

УДК 60:- 634.8: -579.64

Н. І. Теслюк

Одеський національний університет імені І.І. Мечникова, вул. Дворянська, 2, 65082, Україна, тел.:+38(0482) 68 79 64, e-mail: natalana@onu.edu.ua

УТВОРЕННЯ МНОЖИННИХ ПАГОНІВ ВІНОГРАДУ В КУЛЬТУРІ *IN VITRO* НА РІЗНИХ ЖИВИЛЬНИХ СЕРЕДОВИЩАХ

Зазвичай розвиток множинних пагонів винограду *in vitro* індукують тільки на твердих або рідких живильних середовищах. **Мета.** Дослідити вплив концентрації агару в різних живильних середовищах, їх консистенції на показники приживлюваності, росту та розвитку ініціальних експлантів, індукцію множинних пагонів винограду. **Методи.** Використовували методи введення ініціальних експлантів в культуру *in vitro* і культивування мікроклонів, а також метод регенерації рослин із меристемних тканин. Дослідні живильні середовища готували рідкими (без вмісту агару), напіврідкими (4 г/л агару) та твердими (8 г/л агару) і додавали до усіх експериментальних середовищ один мг/л 6-БАП. В ході досліджень проводили облік приживлюваності експлантів, початку проліферації бруньок та кількості утворених пагонів. **Результати.** Виявлена перевага використання напіврідких середовищ порівняно із твердими та рідкими живильними середовищами. Успішно проведено пошук оптимального живильного середовища для індукції множинних пагонів винограду в культурі *in vitro*. Встановлено, що напіврідке модифіковане середовище МС сприяє кращій приживлюваності, диференціації та регенерації меристем винограду. В середньому по сортах на ньому утворювалося 9,59 пагонів від одного експланту, що в подальшому підвищувало коефіцієнт розмноження винограду в культурі *in vitro* до 1:9. **Висновки.** Застосування удосконаленого методу індукції множинних пагонів сприяло кращій приживлюваності ініціальних експлантів технічних сортів винограду в культурі *in vitro*, прискорювало процеси проліферації пазушних мікро-бруньок, та процеси утворення більшої кількості пагонів, що були придатними для подальшого клонального мікророзмноження.

Ключові слова: культура винограду *in vitro*, ініціальні експланти, множинні пагони, мікроклони, живильні середовища.

З метою збільшення коефіцієнту розмноження, а, отже, і підвищення ефективності клонального мікророзмноження, доцільно використовувати метод індукції множинних пагонів винограду на штучних живильних середовищах. Незважаючи на результативність методу, робіт з індукції множинних пагонів винограду відомо мало.

На розвиток множинних пагонів впливає склад живильного середовища та вибір і концентрації фітогормонів. З аналізу літератури, а також наших попередніх досліджень [3] було зроблено висновок про те, що для успішної

© Н. І. Теслюк, 2018



індукції множинних пагонів більшості сортів винограду достатньо 1 мг/л 6-бензиламінопурину (6-БАП).

Індукуючи множинні пагони, дослідники використовують як тверді, так і рідкі середовища. Так, Дорошенко Н. П. [1] етап введення в культуру *in vitro* розподіляє на два підетапи: культивування виділених меристем здійснювали спочатку на твердих середовищах, а потім – на рідких. Рідкі середовища в своїй роботі використовували багато авторів [2, 5, 8]. За їхніми спостереженнями, рідкі середовища мають певні переваги перед агаризованими, оскільки в них забезпечується велика рухливість поживних речовин [2, 5]. Нye-Jeong Park із співавторами [6] індукували утворення множинних пагонів на твердих середовищах МС та Ніча і Ніч із цитокінінами, а Nadra Khan із співавторами [7] використовували як рідкі так і напіврідкі середовища для клонального мікророзмноження винограду (*Vitis vinifera* L.) cv. Кінгс Рубін.

Отже, немає єдиної думки щодо оптимальної консистенції живильних середовищ для індукції множинних пагонів при клональному мікророзмноженні винограду *in vitro*. Пошук та вирішення проблеми оптимальної консистенції середовища залишається актуальним. В цьому напрямку нами запропоновано використовувати напіврідкі живильні середовища для розмноження винограду *in vitro* методом індукції множинних пагонів [3, 4].

Сорти винограду по-різному проявляють себе в культурі *in vitro* і тому для успішної реалізації технологічних процесів прискореного розмноження винограду різних сортів важливо підбирати склад живильного середовища з урахуванням сортової специфіки винограду, використовувати універсальні живильні середовища та методичні прийоми культивування.

Метою нашої роботи був вибір оптимального живильного середовища на первинних етапах індукції множинних пагонів технічних сортів винограду *in vitro*.

Матеріали та методи

Вихідний матеріал відбирали з кущів - донорів, які ростуть на клоно-дослідній та селекційній ділянках ННЦ "Інститут Виноградарства і Виноробства імені В.Є. Таїрова", а також в теплицях Центру клонової та фітосанітарної селекції і які були тестовані на відсутність вірусної та бактеріальної інфекції. Дослідження проводили спільно з співробітниками групи культури тканин відділу розсадництва та розмноження винограду ННЦ "ІВіВ імені В.Є. Таїрова" на дослідних сортах Каберне Совіньйон, Марсельський чорний ранній, Шардоне, Трамінер рожевий.

В своїй роботі використовували меристемні верхівки з листовими зародками розміром 1,5–2,5 мм, що в подальшому дало добре збільшення експланту та розвиток множинних пагонів. Меристемні верхівки виділяли під бінокулярною лупою в ламінарному боксі в стерильних умовах. В даній роботі до усіх експериментальних середовищ додавали один мг/л 6-БАП.

З метою оптимізації складу живильного середовища для утворення множинних пагонів досліджували різні варіанти середовищ:

- Мурасіге та Скуга (МС);
- МС модифікований нами щодо кількісного і якісного складу вітамінів,



сахарози та фітогормонів [3,4];

– Ніча і Ніч; та Гамборга.

Перелічені середовища готували рідкими (без вмісту агару), напіврідкими (4г/л агару) та твердими (8г/л агару). За контроль слугували тверді живильні середовища. Ініціальні експланти висаджували в окремі культуральні стакани з експериментальними варіантами середовища. Стакани з рідкими середовищами закріплювали на струшувальному апараті. Напіврідке середовище є напівпрозорим та киселеподібним. Експлант знаходився в ньому в напівзануреному плавальному положенні. На твердому живильному середовищі експлант знаходився на поверхні середовища. Культивування на твердих та напіврідких середовищах проводили без струшування. Культивування експлантів проводили в культуральному боксі при $t = 23-26\text{ }^{\circ}\text{C}$, перший тиждень при освітленні 80–1000 люкс., а потім при 2000–3000 люкс., при 16-годинному фотоперіоді.

Під час культивування проводили спостереження за станом ініціальних експлантів, проводячи облік приживлюваності, проліферації та кількості утворених пагонів. Далі утворені агрегати пагонів розділяли на окремі пагони, і ці пагони пересаджували на середовище для укорінення з метою подальшого розмноження. Для цього використовували середовище $\frac{1}{2}\text{MS}$ з додаванням 0,1–0,3 мг/л індолілоцтової кислоти (ІОК), 8 г/л агару та рН 5,2. Розраховували коефіцієнт розмноження, враховуючи кількість утворених пагонів від одного ініціального експланту за однаковий проміжок часу [4]. Результати обробляли методом дисперсійного аналізу із використанням комп'ютерних статистичних програм *Excel*. Дисперсійний аналіз проводили окремо за кожним досліджуваним показником.

Результати досліджень та їх обговорення

Приживлюваність ініціальних експлантів винограду. В результаті досліджень встановлено, що на показники приживлюваності меристемних верхівок при введенні в культуру *in vitro* впливає тип, склад живильного середовища, а також його консистенція. При розгляді впливу складу живильного середовища встановлено, що всі типи живильного середовища Гамборга є малопридатними для введення апікальних меристем винограду. На них було відмічено низький відсоток приживлюваності експлантів в межах 15,0–36,7%.

На середовищах Ніча і Ніч приживлюваність ініціальних експлантів була вищою порівняно із середовищами Гамборга, хоча і не перевищувала 60% в кращому варіанті (сорт Каберне Совіньйон 441, середовище Ніча і Ніч напіврідке). Досить часто ініціальні експланти набували коричневого кольору, середовища темніли. Приживлюваність коливалася в межах 28,3–60,0%, що співпадає із нашими попередніми дослідженнями [3, 4] та думкою Hye-Jeong Park із співавторами [6].

Хороші результати були отримані на усіх типах середовищ MS. При порівнянні стандартного середовища MS та MS модифікованого, кращим по приживлюваності ініціальних експлантів виявилось модифіковане середовище MS. Показники приживлюваності експлантів на всіх типах модифіковано-



го середовища МС були значно вищими, ніж на стандартному середовищі МС.

Надалі вивчали вплив консистенції живильних середовищ на приживлюваність меристемних верхівок в культурі винограду *in vitro*. Виявлено залежність приживлюваності експлантів від консистенції живильного середовища. Встановлено, що на всіх типах твердих живильних середовищ приживлюваність експлантів була низькою, значно меншою ніж на рідких та напіврідких середовищах. Досить високий відсоток приживлюваності ініціальних експлантів було відмічено на всіх типах рідких середовищ.

Найкращі результати були отримані на всіх типах напіврідких середовищ. Особливо виділялося культивування на напіврідких середовищах МС і МС модифікованому. Але найкраща приживлюваність експлантів була на напіврідкому модифікованому середовищі МС. Так, середнє значення показника приживлюваності всіх дослідних сортів складало на модифікованому середовищі МС рідкому – $75,4 \pm 2,5\%$, напіврідкому – $87,1 \pm 3,9\%$, а на стандартному середовищі МС рідкому – $62,5 \pm 4,2\%$, напіврідкому – $73,3 \pm 3,4\%$.

Залежність приживлюваності ініціальних експлантів від консистенції середовища спостерігалася у всіх дослідних сортів. Наприклад, у сорту Трамінер рожевий на твердому модифікованому середовищі МС приживлюваність складала $51,7 \pm 9,5\%$, на рідкому – $73,3 \pm 3,6\%$, а на напіврідкому – $81,7 \pm 3,6\%$; у сорту Каберне Совіньйон відповідно на твердому – $56,7 \pm 18,9\%$, рідкому – $76,7 \pm 6,1\%$, напіврідкому – $95,0 \pm 12,4\%$.

Проліферація. В результаті досліджень вперше виявлено позитивний вплив напіврідких живильних середовищ на процеси проліферації винограду при індукції множинних пагонів в культурі *in vitro*. Як показали дослідження, проліферація бруньок, утворення пагонів у всіх дослідних технічних сортів винограду на твердих середовищах починалися на 8–10 день, на рідких – 6–7 день, а на напіврідких – 6 день. Така тенденція зберігалася у всіх варіантах досліду. В середньому за всіма показниками застосування напіврідких середовищ сприяло прискоренню процесів проліферації порівняно з рідкими середовищами на один день, а порівняно з твердими живильними середовищами – на два дні.

Для представлених технічних сортів винограду кращим живильним середовищем було напіврідке середовище МС модифіковане. При цьому слід враховувати вплив генотипу сорту – сортову специфічність в культурі *in vitro*. Найбільш активно проліферація ініціальних експлантів відбувалася у клонів сортів винограду Каберне Совіньйон 441 та Шардоне 4876.

Утворення множинних пагонів. Через 30–40 днів культивування від кожного ініціального експланту утворювалися пагони. Виявлено, що кількість утворених пагонів, які були придатними до подальшого клонального мікро-розмноження, залежала від типу живильного середовища. На різних живильних середовищах було одержано від 1 до 10 та більше пагонів від введеного в культуру *in vitro* ініціального експланту (Табл.).

На всіх типах середовища Гамборга утворення пагонів було мінімальним. У сортів Марсельський чорний ранній 1294, Трамінер рожевий 832, Шардоне 4876 на твердому середовищі Гамборга пагони взагалі не утворювалися.



Таблиця
Кількість пагонів, що утворилися на різних живильних середовищах (шт)
Table
Amount of the formed shoots on different nourishing media (number)

Тип живильного середовища	Марсельський чорний ранній 1294	Трамінер рожевий 832	Каберне Совіньйон 441	Шардоне 4876	Середнє по сортах
МС тв.	1,00±0,00	1,00±0,00	1,20±0,43	1,00±0,00	1,05±0,98
МС р.	6,50±3,72	4,73±1,03	5,90±1,63	3,90±1,14	5,26±4,42
МС н/р.	7,83±4,27	6,60±0,74	7,33±3,53	5,63±0,80	6,85±6,01
МС мод. тв.	1,27±1,15	1,00±0,00	1,43±0,57	1,00±0,00	1,18±0,99
МС мод. р.	8,73±2,88	7,10±1,61	7,50±3,28	6,03±1,12	7,34±6,46
МС мод. н/р.	10,60±3,02	9,20±1,31	11,00±2,48	8,17±1,12	9,74±8,83
Ніча і Ніч тв.	1,00±0,00	1,00±0,72	0,94±0,24	0,87±0,29	0,94±0,66
Ніча і Ніч р.	4,83±0,52	3,77±1,49	4,30±2,80	2,97±0,14	3,97±3,33
Ніча і Ніч н/р.	5,37±1,00	4,33±1,29	6,30±2,69	3,43±1,00	4,86±4,02
Гамборга тв.	0	0	0,85±0,33	0	0,85±0,52
Гамборга р.	2,55±1,93	2,10±1,31	2,50±1,24	1,27±1,15	2,06±1,44
Гамборга н/р.	2,93±2,31	2,65±0,51	3,87±1,00	1,83±1,83	2,82±2,22

На рідкому та напіврідкому середовищі цього типу кількість пагонів, що утворилися, була мінімальною – в середньому по сортах 2,06±1,44 пагонів і 2,82±2,22 пагонів, відповідно. Таким чином було зроблено висновок про нецільність використання середовища Гамборга для індукування множинних пагонів винограду.

На живильних середовищах Ніча і Ніч ріст експлантів та утворення пагонів були повільними. На твердому агаровому середовищі утворювалися поодинокі пагони і в середньому по сортах було одержано 0,94±0,66 пагонів із одного експланту. У варіантах із рідким та напіврідким живильним середовищем кількість пагонів, що утворилися, збільшувалася і коливалася в межах 2,97–6,30 пагонів. В середньому по сортах на рідкому середовищі отримували 3,97±3,33 пагонів, а на напіврідкому – 4,86±4,02 пагонів. У варіантах із рідким та напіврідким середовищами досить часто зустрічалося надмірне потовщення пагону та збільшені крихкі листочки.

Хороші результати були отримані на усіх типах середовища МС стандартного та модифікованого. На середовищах МС стандартному іноді спостерігали прояви вітрифікації, а також утворення калюса біля основи агрегатів множинних пагонів. Таке утворення калюса, як правило, гальмувало процеси утворення множинних пагонів. Найкращим для індукції множинних пагонів всіх сортів винограду, що вивчалися, виявилось модифіковане середовище МС.

Найбільш високі показники індукції множинних пагонів були відмічені на напіврідкому середовищі МС модифікованому і складала 8–11 пагонів із одного експланту за 30–40 днів культивування (Рис.). Можливо, зниження кон-



центрації сахарози до 15 г/л в модифікованому середовищі МС зменшувало ймовірність утворення калюса, збалансований вітамінний склад та напіврідка консистенція середовища дозволили досягти кращої приживлюваності та утворення множинних пагонів.



Рис. Утворення множинних пагонів винограду сорту Шардоне 4876 на напіврідкому середовищі МС модифікованому

Fig. Formation of the multiple grape shoots of Shardone 4876 cultivar on semi-liquid modified medium MC

Зменшення концентрації агару в середовищі було сприятливим для збільшення кількості пагонів. Рідка консистенція середовища позитивно впливала на аерацію експлантів та засвоєння ними живильних речовин.

В результаті досліджень було виявлено, що на твердих агарових середовищах із одного експланту, як правило, утворювався один пагін. Наприклад, у сорту Марсельський чорний ранній 1294 на твердому модифікованому середовищі МС середня кількість пагонів складала – $1,33 \pm 0,21$ пагонів, на рідкому – $8,73 \pm 0,88$, а на напіврідкому – $10,66 \pm 0,92$ пагонів ($P < 95\%$).

При використанні рідких середовищ (без вмісту агару) експлант занурювався на дно культуральної склянки, і у процесі культивування було необхідним безперервне струшування на качалці. При культивуванні ініціалі на напіврідких живильних середовищах (4 г/л агару) апікальні верхівки занурювалися у середовище не повністю, зависаючи у ньому. Це забезпечувало хороший контакт експланта із середовищем, запобігало його закисанню, що дозволяло проводити культивування без застосування струшування. На твердих середовищах (8г/л агару) ініціальні експланти малого розміру (1,5–2,5 мм) розміщувалися на поверхні живильного середовища і через відсутність повного контакту із середовищем частина меристемних верхівок на 2–3 день від введення у культуру *in vitro* темніла та всихала.

Найбільш інтенсивне утворення множинних пагонів відбувалося на напіврідких живильних середовищах (Рис.). Встановлено, що для максимального збільшення кількості множинних пагонів дослідних технічних сортів

та клонів винограду найкращим було напіврідке живильне середовище МС модифіковане. В середньому по сортах на ньому утворювалося 9,59 пагонів, що в подальшому збільшувало коефіцієнт розмноження цих сортів майже у 2 рази.

На напіврідкому середовищі МС модифікованому, на відміну від інших середовищ, утворювалися великі агрегати множинних пагонів кулеподібної форми. Активно відбувалася проліферація із багаточисельних пазушних мікро-бруньок. Як правило, через 40–60 днів експланти являли собою агрегати бруньок та пагонів в середньому площею 6 см².

У подальшому агрегати множинних пагонів, що утворилися, розділяли на окремі пагони. Пагони довжиною 7 мм і більше висаджували для подальшого культивування на тверде агарове середовище ½МС із 0,2–0,3 мг/л індолілоцтової кислоти (ІОК) та рН 5,7. Довгі пагони розділяли на одновічкові вузли. Базальну частину агрегату бруньок та пагонів, які залишалися після розділення, культивували на свіжих живильних середовищах такого ж складу, що і попередній для додаткового утворення пагонів. Таким чином, на першому етапі клонального мікророзмноження можливо збільшити кількість мікроклонів, одержаних від однієї висадженої апікальної верхівки в 7–8 разів.

Застосування розробленого методу індукції множинних пагонів сприяє підвищенню коефіцієнту розмноження винограду в культурі *in vitro* [6]. При клональному мікророзмноженні *in vitro* одновічковими мікрочубуками на твердому агаровому середовищі коефіцієнт розмноження в середньому становив 1:5 через місяць культивування, а при використанні методу індукції множинних пагонів на напіврідкому живильному середовищі МС модифікованому цей показник в середньому становив 1:9 для технічних сортів винограду.

У результаті досліджень виявлена перевага використання напіврідких середовищ порівняно із твердими та рідкими живильними середовищами. Встановлено оптимальне живильне середовище – напіврідке модифіковане середовище МС, яке сприяло кращій приживлюваності, диференціації та регенерації меристем. На цьому середовищі утворювалася більша кількість пагонів, що були придатними для подальшого клонального мікророзмноження.

Розроблене середовище було випробувано та впроваджено в Центрі клонової селекції, відділі розмноження та розсадництва ННЦ “ІВіВ імені В.С. Таїрова”. Впровадження удосконаленого методу індукції множинних пагонів сприяло підвищенню коефіцієнту розмноження винограду в культурі *in vitro* до 1:9, що в подальшому зменшувало собівартість мікроклону винограду на первинних етапах клонального мікророзмноження.



Н. И. Теслюк

Одесский национальный университет имени И.И. Мечникова, ул. Дворянская, 2,
Одесса, 65082, Украина, тел.: +38(0482) 68 79 64, e-mail: natalana@onu.edu.ua

ОБРАЗОВАНИЕ МНОЖЕСТВЕННЫХ ПОБЕГОВ ВИНОГРАДА В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO* НА РАЗЛИЧНЫХ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕДАХ

Реферат

Для индукции множественных побегов винограда *in vitro* использовались полужидкие питательные среды. **Цель.** Изучить влияние концентрации агара в различных питательных средах, их консистенции на показатели приживаемости, роста и развития инициальных эксплантов, индукцию множественных побегов винограда. **Методы.** Использовали методы введения инициальных эксплантов в культуру *in vitro* и культивирования микроклонов, а также метод регенерации растений из меристемных тканей. Питательные среды готовили жидкими (без содержания агара), полужидкими (4 г/л агара) и твердыми (8 г/л агара) с добавлением ко всем экспериментальным средам 1 мг/л 6-БАП. Проводили учет приживаемости эксплантов, начала пролиферации пазушных почек и количества полученных побегов. **Результаты.** Использовали полужидкие питательные среды (4 г/л агара). Установили преимущество использования полужидких сред в сравнении с твердыми и жидкими питательными средами. Успешно проведен поиск оптимальной питательной среды для индукции множественных побегов винограда в культуре *in vitro*. Выявлена оптимальная питательная среда – МС модифицированная полужидкая. Ее использование способствовало лучшей приживаемости, дифференциации и регенерации меристем винограда. В среднем по сортам на ней образовывалось 9,59 шт., побегов от одного экспланта, что в дальнейшем повышало коэффициент размножения винограда в культуре *in vitro* до 1:9. **Выводы.** Использование усовершенствованного метода индукции множественных побегов способствовало лучшей приживаемости инициальных эксплантов технических сортов винограда в культуре *in vitro*, ускоряло процессы пролиферации пазушных микро-почек, и процессы образования большего количества побегов, которые пригодны для дальнейшего клонального микроразмножения.

Ключевые слова: культура *in vitro*, инициальные экспланты, множественные побеги, микроклоны, питательные среды.



N. I. Teslyuk

Odesa National I.I. Mechnykov University, 2, Dvoryanska str., Odesa, 65082, Ukraine,
tel.: +38(0482) 68 79 64, e-mail: natalana@onu.edu.ua

FORMATION OF THE MULTIPLE GRAPE SHOOTS IN CULTURE *IN VITRO* ON DIFFERENT NOURISHING MEDIA

Summary

Semi-liquid nutrient media were used for the multiple grape shoots induction. Aim of the research was to study the agar concentration effect in different nutrient media and define influence of the media consistency on the survivability parameters, growth and development of initial explants, and the multiple grape shoots induction. Methods. Initiation of culture *in vitro* formation from explants, microclones cultivation, and the method of the meristematic plant regeneration were used. Nutrient media were liquid (without agar as a component), semi-liquid (with agar content of 4 g/l), and solid (with agar content of 8 g/l), including an addition of 1 mg/l 6-BAP to all experimental media. The registration of the explants' survivability, time of the beginning of axillary buds proliferation, and amount of obtained shoots was conducted. **Results.** Semi-liquid nutrient media were used. The advantage of using semi-liquid media in comparison with solid and liquid nutrient media is revealed. The search of the optimal nutrient medium for multiple grape shoots induction *in vitro* was successfully done. Modified semi-liquid MS was determined as the optimal nutrient media. Its application contributed to better survivability, differentiation, and regeneration of grape meristems. On average in sortes, it formed 9.59 pcs., shoots, which further increases the coefficient of grape multiplication in culture *in vitro* to 1: 9. **Conclusions.** The application of the improved method of induction of multiple shoots contributed to a better survivability of the initial explants of grapes of technical varieties in culture *in vitro*, accelerates the processes of proliferation of the axillary microbuds, and the processes of generating more shoots suitable for subsequent clonal micropropagation.

Key words: culture *in vitro*, initial explants, clonal micropropagation, microclones, nourishing medium.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Дорошенко Н. П. Результаты исследований по биотехнологии винограда // Юбилейна научна сесия «100 години институту по лозарство и винарство». (Плевен, 2002). – С. 88–95.
2. Зленко В. А., Трошин Л. П., Котиков И. В. Размножение винограда методами *in vitro*. Часть 1. Культивирование верхушек побегов и пролиферация аксиллярных почек винограда *in vitro*. – Виноград и вино России. – 1998. – № 2. – С. 22–25.
3. Стущько С. А., Глотова Л. В., Теслюк Н. І. Індукція множинних пагонів при розмноженні винограду *in vitro* // Вісник аграрної науки. – 2004. – № 4. – С. 25–27.



4. Теслюк Н. І., Кічмаренко О. Д. Оптимізація процесу індукції множинних пагонів винограду в культурі *in vitro* // Виноградарство і виноробство. - 2006. – Вип. 43. – С. 158–167.

5. Harris R. E., Stevenson I. H. *In vitro* propagation of Vitis // Vitis. – 1982. – Vol. 21. – P. 22–32.

6. Hye-Jeong Park, Ho-Rim Lee, Jaeho Pyee, and Hyeon-Cheol Cha. Regeneration of Grape (*Vitis labruscana* cv. Kyoho) by Shoot-Tip culture. // Journal of Plant Biology, - December, 2001. – 44(4) p. 185–192 .

7. Nadra Khan, Maqsood Ahmed, Ishfaq Hafiz, Nadeem Abbasi, Shaghef Ejaz and Muhammad Anjum. Optimizing the concentrations of plant growth regulators for *in vitro* shoot cultures, callus induction and shoot regeneration from calluses of grapes. // Vigne et Vin Publications Internationales (Bordeaux, France) J. Int. Sci. Vigne Vin, – 2015, – 49, – p. 37–45.

8. Monette P. L. Influence of size of culture vessel on *in vitro* proliferation of grape in a liquid medium // Plant Cell Tissue Org. Cult. – 1983. – Vol. 2. – P. 327–332.

Reference

1. Doroshenko NP. Results of study of grape biotechnology. In: Proceedings of the jubileina nauchna sesia «100 hodyny instytu po lozarstvo i vynarstvo», Pleven. 2002: 88 – 95 (In Russian).

2. Zlenko VA, Troshyn LP, Kotikov IV. Multiplication of grape by the methods *in vitro*. Part 1. Cultivation of shoot apexes and proliferation of axillary grape buds *in vitro*. Vinograd i vino Rossii. 1998. (2):22–25 (In Russian).

3. Stytsko SA, Hlotova LV, Tesliuk NI. Induction of multiple shoots when grape cultivating *in vitro*. Visnyk ahrarnoi nauky. 2004; (4):25–27 (In Ukrainian).

4. Tesliuk NI, Kichmarenko OD. Optimization of induction process of multiple grape shoots in culture *in vitro*. Vynogradarstvo i vynorobstvo. 2006. (43):158–167 (In Ukrainian).

5. Harris RE, Stevenson IH. *In vitro* propagation of Vitis. Vitis. 1982. (21):22 – 32.

6. Hye-Jeong Park, Ho-Rim Lee, Jaeho Pyee, and Hyeon-Cheol Cha. Regeneration of Grape (*Vitis labruscana* cv. Kyoho) by Shoot-Tip culture. Journal of Plant Biology, December 2001, 44(4) : 185–192.

7. Nadra Khan, Maqsood Ahmed, Ishfaq Hafiz, Nadeem Abbasi, Shaghef Ejaz and Muhammad Anjum. Optimizing the concentrations of plant growth regulators for *in vitro* shoot cultures, callus induction and shoot regeneration from calluses of grapes. Vigne et Vin Publications Internationales (Bordeaux, France) J. Int. Sci. Vigne Vin, 2015, 49, 37–45.

8. Monette PL. Influence of size of culture vessel on *in vitro* proliferation of grape in a liquid medium. Plant Cell Tissue Org. Cult. 1983. (2):327–332.

Стаття надійшла до редакції 04.12.2017 р.

