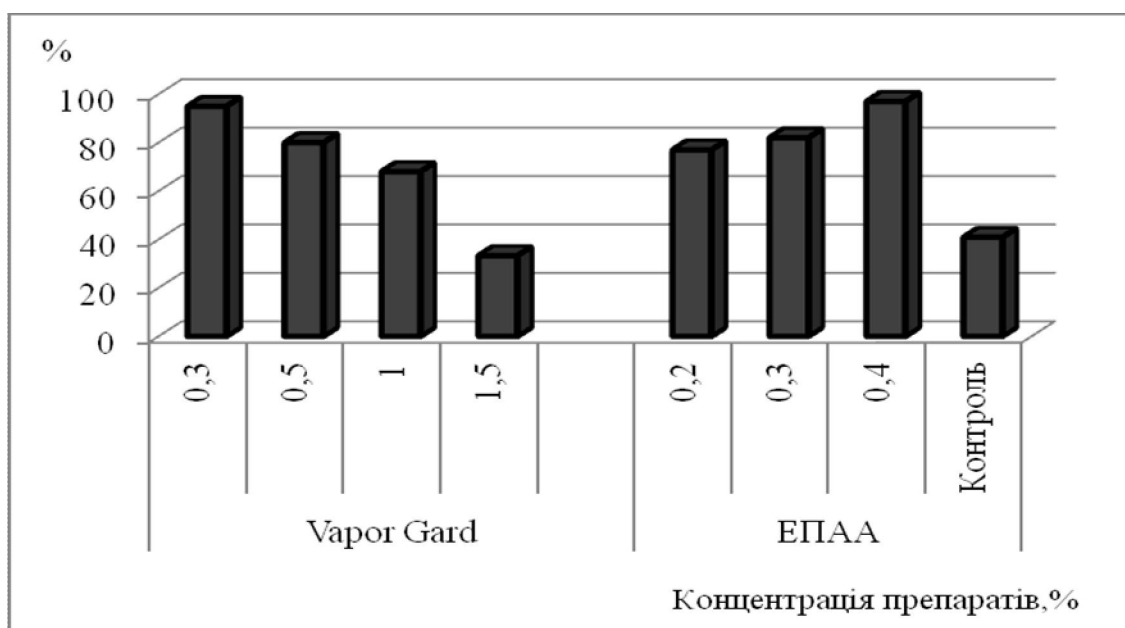
**Рис. 1. Вплив препаратів Vapor Gard та ЕПАА на інтенсивність транспірації мікроклонів винограду**

Так, після обробки мікроклонів винограду розчинами препарату Vapor Gard 0,3, 1,0 та 1,5%-ної концентрації інтенсивність транспірації становила 30,88, 32,93 та 31,27 г/дм<sup>2</sup> год. У мікроклонів контрольного варіанта цей показник збільшувався в 1,3 раза і становив 41,61 г/дм<sup>2</sup> год. Після обробки листкового апарату мікроклонів розчином цього препарату 0,5%-ної концентрації інтенсивність транспірації була вищою порівняно із першим (0,3%), третім (1,0%), четвертим (1,5%) варіантами на 7,5 – 13,3 %, але залишалась меншою за контрольного показника на 14,3 %. Після обробки мікроклонів винограду розчинами препарату ЕПАА 0,2 та 0,3%-ної концентрації цей показник не відрізнявся від контролю. У варіанті, де рослини обприскували 0,4%-ним розчином цього препарату, інтенсивність транспірації зменшувалась до 34,50 г/дм<sup>2</sup> год. і не відрізнялась від другого варіанта.

Оскільки нативна площа листків мікроклонів була різною, то можна припустити, що показник інтенсивності транспірації залежав не тільки від препарату чи концентрації, але і від загальної площі листків однієї рослини. Тому ми розраховали цей показник на однакову площу листової поверхні –

10 см<sup>2</sup> (див. рис. 1). Результати підтвердили отриману у дослідях закономірність: найменша інтенсивність транспірації була у першому, третьому, четвертому та сьомому варіантах і становила відповідно 43,60, 45,69, 44,48 та 50,28 г/дм<sup>2</sup>год., у другому, п'ятому та шостому варіантах цей показник збільшувався на 12,26 – 14,09 г/дм<sup>2</sup>год. порівняно з першим, третім, четвертим та сьомим варіантами та на 8,80 – 11,3 г/дм<sup>2</sup>год порівняно з контролем.

Ефективність будь-якого технологічного прийому оцінюють за виходом кінцевої продукції та її якості. У нашій роботі йдеться про приживлювання мікроклонів винограду у нестерильних умовах та їх якість (розвиток вегетативної маси). Тому через 30 діб після пересаджування рослин на субстрати у культуральні ємкості провели обліки їх приживлювання (рис. 2.).



**Рис. 2. Вплив препаратів Vapor Gard та EPAА на приживлюваність мікроклонів винограду**

Після обробки мікроклонів винограду розчином препарату Vapor Gard різних робочих концентрацій приживлюваність мікроклонів залежала від концентрації робочого розчину. Найкраще приживалися рослини у першому варіанті, після обробки їх розчином 0,3%-ної концентрації. У другому та

третьому варіантах ці показники дорівнювали відповідно 80,0 та 68,0%, що на 39,1% та 27,1% більше порівняно з контролем. У контрольному варіанті приживлюваність мікроклонів винограду була найнижчою – 41,0%. Перше приживлювались культуральні рослини після обробки препаратом Varog Gard за найбільшої робочої концентрації – 1,5%, вона становила 33,3 %, що на 7,6% менше контролю. Отже, із збільшенням концентрації розчину препарату Varog Gard показник приживлюваності мікроклонів зменшувався. Після обробки рослин розчином ЕПАА спостерігали зворотну залежність: із збільшенням концентрації робочого розчину кількість життєздатних рослин збільшувалась. Найкращим варіантом за приживлюваністю мікроклонів винограду був сьомий варіант (0,4%), де цей показник дорівнював 97,0%.

Відомо, що характер росту і ступінь розвитку асиміляційного апарату здатні впливати на основні процеси життєдіяльності виноградної рослини: фотосинтез, транспірацію, дихання та ін. У зв'язку з цим у процесі культивування необхідно створювати такі умови, які б забезпечували активний ріст і високу продуктивність листкового апарату. Проведені дослідження свідчать про те, що препарати, які вивчали, суттєво впливали на ці показники у мікроклональних рослин винограду (табл.). Вимірювання висоти рослин через 35 днів після висаджування показало, що найвищі мікроклони винограду формувалися у контрольному варіанті (їх висота становила 6,7 см) та у варіантах після обробки препаратом ЕПАА усіх робочих концентрацій. Так, у п'ятому варіанті висота рослин становила 8,5 см, у шостому – 10,0 см, у сьомому – 8,5 см. Після обробки препаратом Varog Gard 0,3 – 1,0%-ної концентрації висота мікроклонів винограду не відрізнялась від контролю, і у четвертому варіанті (після обробки розчином найбільшої робочої концентрації) вона була меншою за контроль майже удвічі. Аналогічну закономірність зміни показника висоти рослин за варіантами спостерігали і після 90 днів їх культивування.



**Вплив антитранспірантів на біометричні показники розвитку  
мікроклонів винограду**

Варіант	Висота рослин, см	Кількість листків, шт.	Площа листка, см <sup>2</sup>	Площа листової поверхні мікроклону, см <sup>2</sup>	Облистяність мікроклону, см <sup>2</sup> /м
<b>Через 35 діб після висаджування</b>					
1	6,5	2,7	7,41	22,52	346,46
2	6,0	2,5	7,44	18,52	308,66
3	6,3	2,6	6,84	20,32	322,53
4	3,2	2,3	4,97	11,50	359,37
5	8,5	3,0	10,09	33,29	391,64
6	10,0	3,2	10,58	37,03	370,30
7	8,5	3,0	10,15	30,45	358,23
8	6,7	3,3	8,45	27,88	416,11
<b>Через 90 діб після висаджування</b>					
1	13,0	4,0	14,88	69,24	532,61
2	12,5	3,6	14,83	63,41	507,28
3	12,7	4,6	13,69	60,65	447,55
4	6,8	4,3	9,94	42,66	62,450
5	17,0	5,0	20,18	107,03	629,58
6	20,1	5,6	21,17	114,43	569,30
7	17,1	5,1	20,30	109,67	641,34
8	13,7	4,8	16,91	86,22	629,34

Через 90 діб після висаджування максимальною величиною одного листка та площі листової поверхні характеризувалися мікроклональні рослини у варіантах, де застосовували препарат ЕПАА. Площа одного листка змінювалась у межах 20,18 – 21,17 см<sup>2</sup>, а листової поверхні відповідно – від 107,03 до 114,43 см<sup>2</sup>. У рослин контрольного варіанта ці показники становили відповідно 16,91 та 86,22 см<sup>2</sup>, а у варіантах після застосування препарату Varog Gard (особливо четвертий варіант) були меншими порівняно з контролем, і варіантами з препаратом ЕПАА. Слід відзначити, що у четвертому варіанті площа листка порівняно з контролем зменшувалась в 1,7 рази, а площа листової поверхні – у 2,0 рази.

## Висновки

1. Препарати Vapor Gard та ЕПАА доцільно застосовувати для позакореневої обробки вегетативної маси мікроклонів винограду на початковому етапі адаптації мікроклонів до умов *in vivo*. Слід проводити дві обробки рослин: першу - у культуральних ємкостях перед початком адаптації, другу – після висаджування рослин на поживні субстрати або в захищений ґрунт.
2. Оптимальними концентраціями препарату Vapor Gard є 0,3 та 0,5%, а ЕПАА – 0,4%. Вони сприяють зниженню інтенсивності транспірації на початку процесу адаптації, що супроводжувалось збільшенням кількості життєздатних рослин із добре розвинуеною вегетативною масою.

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Brainerd K. E. Acclimatization of aseptically cultured apple plants to low relative humidity / K. E. Brainerd, L. H. Fuchigami // J. Ammer. Soc. Hort. Sci. – 1981. – Vol. 106. – P. 515 – 518.
2. Горинг Х. Преодоление витрификации и улучшение акклиматизации растений при микроклональном размножении / Х. Горинг // Интродукция растений. – Ростов-на-Дону, 1993. – 64 с.
3. Іванова-Ханіна Л. В. Клональне мікророзмноження і отримання оздоровленого садивного матеріалу винограду у культурі *in vitro*: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. с.-г. наук: спец. 06.01.14 «Насінництво» / Л. В. Іванова-Ханіна. – Сімферополь, 2010. – 20 с.
4. ЕПАА – універсальний носій та приліплювач до рослин препаратів різної природи / [С. К. Воцелко, Р. І. Гвоздяк, О. О. Литвинчук та ін.] // Фітопатогенні бактерії. Фітонцидологія. Алелопатія : зб. статей міжнар. наук. конф. (4-6 жовтня 2005 р., Київ). – К.: Держ. агрокол. ун.-т, 2005. – С.197 – 200.

5. Калинин Ф. Л. Методы культуры тканей в физиологии и биохимии растений / Калинин Ф. Л., Сарнацкая В. В., Полищук В. Е. – К. : Наукова думка, 1980. – 488 с.
6. Conner L. N. Comparative water loss from leaves of *Solanum laciniatum* plants cultured in vitro and in vivo / L. N. Conner, A. J. Conner // *Plant. Sci. Let.* – 1984. – Vol. 36. – P. 241 – 246.
7. Медведєва Т.В. Проблеми акліматизації культивованих in vitro рослин / Т.В. Медведєва // *Фізіологія і біохімія культурних рослин.* – 2008. – Т. 40. - № 4. – С. 299 – 308.
8. Ребров А. Н. Адаптация растений винограда in vitro к условиям нестерильной среды: автореф. дисс. на соискание ученой степени канд. биол. наук: спец. 06.01.07 «Плодоводство, виноградарство» / А. Н. Ребров. Новочеркасск, 2007. – 27 с.
9. Роик Н. В. Геном растений и биотехнология : тез. докл. IV междунар. конф. [Геном растений], (Одесса, 1-13 июня 2003 г.) / Южный биотехнологический центр в растениеводстве. – Одесса, 2003. – 83 с.
10. Ускоренное размножение ценных генотипов винограда / П. Я. Голодрига, В. А. Зленко, Р. Г. Бутенко [и др.] // *Садоводство.* – 1982. – № 3. – С. 24 – 27.
11. Черевата Т. М. Розробка і оптимізація прийомів клонального мікророзмноження для виробництва садивного матеріалу винограду: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. с. - г. наук: спец. 06.01.08 „Виноградарство” / Т. М. Черевата. – Одеса: ННЦ «ІВіВ ім. В.Є. Таїрова» 2006. – 22 с.
12. Шерер В. А. Особенности виноградного растения и методы оценки показателей органов и тканей: науч.-метод. пособ. / В. А. Шерер, Н. Н. Зеленианская. – Одесса: ННЦ «ИВиВ им. В.Е. Таирова», 2011. – 114 с.

# АНТИТРАНСПИРАНТЫ ДЛЯ УСПЕШНОЙ АДАПТАЦИИ МИКРОКЛОНОВ ВИНОГРАДА

*Н.Н. ЗЕЛЕНЯНСКАЯ*

Приведены результаты научных исследований по применению препаратов группы антитранспирантов для адаптации микроклонов винограда к условиям *in vivo*. Установлено, что 0,3 и 0,5% концентрации препарата Vapor Gard и 0,4% концентрация препарата ЭПАА способствуют снижению интенсивности транспирации микроклонов винограда, увеличению количества жизнеспособных растений и улучшению их биометрических показателей роста.

**Ключевые слова:** *in vitro*, антитранспиранты, микроклоны винограда, ЭПАА, Vapor Gard.

# ANTITRANSPIRANTS FOR A SUCCESSFUL ADAPTATION OF GRAPE MICROCLONES

*N.M. Zelenyanska*

Results of research on application of the antitranspirant group preparations intended to adapt grape microclones to *in vivo* conditions are presented. It is established that 0.3% and 0.4% concentrations of Vapor Gard and 0.4% concentration of EPAА preparations effectively reduce transpiration intensity, increase a number of viable plants and improve their biometric growth indices.

**Key words:** *in vitro*, antitranspirants, grape microclones, EPAА, Vapor Gard.