

## Особливості введення в культуру *in vitro* вишні сорту 'Ксенія' та черешні сорту 'Василиса прекрасна'

Т. А. Натальчук<sup>1\*</sup>, Т. В. Медведєва<sup>1</sup>, Я. С. Запольський<sup>1</sup>, О. Б. Барбан<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Інститут садівництва НААН України, вул. Садова, 23, м. Київ, 03027, Україна, \*e-mail: Tania87@meta.ua

<sup>2</sup>Український інститут експертизи сортів рослин, вул. Генерала Родимцева, 15, м. Київ, 03041, Україна

**Мета.** Визначити оптимальні строки відбору експлантів, підібрати стерилізуючі агенти та режими стерилізації, а також поживне середовище для введення в культуру *in vitro* нових перспективних сортів вишні (*Prunus cerasus* L.) та черешні (*Prunus avium* L.). **Методи.** У процесі роботи застосовано методику клонального мікророзмноження рослин і статистичні обробки експериментальних даних. **Результати.** Встановлено оптимальний строк відбору експлантів, тривалість експозиції при стерилізації, оптимальний склад поживного середовища на першому етапі мікроклонального розмноження. Для визначення оптимального режиму стерилізації та стерилізуючого препарату використовували 0,1% розчин хлориду ртуті та 3% розчин препарату «Лізоформін 3000» з експозицією стерилізації 5, 6 та 7 хвилин. Найбільший вихід стерильних експлантів як для вишні сорту 'Ксенія', так і для черешні сорту 'Василиса прекрасна' отримали при експозиції стерилізації 7 хв для обох стерилізуючих агентів. При використанні 0,1% розчину хлориду ртуті цей показник був вищий, ніж при стерилізації 3% розчином препарату «Лізоформін 3000» – 71 і 99% відповідно. **Висновки.** На ефективність стерилізації та введення в культуру *in vitro* експлантів вишні 'Ксенія' і черешні 'Василиса прекрасна' впливали тривалість стерилізації, час відбору експлантів, фітосанітарний стан маточної рослини, склад поживного середовища. 0,1% розчин хлориду ртуті при експозиції 7 хв був найефективнішим при отриманні асептичної культури з експлантів, вилучених з донорних рослин у стані спокою при пророщуванні бруньок у контрольованих умовах. Використання препарату «Лізоформін 3000» в концентрації 3% впродовж 6–7 хв при стерилізації експлантів досліджуваних культур сприяло їхній кращій приживлюваності на середовищі. Оптимальним за складом поживним середовищем для культивування експлантів вишні 'Ксенія' було середовище з додаванням соку алое, а для черешні 'Василиса прекрасна' – MS + флороглюцинол. Найвищу ефективність стерилізації (99% у сорту 'Василиса прекрасна' та 71% у сорту 'Ксенія') отримали за використання 0,1% HgCl<sub>2</sub> в експозиції 7 хв. При використанні препарату «Лізоформін 3000» за такої ж експозиції стерилізації цей показник становив 83 та 52% відповідно до культури. Виходячи з цього можна рекомендувати використовувати препарат «Лізоформін 3000» у 3% концентрації з експозицією 7 хв для стерилізації кісточкових культур.

**Ключові слова:** *Prunus avium* L.; *Prunus cerasus* L.; культура *in vitro*; відбір експлантів; стерилізація; поживне середовище; регулятори росту.

### Вступ

Метод мікроклонального розмноження рослин *in vitro* давно й обґрунтовано зарекомендував себе як найефективніший спосіб вегетативного розмноження рослин. Не дивля-

чись на досягнення в отриманні садивного матеріалу з використанням методу мікроклонального розмноження, у процесі роботи виникає низка проблем, які, перш за все, пов'язані з генетичними особливостями розмножуваних культур [1]. Головну роль тут можуть зіграти такі фактори як сортові і видові особливості, походження експлантів, вибір стерилізуючого агента та режиму стерилізації, склад поживного середовища. Два останніх фактори потребують особливої уваги, тому що процес уведення в культуру *in vitro* часто визначає ефективність мікроклонального розмноження і безпосередньо впливає на собівартість вирощеного матеріалу та

Tetiana Natalchuk

<https://orcid.org/0000-0003-0570-3488>

Tamara Medvedieva

<https://orcid.org/0000-0002-1916-7834>

Yaroslav Zapolskyi

<https://orcid.org/0000-0002-5421-8262>

Olha Barban

<https://orcid.org/0000-0001-8819-3115>

на рентабельність всього процесу розмноження [2].

Одним з лімітуючих факторів при розробленні технології мікроклонального розмноження вишні і черешні є виділення фенолів у поживне середовище із сегментів стебла та бруньок і контамінація ендofітними бактеріями, що призводить до пригнічення процесів морфогенезу, через що дуже важко отримати асептичну культуру. З метою позбавлення рослинного матеріалу від ендofітної мікрофлори використовують, як правило, хімічні розчини – хлорид ртуті (сулема), гіпохлорити кальцію та натрію, перекис водню, 0,3–1,0%-й розчин азотнокислого срібла, хлорбензиділ глюконат та ін. [3].

Оскільки більшість цих препаратів токсичні, правильний вибір стерилізуючого засобу полягає в тому, щоб він згубно подіяв на мікроорганізми і не пошкодив при цьому рослинні тканини. Одним з таких препаратів, який досить широко використовується для стерилізації декоративних і плодово-ягідних культур, є «Лізоформін 3000» [4].

Також велике значення при мікроклональному розмноженні кісточкових культур має поживне середовище. Для мікророзмноження вишні та черешні використовують широкий спектр середовищ, але найживанішим є середовище Мурасіге–Скуга (МС) [5–7].

Крім названих вище чинників, досить суттєвим є період відбору матеріалу. Більшість дослідників найкращим часом вважають період спокою або період активної вегетації [8]. За даними Муратової С. А. [1] деревні плодови культури найкраще вводити в стерильну культуру в період з лютого по квітень, коли рослини виходять зі стану спокою. У свою чергу Висоцький [9] дослідив, що експланти, ізольовані у фазу виходу зі стану спокою, найменше схильні до негативних явищ, пов'язаних з процесами окислення та поліконденсації фенольних сполук.

*Мета досліджень* – визначити оптимальні строки відбору експлантів, підібрати стерилізуючі агенти та режими стерилізації, а також поживне середовище для введення в культуру *in vitro* нових перспективних сортів вишні та черешні.

### Матеріали та методика досліджень

Досліди проводили у відділі вірусології, оздоровлення та розмноження плодових і ягідних культур Інституту садівництва НААН України протягом 2017–2019 рр. Об'єктами досліджень були сорти вишні 'Ксенія' і черешні 'Василиса прекрасна'. Сорт вишні 'Ксенія', що виведено на Артемівській

дослідній станції садівництва, відносять до середньорослих, крупноплідних, десертних сортів. Автори – Л. І. Тараненко, О. А. Кіщак, В. В. Ярушніков. У Реєстр сорт занесено у 2012 році. Сорт 'Василиса прекрасна' виведено Л. І. Тараненко схрещуванням сортів 'Донецький угольок' і 'Донецька красуня'. У Реєстр сорт занесено у 2015 році.

Ці перспективні сорти не набули значного поширення у виробництві через сильне ураження вірусними хворобами, позбавитись від яких дозволяє метод мікроклонального розмноження рослин. Вихідний матеріал для ініціювання асептичної культури відбирали в колекційних насадженнях Інституту садівництва НААН України.

Пагони, що були в стані спокою, нарізали в січні–березні і перед вилученням експлантів витримували в контрольованих умовах. Здерев'янілі пагони відбирали в серпні. Для ініціювання культури *in vitro* використовували верхівкові та пазушні бруньки розміром 2–3 см.

Стерилізацію експлантів проводили за допомогою гіпохлориту натрію, спирту, розчину сулеми і препарату «Лізоформін 3000». Перший варіант стерилізації включав такі етапи: 1) обробка експлантів у розчині гіпохлориту натрію – 20 хв із наступним промиванням у воді; 2) стерилізація 70° спиртом (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH) – 4 с із наступним промиванням у воді; 3) стерилізація в 0,1% розчині сулеми (HgCl<sub>2</sub>) – 5, 6 та 7 хв із триразовим промиванням стерильною дистильованою водою. У другому варіанті розчин сулеми замінили 3% розчином «Лізоформіну 3000» і стерилізацію проводили з такою ж експозицією – 5, 6 та 7 хв з наступним промиванням дистильованою водою.

З метою визначення оптимального складу середовища при введенні в культуру *in vitro* досліджуваних культур до базового середовища MS додавали: 1) НОК 0,01 мг/л; 2) флороглюцінол 162 мг/л; 3) сік алое 10 мл/л; 4) фітагель 2,5 г/л. Як контроль використовували стандартне середовище Мурасіге–Скуга з умістом бензиламінопурину 0,5 мг/л. Окремо випробовували вплив складу середовищ SH [10] та NRM [11] на ініціювання асептичної культури. Мікропагони культивували протягом 16-годинного світлового дня з освітленням 2000–2500 лк за температурою 23–25 °С і вологості повітря 50–60%.

Ефективність стерилізаційних процедур експлантів залежно від середовища підраховували на 21 добу культивування, коли почались морфогенетичні процеси. Інфіковані експланти було відбраковано.

## Результати досліджень

Для обмеження бактеріальної та грибною мікрофлори в культурі тканин рослин є три основні підходи: запобігання інтродукції мікроорганізмів з початковим рослинним матеріалом, запобігання їхньої інтродукції з оточуючого середовища протягом субкультивування та уникнення мікробної контамінації в культурі на стадіях розмноження й укорінення. Найефективнішим способом запобігання бактеріальній контамінації є елімінація бактерій з вихідних рослинних експлантів, що мають бути інтродуковані в культуру *in vitro*. Методи, що сприяють цьому, включають використання донорних експлантів з рослин, що утримуються в жорстких санітарних умовах, ефективну стерилізацію та мінімізацію розміру вихідних експлантів аж до апікальних меристем. Процедури стерилізації різноманітні і залежать від виду рослини, її віку, оточуючого середовища, в якому росла донорна рослина та частини рослини, взятої для стерилізації. Стандартні стерилізаційні процедури, що підходили б для всіх рослин, підібрати дуже складно. Тому дослідження націлені на стандартизацію способу стерилізації експлантів вишні 'Ксенія' та черешні 'Василиса прекрасна', для чого використовували два типи стерилізуючих розчинів, різні їхні концентрації та тривалість процедури стерилізації.

Для визначення оптимального режиму стерилізації та стерилізуючого препарату використовували 0,1% розчин хлориду ртуті та 3% розчин препарату «Лізоформін 3000» з експозицією стерилізації 5, 6 та 7 хвилин.

До складу останнього входить гліоксаль, глутаровий альдегід, дідецилдіметиламоній хлорид і різні допоміжні інгредієнти. Препарат має бактерицидну, віроцидну і фунгіцидну дію. Високий вихід життєздатних експлантів (70–90%) за використання 1–3% розчину Лізоформіну протягом 5–7 хв отримано для ряду рідкісних і зникаючих видів рослин під час стерилізації насіння, ізольованих зародків та сегментів бульб [4]. При стерилізації ним жимолості їстівної вихід стерильних експлантів склав від 90 до 100% [12]. Найбільший вихід стерильних експлантів як для сорту 'Ксенія', так і для сорту 'Василиса прекрасна' отримали при експозиції стерилізації 7 хв для обох стерилізуючих агентів (табл. 1). Але при використанні 0,1% розчину хлориду ртуті цей показник був вищий, ніж при стерилізації 3% розчином препарату «Лізоформін 3000» – 71 і 99%, відповідно, що перевищує показники, отримані в дослідженнях I. Mihaljević із співавторами [13] для цього стерилізуючого препарату при стерилізації експлантів вишні сорту 'Oblačinska'.

При зменшенні тривалості експозиції до 6 хв кількість отриманих стерильних експлантів суттєво знизилась у вишні і черешні, але була вищою при використанні препарату Лізоформін порівняно з хлоридом ртуті. Цей стерилізуючий агент при експозиції 6 і 7 хв був також ефективніший при отриманні асептичної культури з експлантів обох досліджуваних сортів у період активної вегетації (табл. 1) і сприяв їхній кращій приживлюваності на середовищі за рахунок менш токсичного впливу (рис. 1).

Таблиця 1

### Вплив періоду відбору та умов стерилізації на вихід стерильних експлантів

Варіант стерилізації	Вихід стерильних експлантів, % $\bar{x} \pm S$			
	Сорт 'Ксенія'		Сорт 'Василиса прекрасна'	
	Період виходу зі спокою	Період активної вегетації	Період виходу зі спокою	Період активної вегетації
HgCl <sub>2</sub> – 5 хв	18 ± 1,44	10 ± 1,02	21 ± 1,18	0
HgCl <sub>2</sub> – 6 хв	29 ± 1,65	15 ± 1,25	33 ± 1,42	15 ± 1,29
HgCl <sub>2</sub> – 7 хв	71 ± 1,87	17 ± 1,33	99 ± 1,95	23 ± 1,40
Лізоформін 3000 – 5 хв	6 ± 0,95	0	0	0
Лізоформін 3000 – 6 хв	36 ± 1,69	31 ± 1,48	60 ± 1,79	18 ± 1,32
Лізоформін 3000 – 7 хв	52 ± 1,72	38 ± 1,70	83 ± 1,84	21 ± 1,56

Примітка.  $\bar{x}$  – середнє значення, S – похибка вибіркової середньої.

За оцінювання впливу строків відбору матеріалу для введення на кількість і якість отриманих експлантів встановлено, що при відборі зразків у період спокою вихід стерильних експлантів був у середньому 33% в сорту 'Ксенія' та 47% в сорту 'Василиса пре-

красна' (табл. 1). При відборі в період активної вегетації цей показник знизився і становив 19% в сорту 'Ксенія' і 13% в сорту 'Василиса прекрасна'. Більший вихід стерильних експлантів при відборі зразків з материнських рослин у стані спокою забезпечу-

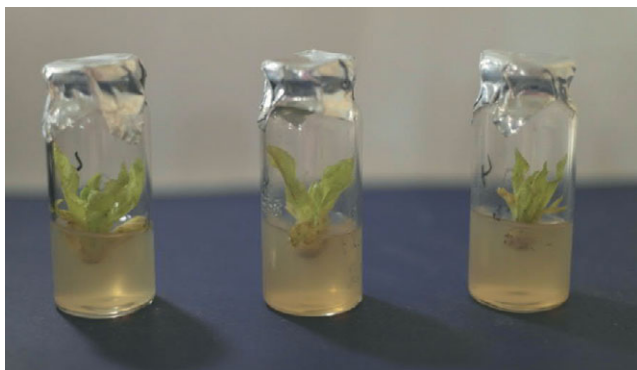


Рис. 1. Розвиток експлантів вишні сорту 'Ксенія'

ється в першу чергу ізоляцією відібраного матеріалу від зовнішніх факторів впливу.

Процес регенерації кісточкових культур з первинних експлантів часто супроводжується виділенням ними в живильне середовище продуктів окислення фенолів, які пригнічують регенераційні та ростові процеси. Щоб знизити окислювальну активність фенольних сполук часто використовують антиоксиданти. Для цього середовище MS було модифіковано додаванням соку алое, флороглюцинолу, а також замінено агар на фітагель (Phytigel™, Sigma). Фітагель, як і агар, – полісахаридний комплекс, але ізольований з бактерії *Pseudomonas elode*. Він містить глюкуронову кислоту, глюкозу, рамнозу і значну кількість калію, натрію, кальцію та магнію, формує

відносно прозорий гелі і не містить фенольних компонентів та інших органічних забруднювачів, які можуть бути в агарі [14].

Флороглюцин (1,3,5-тригідроксibenzen) є регулятором росту, що діє синергічно з ауксинами та цитокінінами. Дослідження дії в культурі рослинних клітин і тканин показало, що він посилював ріст і розвиток мікропагонів у деяких деревних порід, був ефективним при ініціюванні адвентивних коренів при укоріненні *in vitro* мікропагонів різних деревних видів, посилював виживання меристеми в умовах *in vitro*, сприяв розмноженню та елонгації мікропагонів [15].

Існують нечисленні дослідження медичного препарату екстракту алое, де його застосовують, як стимулятор росту кісточкових культур в технології *in vitro*. Завдяки його дії скорочується термін розмноження пагонів, підвищується коефіцієнт розмноження, а також підвищується ефективність виходу стандартних живців [16]. Є припущення, що даний препарат може мати терапевтичну дію при введенні експлантів у культуру *in vitro*.

Також випробовували середовище NRM [11], рекомендоване для введення і розмноження горіхоплідних культур, що містить у своєму складі комплекс Fe-EDDHA; MS – у якому ІМК замінили на НОК та середовище SH [10], часто вживане при культивуванні кісточкових культур (табл. 2).

Таблиця 2

Вплив складу поживного середовища на ефективність введення в культуру *in vitro* експлантів вишні сорту 'Ксенія' та черешні сорту 'Василиса прекрасна'

Сорт	Ефективність введення експлантів у культуру <i>in vitro</i> , %						
	MS (контроль)	MS + НОК	MS + флороглюцинол	MS + сік алое	MS + фітагель	NRM	SH
'Ксенія'	30	26	26	42	21	30	21
'Василиса прекрасна'	25	22	51	23	18	24	20

Для ініціювання асептичної культури вишні сорту 'Ксенія' оптимальним виявилось середовище MS з додаванням соку алое, а для черешні сорту 'Василиса прекрасна' – середовище MS з флороглюцинолом, що дозволяло зняти явища поліконденсації фенолів та підвищити кількість і якість мікропагонів при мікроклонуванні.

### Висновки

На ефективність стерилізації та введення в культуру *in vitro* експлантів вишні 'Ксенія' і черешні 'Василиса прекрасна' впливали тривалість стерилізації, час відбору експлантів, фітосанітарний стан маточної рослини, склад поживного середовища. 0,1% розчин хлориду ртуті при експозиції 7 хв

найефективніший при отриманні асептичної культури з експлантів, вилучених з донорних рослин у стані спокою при пророщуванні бруньок в контрольованих умовах.

Використання препарату «Лізоформін 3000» у концентрації 3% впродовж 6–7 хв при стерилізації експлантів досліджуваних культур сприяло їхньому кращому введенню в культуру *in vitro*.

Оптимальним за складом поживним середовищем для культивування експлантів вишні 'Ксенія' було середовище з додаванням екстракту алое, а для черешні 'Василиса прекрасна' – MS + флороглюцинол.

Найвищу ефективність стерилізації (99% у сорту 'Василиса прекрасна' та 71% у сорту 'Ксенія') отримано за використання 0,1%

HgCl<sub>2</sub> в експозиції 7 хв. При використанні препарату «Лізоформін 3000» за такої ж експозиції стерилізації цей показник становив 83 та 52% відповідно до культури. Виходячи з цього можна рекомендувати використовувати препарат «Лізоформін 3000» у 3% концентрації з експозицією 7 хв для стерилізації кісточкових культур.

### Використана література

1. Муратова С. А. Особенности введения в культуру *in vitro* плодовых и ягодных растений. *Плодоводство*. 2005. Т. 17, Ч. 2. С. 182–183.
2. Высоцкий В. А. Биотехнологические приемы в современном садоводстве. *Садоводство и виноградарство*. 2006. № 2. С. 2–3.
3. Nacheva L. R., Ivanova V. S. Silver nitrate and chlorhexidine gluconate – effective surface sterilization agents in disinfection procedures at the initiation of woody shoot tip and embryo culture. *J. BioSci. Biotech.* 2017. Vol. 6, Iss. 3. P. 187–190.
4. Чаркова А. А. Редкие и исчезающие виды растений в культуре *in vitro*. *Ogarev-online*. 2013. № 11. URL: <http://journal.mrsu.ru/arts/redkie-i-ischezayushhie-vidy-rastenij-v-kulture-in-vitro>
5. Дудченко О. П. Регенерация в культуре изолированных меристем сливы. *Биология культивируемых клеток и биотехнология 2* : тезисы докладов Междунар. науч. конф. (Новосибирск, 2–6 августа 1988 г.). Новосибирск, 1988. С. 358.
6. Олешко Е. В. Особенности клонального микроразмножения подвоев и сортов вишни : автореф. дис. ... канд. биол. наук : спец. 03.00.12 «Физиология растений» / Московская сельхоз. академия им. К. А. Тимирязева. Москва. 1985. С. 15.
7. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plantarum*. 1962. Vol. 15, Iss. 3. P. 473–497. doi: 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x
8. Кушнір Г. П., Сарнацька В. В. Мікроклональне розмноження рослин. Київ : Наук. думка, 2005. 271 с.
9. Высоцкий В. А. Клональное микроразмножение плодовых растений и декоративных кустарников. *Микроразмножение и оздоровление растений в промышленном плововодстве и цветоводстве*. Мичуринск, 1989. С. 3–8.
10. Schenk R. U., Hildebrandt A. C. Medium and techniques for induction and growth of monocotyledonous and dicotyledonous plant cell cultures. *Can. J. Bot.* 1972. Vol. 50, Iss. 1. P. 199–204. doi: 10.1139/b72-026
11. Nas M. N., Read P. E. Micropropagation of hybrid hazelnut: medium composition, physical state and iron source affect shoot morphogenesis, multiplication and explant vitality. *Acta Hort.* 2001. Vol. 556. P. 251–258. doi: 10.17660/ActaHortic.2001.556.36
12. Запольський Я. С., Медведєва Т. В., Натальчук Т. А., Бублик М. О. Використання препарату Лізоформін 3000 для отримання асептичної культури жимолості в умовах *in vitro*. *Вісник аграр. науки*. 2018. Вип. 9. С. 45–50. doi: 10.31073/agrovisnyk201809-07
13. Ines M., Dugalić K., Tomaš V. et al. *In vitro* sterilization procedures for micropropagation of 'Oblačinska' sour cherry. *J. Agric. Sci.* 2013. Vol. 58, Iss. 2. P. 117–126. doi: 10.2298/JAS1302117M
14. Buah J. N., Kawamitsu Y., Sato S., Murayama S. Effects of different types and concentrations of gelling agents on the physical properties of media and growth of banana (*Musa spp.*) *in vitro*. *Plant Prod. Sci.* 1999. Vol. 2, Iss. 2. P. 138–145. doi: 10.1626/pps.2.138
15. Londe L. C., Vendrame W. A., Oliveira A. B. et al. Phloroglucinol is Effective for *in vitro* Growth and Multiplication of *Musa accuminata* Cv. Grand Naine Shoots and Roots. *J. Adv. Biol. Biotechnol.* 2017. Vol. 13, Iss. 2. P. 1–8. doi: 10.9734/JABB/2017/33718
16. Патент России 2045891 МПК А01Н3/00. Питательная среда для микроклонального размножения косточковых культур / Фардзинова И. М. заяв. 1992-06-08, публ. 20.10.1995. URL: <http://www.freepatent.ru/patents/2045891>
1. Muratova, S. A. (2005). Features of introduction of fruit and berry plants into *in vitro* culture. *Plodovodstvo* [Horticulture], 17(2), 182–183. [in Russian]
2. Vysotskiy, V. A. (2006). Biotechnological techniques in modern gardening. *Sadovodstvo i vinogradarstvo* [Horticulture and Viticulture], 2, 2–3. [in Russian]
3. Nacheva, L. R., & Ivanova, V. S. (2017). Silver nitrate and chlorhexidine gluconate – effective surface sterilization agents in disinfection procedures at the initiation of woody shoot tip and embryo culture. *J. BioSci. Biotech.*, 6(3), 187–190.
4. Charkova, A. A. (2013). Rare and endangered species of plants *in vitro*. *Ogarev-online* [Ogarev-online], 11. Retrieved from <http://journal.mrsu.ru/arts/redkie-i-ischezayushhie-vidy-rastenij-v-kulture-in-vitro>
5. Dudchenko, O. P. (1988). Regeneration in the culture of isolated plum meristems. In *Biologiya kul'tiviruemyykh kletok i biotekhnologiya 2: tezisyy dokladov Mezhdunar. nauch. konf.* [Biology of cultured cells and biotechnology 2: Abstracts of the Int. Sci. Conf.] (p. 358). 2–6 Aug., 1988, Novosibirsk, Russia. [in Russian]
6. Oleshko, E. V. (1985). *Osobennosti klonal'nogo mikrorazmnozheniya podvoev i sortov vishni* [Features of clonal micropropagation of stocks and varieties of cherries] (Extended Abstract of Cand. Biol. Sci. Diss.). Moscow Timiryazev Agricultural Academy, Moscow, Russia. [in Russian]
7. Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plantarum.*, 15(3), 473–497. doi: 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x
8. Kushnir, H. P., & Sarnatska, V. V. (2005). *Mikroklonalne rozmnozhennia roslyn* [Microclonal reproduction of plants]. Kyiv: Naukova dumka. [in Ukrainian]
9. Vysotskiy, V. A. (1989). Clonal micropropagation of fruit plants and ornamental shrubs. In *Mikrorazmnozhennia i ozdorovlennia rasteniy v promyshlennom plodovodstve i tsvetovodstve* [Micropropagation and recovery of plants in industrial fruit growing and floriculture] (pp. 3–8). Michurinsk: N.p. [in Russian]
10. Schenk, R. U., & Hildebrandt, A. C. (1972). Medium and techniques for induction and growth of monocotyledonous and dicotyledonous plant cell cultures. *Can. J. Bot.*, 50(1), 199–204. doi: 10.1139/b72-026
11. Nas, M. N., & Read, P. E. (2001). Micropropagation of hybrid hazelnut: medium composition, physical state and iron source affect shoot morphogenesis, multiplication and explant vitality. *Acta Hort.*, 556, 251–258. doi: 10.17660/ActaHortic.2001.556.36
12. Zapolskiy, Ya. S., Medvedieva, T. V., Natalchuk, T. A., & Bublyk, M. O. (2018). Use of preparation Lizoformin 3000 for obtaining aseptic cultures of honeysuckle in conditions *in vitro*. *Visn. Agrar. Nauki* [Bulletin of Agricultural Science], 9, 45–50. doi: 10.31073/agrovisnyk201809-07
13. Ines, M., Dugalić, K., Tomaš, V., Viļjevac, M., Pranjić, A., Čmelik, Z., Puškar, B., & Jurković, Z. (2013). *In vitro* sterilization procedures for micropropagation of 'Oblačinska' sour cherry. *J. Agric. Sci.*, 58(2), 117–126. doi: 10.2298/JAS1302117M
14. Buah, J. N., Kawamitsu, Y., Sato, S., & Murayama, S. (1999). Effects of different types and concentrations of gelling agents on the physical properties of media and growth of (*Musa spp.*) *in vitro*. *Plant Prod. Sci.*, 2(2), 138–145. doi: 10.1626/pps.2.138
15. Londe, L. C., Vendrame, W. A., Oliveira, A. B., Sanaey, M., & Costa, A. M. (2017). Phloroglucinol is Effective for *in vitro* Growth and Multiplication of *Musa accuminata* Cv. Grand Naine Shoots and Roots. *J. Adv. Biol. Biotechnol.*, 13(2), 1–8. doi: 10.9734/JABB/2017/33718
16. Fardzinova, I. M. (1995). *Pitateľ'naya sreda dlya mikroklonal'nogo razmnozheniya kostochkovyykh kul'tur* [Nutrient medium for microclonal propagation of stone fruits]. Russian patent 2045891. Retrieved from <http://www.freepatent.ru/patents/2045891>

УДК 581.143.6:634.2

**Натальчук Т. А.<sup>1\*</sup>, Медведєва Т. В.<sup>1</sup>, Запольский Я. С.<sup>1</sup>, Барбан О. Б.<sup>2</sup>** Особенности введения в культуру *in vitro* вишни сорта 'Ксения' и черешни сорта 'Василиса прекрасна' // *Plant Varieties Studying and Protection*. 2020. Т. 16, № 1. С. 97–102. <https://doi.org/10.21498/2518-1017.16.1.2020.201353>

<sup>1</sup>Институт садоводства НААН Украины, ул. Садовая, 23, г. Киев, 03027, Украина, \*e-mail: Tania87@meta.ua

<sup>2</sup>Украинский институт экспертизы сортов растений, ул. Генерала Родимцева, 15, г. Киев, 03041, Украина

**Цель.** Определить оптимальные сроки отбора эксплантов, подобрать стерилизующие агенты и режимы стерилизации, а также питательную среду для введения в культуру *in vitro* новых перспективных сортов вишни (*Prunus cerasus* L.) и черешни (*Prunus avium* L.). **Методы.** В процессе работы применена методика клонального микро размножения растений и статистические обработки экспериментальных данных. **Результаты.** Установлен оптимальный срок отбора эксплантов, продолжительность экспозиции при стерилизации, оптимальный состав питательной среды на первом этапе микроклонального размножения. Для определения оптимального режима стерилизации и стерилизующего препарата использовали 0,1% раствор хлорида ртути и 3% раствор препарата «Лизоформин 3000» с экспозицией стерилизации 5, 6 и 7 минут. Наибольший выход стерильных эксплантов как для вишни сорта 'Ксения', так и для черешни сорта 'Василиса прекрасна' получили при экспозиции стерилизации 7 мин для обоих стерилизующих агентов. Но при использовании 0,1% раствора хлорида ртути этот показатель был выше, чем при стерилизации 3% раствором препарата «Лизоформин 3000» – 71 и 99%, соответственно. **Выводы.** На эффективность стерилизации и введения в культуру *in vitro* эксплантов вишни 'Ксения' и черешни 'Василиса прекрасна' влияли продолжительность стерили-

зации, время отбора эксплантов, фитосанитарное состояние маточного растения, состав питательной среды. 0,1% раствор хлорида ртути при экспозиции 7 мин был наиболее эффективен при получении асептической культуры с эксплантов, изъятых из донорных растений в состоянии покоя при проращивании почек в контролируемых условиях. Использование препарата «Лизоформин 3000» в концентрации 3% в течение 6–7 мин при стерилизации эксплантов исследуемых культур способствовало их лучшей приживаемости на среде. Оптимальной по составу питательной среды для культивации эксплантов вишни 'Ксения' была среда с добавлением экстракта алоэ, а для черешни 'Василиса прекрасна' – MS + флороглюцинол. Самая высокая эффективность стерилизации (99% у сорта 'Василиса прекрасна' и 71% у сорта 'Ксения') получена при использовании 0,1% HgCl<sub>2</sub> в экспозиции 7 мин. При использовании препарата «Лизоформин 3000» при такой же экспозиции стерилизации этот показатель составлял 83 и 52% соответственно к культуре. Исходя из этого можно рекомендовать использовать препарат «Лизоформин 3000» в 3% концентрации с экспозицией 7 мин для стерилизации косточковых культур.

**Ключевые слова:** *Prunus avium* L.; *Prunus cerasus* L.; культура *in vitro*; отбор эксплантов; стерилизация; питательная среда; регуляторы роста.

UDC 581.143.6:634.2

**Natalchuk, T. A.<sup>1\*</sup>, Medvedieva, T. V.<sup>1</sup>, Zapolskyi, Ya. S.<sup>1</sup>, & Barban, O. B.<sup>2</sup>** (2020). Features of introduction of sour cherries variety 'Kseniia' and cherries variety 'Vasylysa prekrasna' into *in vitro* culture. *Plant Varieties Studying and Protection*, 16(1), 97–102. <https://doi.org/10.21498/2518-1017.16.1.2020.201353>

<sup>1</sup>Institute of Horticulture, NAAS of Ukraine, 23 Sadova St., Kyiv, 03027, Ukraine, \*e-mail: Tania87@meta.ua

<sup>2</sup>Ukrainian Institute for Plant Variety Examination, 15 Henerala Rodymtseva St., Kyiv, 03041, Ukraine

**Purpose.** Determine the optimal timing of explant selection, select sterilizing agents and sterilization regimens, as well as the nutrient medium for the introduction of new perspective varieties of sour cherries (*Prunus cerasus* L.) and cherries (*Prunus avium* L.) into *in vitro* culture. **Methods.** During the work the method of clonal micropropagation of plants and statistical processing of experimental data were applied. **Results.** The optimal term of explants selection, the duration of exposure during sterilization, the optimal composition of the nutrient medium at the first stage of microclonal reproduction were determined. A 0.1% solution of mercuric chloride and a 3% solution of "Lizoformin 3000" with exposure to sterilization of 5, 6 and 7 minutes were used to determine the optimal sterilization and sterilizing regimen. The highest yield of sterile explants for both 'Kseniia' sour cherries and 'Vasylysa prekrasna' cherries was obtained with a 7 min sterilization exposure for both sterilizing agents. When using a 0.1% solution of mercury chloride, this figure was higher than in the sterilization with 3% solution of the preparation "Lizoformin 3000" – 71 and 99%, respectively. **Conclusions.** The efficiency of sterilization and the introduction into *in vitro* culture of sour cherries 'Kseniia' and cherries 'Vasylysa prekrasna' explants were influ-

enced by the duration of sterilization, the time of selection of explants, the phytosanitary state of the mother plant, the composition of the nutrient medium. A 0.1% solution of mercuric chloride at 7 min exposure was the most effective in obtaining aseptic culture from explants removed from donor plants at rest when sprouting buds under controlled conditions. The use of the preparation "Lizoformin 3000" at a concentration of 3% for 6–7 min while sterilizing explants of the studied cultures contributes to their better survival in the environment. The optimal nutrient medium for the cultivation of sour cherry 'Kseniia' explants is the medium with the addition of aloe juice, and for cherries 'Vasylysa prekrasna' – MS + phloroglucinol. The highest sterilization efficiency (99% in 'Vasylysa prekrasna' and 71% in 'Kseniia') was obtained using 0.1% HgCl<sub>2</sub> in 7 min exposure. When using the preparation "Lizoformin 3000" with the same sterilization exposure, this indicator was 83 and 52%, respectively. Therefore, we can recommend the use of the preparation "Lizoformin 3000" at 3% concentration with an exposure of 7 min for sterilization of stone cultures.

**Keywords:** *Prunus avium* L.; *Prunus cerasus* L.; *in vitro* culture; selection of explants; sterilization; nutrient medium; growth regulators.

Надійшла / Received 20.12.2019  
Погоджено до друку / Accepted 19.03.2020