

АДАПТАЦІЯ МІКРОКЛОНІВ ОЖИНИ (*RUBUS CEASIVUS*) ДО УМОВ *IN VIVO* З ВИКОРИСТАННЯМ КУЛЬТУР МІКРООРГАНІЗМІВ

Ожина садова (*Rubus ceasius*), а саме її безшипні сорти, залишається однією з найперспективніших в Україні плодово-ягідних культур, що є високо врожайною та нескладною у догляді. Завдяки своєму хімічному складу плоди ожини мають тонкий стійкий аромат, високі смакові, дієтичні та лікувальні властивості. Вони можуть бути використані як у свіжому, так і замороженому вигляді, а, також, у консервній промисловості при виготовленні соків, джемів, желе, лікерів, йогуртів і так далі [5]. У нашій країні культура ожини безшипної є ще мало вивченою, і тому недостатньо використовується в садівництві, а вирощується, в основному, в колекціях наукових установ і у садівників-аматорів.

Сучасні методи біотехнології рослин відкривають нові можливості для вирішення проблеми отримання екологічно чистої сільськогосподарської продукції ожини. Важливим напрямом є клональне мікророзмноження рослин, що дозволяє за короткий час отримати сотні генетично однорідних та оздоровлених від патогенів особин [2].

В зв'язку із цим, удосконалення та оптимізація методів та прийомів культури ожини безшипної *in vitro*, пошук особливостей та закономірностей у процесах росту і розвитку є актуальними і надає широкі можливості їх використання в селекції і в системі виробництва садивного матеріалу. Для широкого використання в практичній роботі методів клонального мікророзмноження ожини окремі етапи потребують суттєвих доробок та нових підходів. Особливо це стосується процесів адаптації мікроклонів до нестерильних умов оточуючого середовища.

Оскільки у культуральному боксі рослини зростають в ідеально сприятливих умовах, адаптація до відкритого ґрунту може стати дуже складною задачею. Зазвичай велика частина рослин гине на цьому етапі, і тому завданням дослідників є розробка способів та прийомів підвищення виходу життєздатних особин після завершення адаптаційного періоду [7].

Дуже частою причиною загибелі мікроклонів ожини при адаптації до умов *in vivo* є інфекційні захворювання, і тому у процесі адаптації доцільно перевірити можливість використання бактеріальних

культур, що мають антагоністичну дію на рослинні патогени. Літературні джерела [1, 4] вказують на вірогідний позитивний ефект від використання деяких штамів роду *Bacillus* та *Enterococcus*. У нашому досліді використовувалися штами *Bacillus megaterium* ONU500 та *Enterococcus italicus* ONU547, що були отримані у лабораторії Одеського національного університету.

Для експерименту з адаптації використовували не чисті культури даних мікроорганізмів, а їх розведення до 50% та 25% (*E.italicus* з кількістю клітин $2,94 \cdot 10^8$ у мл та $1,47 \cdot 10^8$ у мл, і *B.megaterium* з кількістю клітин $4,70 \cdot 10^7$ у мл та $2,35 \cdot 10^7$ у мл відповідно).

У якості об'єкта для адаптації слугували мікроклони Ожини безшипної (*Rubus caesius*) сорту Торнфрі з висотою надземної частини 3,5-4 см, які мали 4-6 листочків, добре розвинену кореневу систему, та не утворювали калюсних тканин.

Перший етап адаптації проводили в умовах культурального боксу протягом 7-10 днів. Пристосування рослин до низької вологості повітря *in vivo* проводили шляхом відкривання кришек ємностей з рослинами протягом 3-7 днів, поступово збільшуючи експозицію від 15 хвилин до 8 годин.

На другому етапі адаптації мікроклони ожини переносили в адаптаційну кімнату, де вони знаходилися 5-7 днів у тих самих культуральних склянках.

Беспосередньо перед кінцевим етапом адаптації мікроклони розділили на три групи. Корені рослин першої групи 30 хвилин перед висадкою витримували у 50-процентному розчині бактерій, другої групи – у 25-процентному, а третя слугувала контролем з стерильною дистильованою водою. Обидва розведення кожної з бактеріальних культур досліджували окремо.

Після закінчення експозиції з різними концентраціями мікроорганізмів рослини висаджували у субстрат. Ним слугував ґрунт універсальний у суміші з агроперлітом, що попередньо були простерилізовані парою під тиском. Мікроклони занурювали в борозни глибиною 3-5 см, кожну рослину в персональну ємність. Для цього їх обережно пінцетом діставали з лабораторного посуду і негайно висаджували у стерильний субстрат, не допускаючи підсушування кореневої системи. Відразу після посадки рослини поливали. Потім полив здійснювали 2-3 рази на тиждень.

Протягом місяця з дати висадки мікроклонів ожини у ґрунт ми спостерігали за процесами їх росту та розвитку та реєстрували різницю у показниках.

Повторність з трьох експериментів з *E.italicus* не виявила позитивної дії на приживлюваність чи будь-які інші параметри висаджених рослин. Контрольні та оброблені бактеріальною культурою рослини розвивались практично однаково та достовірної різниці в параметрах розвитку не показали. Проте, зважаючи на позитивні результати у дослідженнях *in vitro* [6], було зроблено припущення, що *E.italicus* може виявити свій потенціал на інших етапах культивування та адаптації рослин, тому цей напрямок потребує подальших досліджень.

У свою чергу, експерименти з *B.megaterium* дозволили встановити наступне:

- найбільш ефективною для оптимізації процесу адаптації ожини безшипної виявилася концентрація *B.megaterium* 25% (рис. 1);
- концентрація *B.megaterium* 50% виявила проміжні результати між контролем та концентрацією 25%;
- витримування коренів у 25-процентному розчині культури *B.megaterium* перед висадкою у ґрунт дозволило підвищити приживлюваність рослин ожини безшипної на 55%;
- особини, що були оброблені 25-відсотковим розчином при висадці, через два тижні вирощування мали щільніше листя з більшою площею поверхні (в середньому, на 20 % у порівнянні з контролем);
- експериментальні рослини за витримування у 25-процентній концентрації росли в середньому у 1,2 рази швидше за контроль та формували більше вузлів.

Таким чином, була встановлена позитивна дія 25-відсоткового розчину дводобової культури *B.megaterium* на процеси адаптації цінного сорту ожини. Отримані дані свідчать про реальну можливість застосування штаму ONU500 для підвищення приживлюваності мікроклонально розмножених рослин до умов ґрунту. Крім того, даний спосіб дозволяє в короткі терміни підготувати мікроклони ожини для висадки, а подальший догляд за рослинами після завершення адаптації нічим не відрізняється від догляду за звичайним садивним матеріалом, що було отримано традиційними способами.



Рис. 1 Зовнішній вигляд рослин ожини безшипної після 4 тижнів адаптації (ліворуч - експериментальні особини, корені яких витримувалися у 25-процентному розчині культури *B.megaterium*; праворуч – контроль).

Література:

1. *Беляев А.А., Шпатов Т.В., Штерниш М.В.* Влияние штаммов бактерий рода *Bacillus* на адаптацию, рост и вегетативное размножение садовой земляники // Достижения науки и техники АПК. – 2012. – № 3. – С.16-19.
2. *Зеленянская Н. Н., Джабурия Л.В., Теслюк Н.И.* Технология размножения винограда с использованием методов культуры тканей in vitro // Виноград. – 2009. – №3. – С.50 – 53
3. *Катаева Н.В.* Клональное размножение растений в культуре тканей / Н.В. Катаева, В.А.

Аветисов // Культура клеток растений. – М., 1981.

4. *Мерліч А.Г., Жулько І.Д., Ліманська Н.В., Іваниця В.О.* Антагоністична активність продуктів метаболізму бактерій штамів *Lactobacillus plantarum* та *Enterococcus italicus* за сумісної дії проти фітопатогенних бактерій // Мікробіологія і Біотехнологія. – 2017. – № 3. – С. 45-54.

5. *Свитайло А.М.* Клональное микроразмножение подвоев и сортов плодовых культур / А.М. Свитайло, П.Е. Бондаренко, Н.С. Шевчук // Биология культивируемых клеток и биотехнология. – Новосибирск, 1988. – Т. 2.

6. *Теслюк Н.І., Мерліч А.Г., Аврамович І.* Антагоністична активність молочнокислих бактерій *Enterococcus italicus* ОНУ54477, *Lactobacillus plantarum* ОНУ12 та ОНУ311 проти фітопатогенних грибів. У кн.: Інноваційні технології та інтенсифікація розвитку національного виробництва: матеріали IV міжнар. наук.-практ. конф. 30 листопада 2017 р. Частина 1. Тернопіль: Крок, 2017. – С. 185-187.

7. *Шорников Д.Г., Брюхина С.А., Муратова С.А.* Оптимизация условий культивирования in vitro ягодных и декоративных культур. // Вестник ТГУ. – 2010. – № 2. – С. 640-645.