

Мікроклональне розмноження рослин роду *Actinidia* Lindl.

З. Б. Києнко¹, І. В. Кімейчук^{2*}, В. В. Мацкевич²

¹Український інститут експертизи сортів рослин, вул. Генерала Родимцева, 15, м. Київ, 03041, Україна

²Білоцерківський національний аграрний університет, Соборна площа, 8/1, м. Біла Церква, Київська обл., 09117, Україна, *e-mail: i_kimeichuk@nubip.edu.ua

Мета. Аналіз технологій мікроклонального розмноження рослин для створення життєздатних міжвидових гібридів і сортів *Actinidia* Lindl. **Методи.** Загальнонаукові – гіпотеза, експеримент, спостереження, аналіз, метод синтезу для формування висновків. **Результати.** Упровадження технологій *in vitro* натеper стає панівним комерційним методом масштабного й швидкого отримання саджанців зі стабільним успадкуванням ознак сорту, високим коефіцієнтом розмноження, збереженням господарсько-цінних ознак за відсутності сезонності виробництва та обмежень у часі. Крім розмноження, пришвидшується й селекційний процес, зокрема мутагенез і гібридизація. Важливо одержати не лише стерильний експлант, а й морфогенно активний, тобто такий, що приживеться, і згодом регенерує рослину *in vitro*. Найліпшим за ефективністю деконтамінації є спосіб оброблення гіпохлоритом та додавання у живильне середовище біоциду РРМ, але за цих умов відзначено найменше виживання експлантів у всіх зразків. На ефективність введення в асептичну культуру на першому етапі мікроклонального розмноження впливають також і біологічні особливості первинних експлантів. У дослідженнях із поживними середовищами для *A. arguta* встановлено, що з елементів мінерального живлення лише 11 іонів є необхідними для життєдіяльності: п'ять макро- (N, K, P, Mg, S) і шість мікроелементів (Cl, Fe, B, Mo, Na, I). Рослини *in vitro* мають нижчий уміст сухих речовин та більшу кількість води, зокрема й вільної, яка за умов порушення водного балансу швидко втрачається. **Висновки.** Здатність до регенерації більшою мірою виражена у видів *A. chinensis* та *A. deliciosa*, меншою – в *A. arguta*. Для *A. chinensis* ефективним є застосування гідропонної технології адаптації регенерантів на етапі *ex vitro*.

Ключові слова: меристема; первинні експланти; поживне середовище; морфогенез; мікроклональне розмноження.

Вступ

Упровадження технологій *in vitro* натеper стає панівним комерційним методом масштабного і швидкого отримання саджанців зі стабільним успадкуванням ознак сорту та високим коефіцієнтом розмноження за відсутності обмежень у часі та сезонності виробництва. Крім розмноження, пришвидшується й селекційний процес, зокрема мутагенез та гібридизація. Важливо одержати не лише стерильний експлант, а й морфогенно активний, тобто такий, що приживеться, і з часом регенерує рослину *in vitro*.

Попри відпрацювання низки технологічних заходів, поширення сортів актинідії сповільнюється через недостатню кількість садивного матеріалу та сортів, придатних до вирощування у різних ґрунтово-кліматичних умовах. Мікроклональне розмноження будь-якої культури матиме комерційний успіх лише у поєднанні з оздоровленням від інфекції, зокрема латентної.

Якщо види *Actinidia arguta* та *A. kolomikta* давно вирощують в Україні, то *A. chinensis* і *A. deliciosa* з'явилися лише в останні десятиліття у теплих регіонах – Криму та Закарпатті [1]. Представників роду *Actinidia* майже не пошкоджують шкідники, тому вони придатні для органічного виробництва. Також згадані види досить широко застосовують у декоративному садівництві [2–4].

Мета дослідження – аналіз технологій мікроклонального розмноження рослин для створення життєздатних міжвидових гібридів і сортів *Actinidia* Lindl.

Zinaida Kyienko

<https://orcid.org/0000-0001-7749-0296>

Ivan Kimeichuk

<https://orcid.org/0000-0002-9100-1206>

Viacheslav Matskevych

<https://orcid.org/0000-0002-9314-8033>

Результати досліджень

Попри відпрацювання низки технологічних заходів, поширення сортів актинідії сповільнюється недостатньою кількістю садивного матеріалу та придатних для вирощування у різних ґрунтово-кліматичних умовах сортів.

Огляд літературних джерел та аналітично-порівняльне оцінювання технологічних процесів дали змогу обґрунтувати такі етапи мікроклонального розмноження сортів роду *Actinidia*: 0 – підготовка донорів первинних експлантів; I – введення первинних експлантів і перші субкультивування до отримання стабільних морфогенних структур. Цей етап поєднують із заходами оздоровлення (термота хемотерапія з культурою меристеми); II – мультиплікація; III – індукція ризогенезу; IV – постасептична адаптація.

Для більшості культур, зокрема і для представників роду *Actinidia*, складнощі першого етапу мікроклонального розмноження полягають у: 1) запобіганні або боротьбі із самоінтоксикацією продуктами окиснення фенолоподібних речовин; 2) деконтамінаціях від екзо- та ендогенних мікроорганізмів; 3) доборі трофічних і гормональних детермінант стартового живильного середовища [5, 6].

У природних умовах однією з їхніх функцій є окиснення до хінонів. Це захисна реакція рослин на ушкодження від проникнення патогенів. Багато цих сполук є забарвленими речовинами [7], тому їх наявність у тканинах можна ідентифікувати візуально. Тканини, і виділений з них у живильне середовище ексудат, мають коричневе забарвлення.

Найпоширеніші заходи боротьби з окисненням фенолів до хінонів:

- вирощування на підготовчому етапі донорів експлантів на розсіяному освітленні;
- замочування в розчині антиоксидантів (наприклад, аскорбінової кислоти, полівініл піролідону) перед перенесенням в асептичні умови [3];
- добір співвідношення гормонів [6];
- баланс за вмістом мінеральних елементів, зокрема нітрогену в амонійній формі.

На ефективність введення в асептичну культуру на першому етапі мікроклонального розмноження впливають і біологічні особливості первинних експлантів. Це встановлено дослідниками як на рослинних об'єктах (живці, бруньки, регенеранти) актинідії, так і на інших культурах [3], наприклад картоплі [8].

Скрипченко Н. В. зі співавторами [3] встановили, що первинним експлантам, ізольова-

ним з різних частин пагона, притаманна різна здатність до регенерації. Більш вираженими ці відмінності були у видів *A. chinensis* та *A. deliciosa*, найменше – у *A. arguta*.

Поверхневі тканини актинідії досить ніжні, тому під час проведення заходів хімічної й антимікробної стерилізації можливі опіки, які також є причинами окиснення фенолів і загибелі первинних експлантів. Як і для більшості культур, для актинідії найчастіше застосовують гіпохлорит натрію [9]. Найменш шкідливим для рослинних тканин і найпоширенішим в Україні є препарат Бланідас 300 [3], діюча речовина якого – натрієва сіль дихлорізоціанурової кислоти (80,52%). Як додатковий деконтамінант застосовують біоцид PPM (PlantPreservative Mixture™, діючі речовини: 5-Chloro-2-methyl-3(2H)-isothiazolone 0,1350% і 2-methyl-3(2H)-isothiazolone 0,0412%) виробництва Plant Cell Technology, Вашингтон, США. Оскільки PPM має контактну дію, то первинні експланти на 15–20 діб повністю занурюють у живильне середовище із цим препаратом. Більш тривале занурення спричиняє загибель рослинних об'єктів унаслідок гіпоксії [3].

Важливо отримати не лише стерильний експлант, а й морфогенно активний, тобто такий, що приживеться і згодом регенерує рослину *in vitro*. За ефективністю деконтамінації кращим є інший спосіб (обробляння гіпохлоритом та додавання у живильне середовище біоциду PPM), але за цих обставин відзначено найменше виживання експлантів для всіх зразків обох термінів відбору.

Мікроклональне розмноження будь-якої культури матиме комерційний успіх лише у поєднанні з оздоровленням від інфекції, зокрема латентної. Якщо для контролювання грибів та деяких бактерій успішно застосовують фунгіциди й антибіотики, то проти доклітинних патогенів (наприклад, вірусів і віроїдів) ефективних препаратів немає [11]. Тому наявність цих збудників особливо небезпечна за вегетативного розмноження [6, 12–14]. Не виняток і представники роду *Actinidia*. Зокрема, китайські вчені [9] установили, що на сорті *A. deliciosa* 'Guichang' можуть бути наявні такі віруси: AVX (вірус актинідії X), AcVB (вірус актинідії B), ASGV (вірус яблуневої борозенки), CLRV (вірус скручування листя вишні), CMV (вірус огіркової мозаїки), CNV (вірус некрозу огірка), RMV (вірус мозаїки рибграсу), CLBВ (вірус плямистості листя цитрусових), PZSV (Pelargonium zonate spot virus). Ними ж виявлено, що в сіянцях та меристемно-тканинному по-

колінні кількість уражених вірусами клонів становила менше 20%.

Поєднання термотерапії та ізоляції меристем розміром менше ніж 0,5 мм звільнювало 23,3% експлантів від вірусу кільцевої хлоротисної плямистості актинідії (*Actinidia chlorotic ringspot-associated virus*, AcCRaV) [15].

Бактерії роду *Pseudomonas* можуть перебувати у рослині як безсимптомно, так і спричиняти загибель *A. chinensis* та *A. deliciosa*. Культура меристем і додавання в поживне середовище фосфату алюмінію та саліцилової кислоти забезпечують оздоровлення частини експлантів від *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* (Psa), що завдає комерційних утрат на плантаціях киви в усьому світі. Окрім бактерій та вірусів, в актинідій виявлені ендоефітні гриби, які безсистемно мешкають у внутрішніх тканинах рослин під епідермальним клітинним шаром та колонізують здорові й живі тканини тихими інфекціями [16].

Насіннєве розмноження простіше і менш затратне, втім поступається біотехнологічним методам через низку причин, серед яких утрата константності сорту та складність у визначенні статі молодих рослин ще в розсаднику аж до цвітіння, оскільки більшість видів актинідій є дводомними та мають тривалий ювенільний період [1, 9, 17, 18]. Натомість *in vitro* нині стає панівним комерційним методом масштабного та швидкого отримання саджанців зі стабільним успадкуванням ознак сорту, високим коефіцієнтом розмноження, збереженням цінних ознак за відсутності обмежень у часі й просторі та сезонності виробництва [19]. Крім розмноження, пришвидшується і селекційний процес, зокрема мутагенез та гібридизація [20–23].

На першому етапі мікроклонального розмноження важливо не лише деконтамінувати первинні експланти, але й індукувати в них морфогенну активність через добір детермінант онтогенезу, зокрема компонентами живильного середовища, успіх вибору яких впливає і на стабільність та тривалість наступних етапів розмноження *in vitro* та постасептичної адаптації. Фізіологічні закони живлення залишаються дієвими в умовах *in vitro* навіть за міксотрофного з переважанням гетеротрофного живлення. Порівнюючи з природніми умовами, вплив окремих елементів живлення та гормонів легше виокремити й дослідити [6]. Цьому сприяє обмежений культуральний простір і контрольоване введення у середовище досліджуваних детермінант. В актинідій і низки інших

культур [24] негативні ефекти надлишку та нестачі живлення накопичуються, проявляються і посилюються з кожним наступним поколінням. Гострий прояв цього закону відзначається як фітотоксичний вплив та симптоми нестачі деяких елементів мінерального живлення. А фітотоксичний ефект може виглядати як гіпергідратація тканин, потовщення і вкорочення пагона. За вегетативного розмноження фітотоксичний ефект дисбалансу елементів живлення й гормонів може передаватися від покоління до покоління і накопичуватися [25].

У процесі порівняння проліферації *A. arguta* Issai. на шести культуральних середовищах, найпоширеніших для мікророзмноження актинідії – MS (Murashige – Skoog), Ch (Cheng), H (Harada), St (Standardi), B5 (Gamborg), Ch (модифікована Cheng), установлено, що найвідповіднішим для доброї проліферації є середовище Standardi. Однак воно проте потребує вдосконалення, оскільки також зумовлює побічні фізіологічні ефекти, наприклад утворення калюсу [26]. Частково проблему неконтрольованого калюсоутворення та гіпергідратації розв'язують пересаджуванням на інший склад живильного середовища або ж з меншим умістом біологічно активних речовин і мінеральних елементів [3]. Проте такий підхід зумовлює фізіологічну різноякісність регенерантів у процесі росту й розвитку. Ймовірність появи мутантів також збільшують стресові умови через невідповідність гормональних і трофічних детермінант. Тому масштабна промислова мультиплікація *in vitro*, особливо менеджмент біотехнологічних процесів, неможлива.

Фітотоксичні ефекти дисбалансу трофічних і гормональних детермінант проявляються на третьому й наступних пасажах, що ускладнює вибір оптимального складу середовища [6]. Тобто відразу після пересаджування рослинного об'єкта в інше середовище складно оцінити його реакцію на кількісний та якісний уміст елементів живлення і рістрегулювальних речовин [24].

Складаючи або модифікуючи пропис поживного середовища, як орієнтир вимог до рН, мінеральних елементів, відношення до іонів Ca та інші особливості живлення слід урахувати ґрунтові умови еволюційного походження культури. Зокрема, актинідії родом із хвойних і змішаних лісів Південної Азії, ґрунтам яких властивий промивний тип водного режиму, коли у верхньому горизонті розчиняється і вимивається значна частина мінеральних сполук. Коренева система поверхнева, отже живлення відбувається

ся на бідних ґрунтах завдяки опадам і мінеральним поживним речовинам у листках актинідії, вирощених у різних кліматичних і ґрунтових умовах (Київ, Україна та Цзямуси, Китай). Листя рослин китайського походження мали вищу концентрацію всіх досліджених поживних речовин, окрім кремнію. Виявлені відмінності у вмісті макро- та мікроелементів у рослинних тканинах відповідають їх загальному вмісту в ґрунті та залежать від синтезу низькомолекулярних органічних сполук, а саме гідроксибензойної, бензойної і тритерпенової кислот. Підвищення вмісту кремнію у листках та плодах рослин актинідії, вирощених в Україні, свідчить про дефіцит вологи в ґрунті [27].

Отже, можна припустити, що рослини еволюційно пристосовані до помірного, невисокого вмісту поживних речовин, але завдяки частковій фізіологічній пластичності здатні адаптуватись і до умов мінерального живлення. Частина елементів живлення бере участь в обміні речовин, а інша (надлишкова) відкладається про запас у тканинах, зокрема у вакуолях. Можливі й випадки включення надлишкових кількостей в органічні речовини, вміст яких стає надмірним за умови збалансованого живлення. Це стимулює синтез підвищеної кількості амінокислот, що є однією з причин збільшення патологічного водопоглинання [12]. Окрім прямої фітотоксичності, згідно із законами живлення, надлишкові кількості одних елементів ускладнюють засвоєння інших [11]. Тому середовища з високим умістом мінеральних елементів, як-от MS, не зовсім придатні, що підтверджено експериментально [1, 3].

Серед макроелементів для актинідії найменш виражено надлишковою є кількість фосфору [28], більш токсичний – надлишок азоту [18]. Спостерігають такі прояви фітотоксичності: калюсоутворення, некротизація тканин та анатомічні зміни (вкорочення стебла, потовщення листкової пластинки) [29]. На практиці використовують середовища зі зменшеним на 50 чи 75% умістом мінеральних елементів (MS1/2, MS1/4) [19, 26, 30, 31] або середовища з меншим умістом мінеральних елементів уже в базових прописках [3, 26].

У дослідженнях із поживними середовищами для *A. arguta* встановлено, що з елементів мінерального живлення лише 11 іонів є необхідними для життєдіяльності: п'ять макро- (N, P, K, Mg, S) та шість мікроелементів (Cl, Fe, B, Mo, Na, I) [29]. Перших у живильному середовищі міститься > 0,5, а других – < 0,5 ммоль на літр [32].

Mezzetti зі співавторами [33] встановлено, що в процесі вирощування *A. deliciosa* протягом 60 діб на середовищі MS інтенсивне накопичення як сирі, так і сухої маси відбувається у перші 30 діб. За цей час із середовища поглиналося 5,5% фосфору та 85,0% азоту, а наприкінці – 94,5 і 95,0% відповідно. Елементи живлення в різних частинах експлантату протягом періоду культивування розподілялися нерівномірно. Здебільшого вони накопичувалися в калюсній тканині [33]. Тобто навіть за надлишкових концентрацій, які є в MS, рослинні об'єкти поглинали більшість мінеральних елементів. Не вся кількість елементів живлення метаболізується до кінцевих продуктів обміну речовин: це можуть бути проміжні продукти, наприклад фіксування азоту в складі амінокислот або у вакуолях [10, 11].

Надлишкова кількість елементів живлення для актинідії *in vitro* проявляється на 4–5-му пасажі у зміні висоти пагонів, кількості міжвузлів, товщини й форми листкових пластинок. Скрипченко та ін. [3] установили, що з кожним пасажем різниця в біометричних показниках регенерантів, вирощених на різних середовищах, зростає. Зокрема, на MS і QL відзначено короткий товстий пагін, надмірно інтенсивне забарвлення листкових пластинок з ознаками гіпергідратації тканин, некрози верхівок пагона та пригнічення процесів ризогенезу, що є типовим для надлишку азоту. У разі пересаджування на середовище із меншим умістом азоту показники висоти пагона, кількості міжвузлів та коренеутворення до 4–5-го пасажу поступово зростали. За висаджування таких регенерантів у теплиці на торфо-перлітові субстрати збільшувався відсоток їхнього приживання.

Окрім мінерального, на ріст рослин актинідії впливає повітряне живлення, тобто фотосинтез, або використання джерел гетеротрофного живлення. За даними [34], унаслідок поглинання *A. deliciosa* синтетичних вуглеводів із поживного середовища вихідна кількість сахарози після 15 діб культивування знизилася до 32%, через 30 діб – до 4% і до 0,08% наприкінці періоду культивування (60 діб). Збільшення кількості сахарози в експлантатах паралельно з її зменшенням у середовищі не відбувалося. Тобто поглинутий синтетичний вуглевод не накопичувався, а ставав частиною обміну речовин. Частина екзогенних вуглеводів витрачалась на синтез крохмалю, про що свідчило збільшення його вмісту в регенерантах. Установлено, що *in vitro* збільшення сирі та сухої маси і швидкості проліферації відбувається

за одночасного збільшення вихідних параметрів створення продуктів фотоасиміляції: інтенсивності світлового потоку – з 30 до 250 мкмоль $m^{-2}c^{-1}$; умісту вуглекислого газу – з 330 до 4500 мкл на літр.

За традиційного культивування *in vitro* з міксотрофним, переважно гетеротрофним, живленням низька концентрація CO_2 всередині культуральних ємностей обмежує фотоасиміляцію, що потребує додавання сахарози до культурального середовища як основного джерела енергії та пластичних речовин, унаслідок чого вповільнюється поглинання мінеральних елементів зі штучного поживного середовища [35].

Фотоасиміляційне утворення вуглеводів залежить як від інтенсивності освітлення, так і від його спектра. Infante та ін. [36] установили вплив джерела світла на щільність продихів листя й морфологію тканини. У рослин *A. deliciosa* накопичення сухої та сирої речовини було найбільшим, а розвиток калюсу – найобмеженішим за режимом сонячного світла. Проліферація пагонів була найвищою під білим світлом. Поряд із трофічною, домінантною є гормональна детермінація. У біотехнологічних умовах на штучних поживних середовищах гормональний вплив відбувається за різних схем поєднання п'яти класів гормонів як екзогенного синтетичного, так і ендогенного походження. У протоколах технологій мікроклонального розмноження найпоширенішими серед гормонів є цитокініни й ауксини, рідше – гібереліни. Застосування перших двох гормонів на різних етапах розмноження проходить з урахуванням правила Скуга – Мілера. На етапі мультиплікації для стимулювання проліферації пагонів цитокініни повинні переважати ауксини. А на етапі ризогенезу кількість ауксинів збільшують [5, 37]. Серед цитокінінів у більшості технологій найпоширенішим є бензиламінопурин (БАП) [3, 5, 6, 38]. БАП і зеатин перетворюються в рослині на природну форму цитокініну [39]. Однак є свідчення, що в разі застосування метатополіну на етапі індукції ризогенезу швидше розвивається коренева система [40].

Різні екзогенні синтетичні аналоги фітогормонів мають неоднаковий вплив не лише на ризогенез, а й на розвиток пагона. Зокрема, за порівняння розвитку пагонів *A. deliciosa* на середовищах із БАП, кінетином і КТ-30 (форхлорфенурон) бензиламінопурин сприяв найвищому коефіцієнту розмноження. При цьому листки були дрібні, із видовженими листовими пластинками. Також на середовищах із цим гормоном відзначено

найбільше регенерантів із гіпергідратованими тканинами – їхня кількість зростала з кожним послідовним пасажом. На середовищах із кінетином за меншого коефіцієнта розмноження формувалися більші за розмірами стебло і листки. Це пояснюється тим, що рослинні гормони перебувають в організмі в різних формах (одна із причин багатовекторної детермінації) [25]. Зокрема, застосування поєднань двох синтетичних гормонів у частинах від концентрацій, у яких вони додані в середовище, перевищувало позитивний ефект впливу на регенерант. Досягалися високий коефіцієнт розмноження та добрий розвиток пагона.

Порівняно з БАП або зеатином, кількість і маса пагонів, площа листків та їх кількість були значно вищими у середовищах, доповнених мТ (мета-Тополін). У процесі перенесення на середовище для вкорінення, рослини, які розмножувалися з мТ-добавками, інтенсивніше утворюють коріння, що дає їм змогу швидше адаптуватись до умов до теплиці. Натомість у проростків, розмножених у середовищах із БАП або зеатином, коренеутворення відбувається повільніше [41].

Для коренеутворення на завершальних етапах мікроклонального розмноження застосовують ауксини: ендогенний ауксин ІОК (індоліл-3-оцтова кислота) та синтетичні речовини, з яких він синтезується в організмі [25]. Крім детермінації ризогенезу, ауксини підвищують резистентність, пов'язану з активацією фенілпропаноїдів, серед яких флавоноїди, феноли та терпеноїди [44]. Якщо на етапі введення в асептичні умови (перший етап МКР) ці речовини можуть спричиняти самоінтоксикацію експлантів, то у разі постасептичної адаптації мають позитивний ефект, збільшуючи відсоток приживання рослин *ex vitro*.

Синтетична ІОК швидко розпадається в живильному середовищі, тому частіше використовують відносно стабільнішу індолілмасляну кислоту (ІМК), з якої в організмі синтезується ІОК [12]. ІМК застосовують і в протоколах мікроклонального розмноження представників роду *Actinidia* [3, 5, 42].

Ауксини синтезуються у верхівках пагонів і, рухаючись базипетально, накопичуються в базальній частині пагонових експлантів [12, 43].

У разі одночасного накопичення в експлантах великих кількостей ауксинів і цитокінінів відбувається калюсоутворення. Вищу органогенну здатність мають калюси, які накопичили або розміщені на середовищах із кількісним переважанням цитокінінів над ауксинами [43].

Здатність актинідій легко утворювати калюси використовують для розмноження непрямым морфогенезом та із селекційною метою. Утворення калюсів відбувається на різних середовищах [44], із них формуються апікальні меристеми та ембріоїди. Гістологічні дослідження калюсних тканин виявили їхню структурну неоднорідність [45, 46]. Генотип і тип експланта, а також склад середовища та рН впливають на органогенетику і здатність до формування калюсу [47]. Інтенсивніший калюсогенез характерний передусім для листових експлантів [48].

Калюс є цінним джерелом мутацій, для чого застосовують як опромінення гамма-променями, так і хімічний мутагенез. Оброблення калюсу і донорних експлантів колхіцином (0,05–0,10%) дає змогу збільшити плоідність, зокрема отримати тетраплоїдів актинідії із жовтим та червоним м'якушем [20]. Зокрема, за умови застосування колхіцину для *A. arguta* отримано тетра- ($2n = 4x = 116$) та октоплоїди ($2n = 8x = 23$) [49]. Для селекції на посухостійкість п'яти видів актинідії (*A. macrosperma*, *A. longicarpa*, *A. deliciosa*, *A. hemsleyana* та *A. valvata*) успішно використовують культивування на середовищах із поліетиленгліколем (ПЕГ-маса формули 8000), щоб спричинити стрес від посухи. Одним із показників підвищення стійкості було зростання вмісту в цитоплазмах клітин осмотично активних речовин, зокрема цукрів та амінокислот [21].

Культуру клітин актинідій застосовують для отримання життєздатних міжвидових гібридів, наприклад, від схрещування *A. chinensis* (2x) із *A. melanandra* (4x). Ембріони переносили *in vitro*, обробляли колхіцином, щоб подвоїти кількість хромосом [23]. Є успіхи в міжвидовій гібридизації між *A. arguta* (4x) та *A. deliciosa* (6x). Гібридні ембріони культивували на середовищі MS 1/2 із додаванням 1-нафталіноцтової кислоти (0,3 мг/л), БАП (2 мг/л) і ГК (0,2 мг/л). Регенеранти вкорінювали на середовищі 1/2 MS із синтетичними ауксинами – індол-3-масляною або нафтилоцтовою кислотами. Асептичну культуру на середовищах із кріопротекторами успішно використовують для кріоконсервації та тривалого зберігання генетичного матеріалу актинідій [50].

Регеновані рослини *in vitro* мають певні анатомічні пристосування для життєдіяльності в асептичних гетеротрофних умовах. Зокрема, в актинідії клітини епідермісу деформовані, мають тонкі стінки неправильної форми [51]. Восковий шар стебла менший, порівняно з пагонами рослин у відкритому

ґрунті, а кутикулярна транспірація – вища, що призводить до значних утрат вологи [52].

Рослини *in vitro* мають менший уміст сухих речовин та більшу кількість вологи, зокрема й вільної, яка в разі порушення водного балансу швидко втрачається. Одним із чинників зміни співвідношення сухої / сирої біомаси є екзогенний цитокінін бензиламінопурін. Установлено, що експозиція і концентрація цього синтетичного гормону в *A. deliciosa* у фазі розмноження впливали на якість регенерантів, зокрема на вміст води та здатність її утримувати. Кількість води збільшувалася із додаванням від 4,4 мк БАП. Експозиції гормону істотніше ніж його концентрації впливали на надлишок води *in vitro*. Це позначилося й на якості та виживанні саджанців в умовах *ex vitro* [53].

У більшості культуральних емностей відсутня або слабка вентиляція. Установлено, що регенеранти, вирощені за активної вентиляції, містили найбільшу кількість індол-3-оцтової кислоти, тоді як уміст абсцизової кислоти був високим в експлантах, культивованих у невентильованих умовах [54].

Указані зміни в регулюванні водного балансу, трофічного та гормонального режимів потребують четвертого (завершального) етапу мікроклонального розмноження рослин [3], під час якого актинідії висаджують на інертні, вільні від збудників хвороб субстрати, наприклад вермикуліт [55] чи перліт [5]. Для *A. chinensis* успішним є застосування гідропонної технології адаптації регенерантів на етапі *ex vitro* [56].

У процесі культивування експлантів *A. deliciosa* 'Hayward' на поживних середовищах із 20 г/л сахарози у перші 20 діб та 600 мкмоль CO_2 моль⁻¹, а потім перенесення на середовище без сахарози до завершення культивування *in vitro* регенеранти розвинули повністю функціональний фотосинтетичний апарат, добре підготовлений для переміщення в умови *ex vitro*, що має низку переваг для мікро-розмноження [57].

Ефективним засобом поліпшення адаптації регенерантів *ex vitro* є їх мікоризація вегікулярно-арбускулярними мікоризними грибами роду *Glomus* [58].

Висновки

Культуру клітин актинідій використовують для отримання життєздатних міжвидових гібридів та штучного (синтетичного) насіння.

Представників роду *Actinidia* майже не пошкоджують шкідники, тому вони придатні для органічного виробництва.

Здатність до регенерації більшою мірою виражена у видів *A. chinensis* та *A. deliciosa*, меншою – в *A. arguta*.

Рослини видів *Actinidia* еволюційно пристосовані до помірного, невисокого вмісту поживних речовин, але завдяки частковій фізіологічній пластичності здатні адаптуватись і до умов мінерального живлення.

Фотоасиміляційне утворення вуглеводів залежить як від інтенсивності освітлення, так і від його спектра.

Для *A. chinensis* успішним є застосування гідропонної технології адаптації регенерантів на етапі *ex vitro*.

Мікроклональне розмноження будь-якої культури матиме комерційний успіх лише за поєднання з оздоровленням від інфекції, зокрема й латентної.

Використана література

- Скрипченко Н. В. Актинідія в Україні. Житомир : Рута, 2017. 88 с.
- Slamni A., Tartynska G. S., Velma S. V. Detection and determination of quantitative content of amino acids in purpur actinidia fruits. Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації : тези доповідей IV науково-практичної конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю (м. Харків, 19 травня 2022 р.). Харків, 2022. С. 66.
- Скрипченко Н. В., Мацкевич В. В., Філіпова Л. М., Кибенко І. І. Особливості мікроклонального розмноження представників роду *Actinidia* Lindl. *Інтродуція рослин*. 2017. № 1. С. 88–96.
- Клименко С. В., Скрипченко Н. В. Сорта плодowych и ягодных растений селекции Национального ботанического сада им. Н. Н. Гришко. Киев : Фитосоциологический центр, 2013. 104 с.
- Мацкевич В. В., Подгаєцький А. А., Філіпова Л. М. Мікроклональне розмноження окремих видів рослин (протоколи технологій). Біла Церква : БНАУ, 2019. 85 с.
- Підгаєцький А. А., Мацкевич В. В., Підгаєцький А. Ан. Особливості мікроклонального розмноження видів рослин. Біла Церква, 2018. 208 с.
- Loadman P. M., Calabrese C. R. Separation methods for anthraquinone related anti-cancer drugs. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*. 2001. Vol. 764, Iss. 1–2. P. 193–206. doi: 10.1016/S0378-4347(01)00281-X
- Мацкевич В. В. Онтогенез картоплі в культурі *in vitro*. *Карптонлярство*. 2002. Вип. 31. С. 107–110.
- Zhong W., Zhou J., Tang D. et al. Establishment of Tissue Culture System of *Actinidia deliciosa* Cultivar "Guichang". *Journal of Chemistry*. 2021. Vol. 2021. Article ID 9951949. doi: 10.1155/2021/9951949
- Подгаєцький А. А., Мацкевич В. В., Врублевський А. Т. Використання біоциду PPM як додаткового деконтамінанта в процесі мікроклонального розмноження рослинних об'єктів. *Вісник Сумського національного аграрного університету. Агротехнологія і біологія*. 2016. Вип. 9. С. 156–160.
- Мацкевич В. В., Філіпова Л. М., Олешко О. Г. Фізіологія і біотехнологія рослин. Біла Церква, 2022. 618 с.
- Кушнір Г. П., Сарнацька В. В. Мікроклональне розмноження рослин. Київ : Наук. думка, 2005. 270 с.
- Кунах В. А. Біотехнологія лікарських рослин. Генетичні та фізіолого-біохімічні основи. Київ : Логос, 2005. 730 с.
- Мацкевич В. В., Роговський С. В., Власенко М. Ю., Черняк В. М. Основи біотехнології рослин. Біла Церква, 2010. 135 с.
- Wang Y., Sun J., Wang J. et al. Efficient elimination of *Actinidia chlorotic ringspot-associated virus* from infected kiwifruit shoots cultured *in vitro*. *Plant Disease*. 2022. doi: 10.1094/PDIS-05-22-1101-SC
- Ferrante P., Scortichini M. Identification of *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* as causal agent of bacterial canker of yellow kiwifruit (*Actinidia chinensis* Planchon) in central Italy. *Journal of Phytopathology*. 2009. Vol. 157, Iss. 11–12. P. 768–770. doi: 10.1111/j.1439-0434.2009.01550.x
- Скрипченко Н. В., Мусатенко Л. І., Мороз П. А., Васюк В. А. Функціональний зв'язок фітогормонального статусу інтродукованих видів актинідії з регенераційною здатністю і статтю рослини. *Інтродуція рослин*. 1999. № 2. С. 96–100. doi: 10.5281/zenodo.3366272
- Скрипченко Н. В., Мороз П. А. Статевий диморфізм видів роду *Actinidia* Lindl. *Інтродуція рослин*. 2009. № 2. С. 50–58. doi: 10.5281/zenodo.2556345
- Akbaş F., Işıkalan Z., Başaran D., Namlı S. Kivi (*Actinidia deliciosa*) nin *in vitro* ortamda çimlendirilmesi. *Batman Üniversitesi Yaşam Bilimleri Dergisi*. 2012. Vol. 1, Iss. 2. P. 139–147.
- Wu J.-H., Ferguson A. R., Murray B. G. Manipulation of ploidy for kiwifruit breeding: *in vitro* chromosome doubling in diploid *Actinidia chinensis* Planch. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 2011. Vol. 106, Iss. 3. P. 503–511. doi: 10.1007/s11240-011-9949-z
- Zhong Y.-P., Li Z., Bai D.-F. et al. *In vitro* variation of drought tolerance in five *Actinidia* species. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 2018. Vol. 143, Iss. 3. P. 226–234. doi: 10.21273/JASHS04399-18
- Adriani M., Piccioni E., Standardi A. Effect of different treatments on the conversion of 'Hayward' kiwifruit synthetic seeds to whole plants following encapsulation of *in vitro* derived buds. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*. 2000. Vol. 28, Iss. 1. P. 59–67. doi: 10.1080/01140671.2000.9514123
- Harvey C. F., Fraser L. G., Kent J. et al. Analysis of plants obtained by embryo rescue from an interspecific *Actinidia* cross. *Scientia Horticulturae*. 1995. Vol. 60, Iss. 3–4. P. 199–212. doi: 10.1016/0304-4238(94)00723-S
- Мацкевич В. В., Кімейчук І. В., Мацкевич О. В., Шита О. П. Світовий досвід, перспективи в Україні розмноження фундука та мигдалю. *Агробіологія*. 2022. № 1. С. 179–191. doi: 10.33245/2310-9270-2022-171-1-179-19
- Терек О. І., Пацула О. І. Ріст і розвиток рослин. Львів : ЛНУ ім. Івана Франка, 2011. 328 с.
- Hameg R., Arteta T., Gallego P. P., Barreal M. E. Selecting an efficient proliferation medium for *Actinidia arguta* 'Issai' explants. *Acta Horticulturae*. 2018. No. 1218. P. 565–572. doi: 10.17660/ActaHortic.2018.1218.77
- Zaimenko N. V., Skrypchenko N. V., Ivanytska B. O. et al. The effect of soil and climatic conditions on the distribution of nutrients in *Actinidia arguta* leaves. *Biosystems Diversity*. 2020. Vol. 28, No. 1. P. 113–118. doi: 10.15421/012015
- Moncaleán P., Cañal M. J., Fernández H. et al. Nutritional and gibberellic acid requirements in kiwifruit vitropenic cultures. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*. 2003. Vol. 39, Iss. 1. P. 49–55. doi: 10.1079/IVP2002371
- Hameg R., Arteta T. A., Landin M. et al. Modeling and optimizing culture medium mineral composition for *in vitro* propagation of *Actinidia arguta*. *Frontiers in Plant Science*. 2020. Vol. 11. Article 554905. doi: 10.3389/fpls.2020.554905
- Deb C. R., Gangmei P. K. *In vitro* morphogenesis of foliar explants and plant regeneration of *Actinidia deliciosa* A.Chev. – a horticultural important plant. *Plant Cell Biotechnology and Molecular Biology*. 2020. Vol. 21, Iss. 15–16. P. 114–123.
- Levchuk N., Skrypchenko N., Dziuba O. et al. Features of morphogenesis of *Actinidia arguta* leaf tissues at microclonal propagation. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*. 2022. Vol. 12, Iss. 1. Article e4667. doi: 10.55251/jmbfs.4667
- George E. F., Hall M. A., Klerk GJ. D. The Components of Plant Tissue Culture Media I: Macro- and Micro-Nutrients. *Plant Propagation by Tissue Culture* / E. F. George, M. A. Hall, GJ. D. Klerk (Eds.). Dordrecht : Springer, 2008. P. 65–113. doi: 10.1007/978-1-4020-5005-3_3

33. Mezzetti B., Rosati P., Casalicchio G. *Actinidia deliciosa* C.F.Liang *in vitro*. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*. 1991. Vol. 25, Iss. 2. P. 91–98. doi: 10.1007/BF00042179
34. Mezzetti B., Conte L. S., Rosati P. *Actinidia deliciosa in vitro*. II. Growth and exogenous carbohydrates utilization by explants. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 1991. Vol. 26, Iss. 3. P. 153–160. doi: 10.1007/BF00039937
35. Arigita L., Cañal M. J., Tamés R. S., González A. CO₂-enriched microenvironment affects sucrose and macronutrients absorption and promotes autotrophy in the *in vitro* culture of kiwi (*Actinidia deliciosa* Chev. Liang and Ferguson). *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*. 2010. Vol. 46, Iss. 3. P. 312–322. doi: 10.1007/s11627-009-9267-x
36. Infante R., Rotondi A., Marino G., Fasolo F. Solar light effects on growth, net photosynthesis, and leaf morphology of *in vitro* kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) CV hayward. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*. 1994. Vol. 30, Iss. 3. P. 160–163. doi: 10.1007/BF02632207
37. Мацкевич В. В., Роговский С. В., Власенко М. Ю., Черняк В. М. Основи біотехнології рослин. Біла Церква, 2010. 135 с.
38. Marino G., Bertazza G. Micropropagation of *Actinidia deliciosa* cvs. 'Hayward' and 'Tomuri'. *Scientia Horticulturae*. 1990. Vol. 45, Iss. 1–2. P. 65–74. doi: 10.1016/0304-4238(90)90069-Q
39. Einset J. W., Arboretum A. Conversion of N6-isopentenyladenine to zeatin by *Actinidia* tissues. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 1984. Vol. 124, Iss. 2. P. 470–474. doi: 10.1016/0006-291X(84)91577-8
40. Saeiahagh H., Mousavi M., Wiedow C. et al. Effect of cytokinins and sucrose concentration on the efficiency of micropropagation of 'Zes006' *Actinidia chinensis* var. *chinensis*, a red-fleshed kiwifruit cultivar. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 2019. Vol. 138. P. 1–10. doi: 10.1007/s11240-019-01597-4
41. Веденичова Н. П., Косаківська І. В. Цитокініни як регулятори онтогенезу рослин за різних умов зростання. Київ : Наш формат, 2017. 200 с.
42. Li Z. X., Yang S., Wang X. et al. Widely targeted metabolomics analysis reveals the effect of exogenous auxin on postharvest resistance to *Botrytis cinerea* in kiwifruit (*Actinidia chinensis* L.). *Postharvest Biology and Technology*. 2023. Vol. 195. Article 112129. doi: 10.1016/j.postharvbio.2022.112129
43. Kovae J. Micropropagation of *Actinidia kolomikta*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 1993. Vol. 35, Iss. 3. P. 301–303. doi: 10.1007/BF00037286
44. Centeno M. L., Rodríguez A., Feito I., Fernández B. Relationship between endogenous auxin and cytokinin levels and morphogenic responses in *Actinidia deliciosa* tissue cultures. *Plant Cell Reports*. 1996. Vol. 16, Iss. 1–2. P. 58–62. doi: 10.1007/BF01275450
45. Barbieri C., Morini S. Plant regeneration from *Actinidia* callus cultures. *Journal of Horticultural Science*. 1987. Vol. 62, Iss. 1. P. 107–109. doi: 10.1080/14620316.1987.11515757
46. Ludvová A., Ostroľucká M. G. Morphogenic processes in callus tissue cultures and de novo regeneration of plants in *Actinidia chinensis* Planch. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*. 1998. Vol. 67, Iss. 3–4. P. 217–222.
47. Famiani F., Ferradini N., Standardi A. et al. *In vitro* regeneration of different *Actinidia* species. *Acta Horticulturae*. 1997. Vol. 444. P. 133–138. doi: 10.17660/ActaHortic.1997.444.18
48. Akbaş F., Işikalan Ç., Namli S. Callus Induction and Plant Regeneration from Different Explants of *Actinidia deliciosa*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 2009. Vol. 158, Iss. 2. P. 470–475. doi: 10.1007/s12010-008-8401-2
49. Liu C., Sun X., Dai H., Zhang Z. *In vitro* induction of octoploid plants from tetraploid *Actinidia arguta*. *Acta Horticulturae*. 2011. Vol. 913. P. 185–190. doi: 10.17660/ActaHortic.2011.913.23
50. Pathirana R., Mathew L., McLachlan A. A simplified method for high recovery of kiwifruit (*Actinidia* spp.) shoot tips after drop-let vitrification cryopreservation suitable for long-term conservation. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 2021. Vol. 144, Iss. 1. P. 97–102. doi: 10.1007/s11240-020-01860-z
51. Kumar K., Rao I. U. Morphophysiological problems in acclimatization of micropropagated plants *in-ex vitro* conditions - A Review. *Journal of Ornamental and Horticultural Plants*. 2012. Vol. 2, Iss. 4. P. 271–283.
52. Izzo R., Marinone Albini F., Milone M. T. A. et al. Epicuticular waxes in micropropagated and from cutting vines of *Actinidia deliciosa* under water deficit. *Agrochimica*. 1998. Vol. 42, Iss. 5. P. 219–234.
53. Moncaleán P., Rodríguez A., Fernández B. *In vitro* response of *Actinidia deliciosa* explants to different BA incubation periods. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 2001. Vol. 67, Iss. 3. P. 257–266. doi: 10.1023/A:1012732429147
54. Arigita L., Fernández B., González A., Tamés R. S. Effect of the application of benzyladenine pulse on organogenesis, acclimatization and endogenous phytohormone content in kiwi explants cultured under autotrophic conditions. *Plant Physiology and Biochemistry*. 2005. Vol. 43, Iss. 2. P. 161–167. doi: 10.1016/j.plaphy.2005.01.012
55. Bourrain L. *In vitro* propagation of *Actinidia melanandra* Franch. and *Actinidia rubricaulis* Dunn. from shoot tip explants. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*. 2018. Vol. 46, Iss. 2. P. 162–173. doi: 10.1080/01140671.2017.1360369
56. Purohit S., Rawat J. M., Pathak V. K. et al. A hydroponic-based efficient hardening protocol for *in vitro* raised commercial kiwifruit (*Actinidia deliciosa*). *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*. 2021. Vol. 57, Iss. 3. P. 541–550. doi: 10.1007/s11627-020-10127-3
57. Arigita L., Gonzalez A., Tames R. S. Influence of CO₂ and sucrose on photosynthesis and transpiration of *Actinidia deliciosa* explants cultured *in vitro*. *Physiologia Plantarum*. 2002. Vol. 115, Iss. 1. P. 166–173. doi: 10.1034/j.1399-3054.2002.1150119.x
58. Schubert A., Bodrino C., Gribaudo I. Vesicular-arbuscular mycorrhizal inoculation of kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) micropropagated plants. *Agronomie*. 1992. Vol. 12, Iss. 10. P. 847–850.

References

- Skrypchenko, N. V. (2017). *Aktynidiia v Ukraini* [Actinidia in Ukraine]. Zhytomyr: Ruta. [In Ukrainian]
- Slamni, A., Tartynska, G. S., & Velma, S. V. (2022, May). Detection and determination of quantitative content of amino acids in purple actinidia fruits. In *From experimental and clinical pathophysiology to the achievements of modern medicine and pharmacy: abstracts of the 1st scientific and practical conference for students and young scientists with international participation* (p. 66). Kharkiv: NUPh. [In Ukrainian]
- Skrypchenko, N. V., & Moroz, P. A. (2009). Sexual dimorphism of *Actinidia* Lindl. species. *Plant Introduction*, 1, 50–58. doi: 10.5281/zenodo.2556345 [In Ukrainian]
- Klimenko, S. V., & Skrypchenko, N. V. (2013). *Sorta plodovykh i yagodnykh rastenyi selektsii Natsional'nogo botanicheskogo sada im. N. N. Grishko* [Cultivars of fruits and berry plants of selection of M. M. Gryshko National Botanical Garden of the NAS of Ukraine]. Kyiv: Fitosotsiotsentr. [In Russian]
- Matskevych, V. V., Podhaietskyi, A. A., & Filipova, L. M. (2019). *Mikroklonalne rozmnozhennia okremykh vydiv roslyn (protokoly tekhnologii)* [Microclonal reproduction of certain plant species (technology protocols)]. Bila Tserkva: BNAU. [In Ukrainian]
- Podhaietskyi, A. A., Matskevych, V. V., & Podhaietskyi, A. A. (2018). *Osoblyvosti mikroklonalnoho rozmnozhennia vydiv roslyn* [Features microclonal propagation of plant species]. Bila Tserkva: N.p. [In Ukrainian]
- Loadman, P. M., & Calabrese, C. R. (2001). Separation methods for anthraquinone related anti-cancer drugs. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, 764(1–2), 193–206. doi: 10.1016/S0378-4347(01)00281-X
- Matskevych, V. V. (2002). *Ontohenez kartopli v kulturi in vitro* [Ontogeny of potatoes in *in vitro* culture]. *Kartopliarstvo*, 31, 107–110. [In Ukrainian]
- Zhong, W., Zhou, J., Tang, D., Huang, Y., Liu, F., Zhang, M., ... Tang, J. (2021). Establishment of tissue culture system of *Acti-*

- nidia deliciosa* cultivar "Guichang". *Journal of Chemistry*, 2021, Article 9951949. doi: 10.1155/2021/9951949
10. Podhaietskyi, A. A., Matskevych, V. V., & Vrublevskiy, A. T. (2016). Use of PPM biocide as an additional decontaminant in the process of microclonal reproduction of vegetable substances. *Bulletin of Sumy National Agrarian University. Series: Agronomy and Biology*, 9, 156–160. [In Ukrainian]
 11. Matskevych, V. V., Filipova, L. M., & Oleshko, O. H. (2022). *Fiziolohiia i biotekhnolohiia roslyn* [Physiology and biotechnology of plants]. Bila Tserkva: N.p. [In Ukrainian]
 12. Kushnir, H. P., & Sarnatska, V. V. (2005). *Mikroklonalne rozmnozheniia roslyn* [Microclonal propagation of plants]. Kyiv: Naukova dumka. [In Ukrainian]
 13. Kunakh, V. A. (2005). *Biotehnolohiia likarskykh roslyn. Hentychni ta fizioloho-biokhimichni osnovy* [Biotechnology of medicinal plants. Genetic and physiological biochemical bases]. Kyiv: Lohos. [In Ukrainian]
 14. Matskevych, V. V., Rohovskiy, S. V., Vlasenko, M. Yu., & Cherniak, V. M. (2010). *Osnovy biotekhnolohii roslyn* [Basics of plant biotechnology]. Bila Tserkva: N.p. [In Ukrainian]
 15. Wang, Y., Sun, J., Wang, J., Sujata, S., Huang, Q., Hou C., ... Lei, Z. (2022). Efficient elimination of *Actinidia* chlorotic ringspot-associated virus from infected kiwifruit shoots cultured *in vitro*. *Plant Disease*. doi: 10.1094/PDIS-05-22-1101-SC
 16. Ferrante, P., & Scortichini, M. (2009). Identification of *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* as causal agent of bacterial canker of yellow kiwifruit (*Actinidia chinensis* Planchon) in central Italy. *Journal of Phytopathology*, 157(11–12), 768–770. doi: 10.1111/j.1439-0434.2009.01550.x
 17. Skrypchenko, N. V., Musatenko, L. I., Moroz, P. A., & Vasiuk, V. A. (1999). Functional relation of *Actinidia* species phytohormonal status with regeneration ability and sex of plants. *Plant Introduction*, 2, 96–100. doi: 10.5281/zenodo.3366272 [In Ukrainian]
 18. Skrypchenko, N. V., & Moroz, P. A. (2009). Sexual dimorphism of *Actinidia* Lindl. species. *Plant Introduction*, 2, 50–58. doi: 10.5281/zenodo.2556345 [In Ukrainian]
 19. Akbaş, F., Işıkan, B., Başaran, D., & Namlı, S. (2012). Kivi (*Actinidia deliciosa*) nin *in vitro* ortamda çimlendirilmesi. *Batman Üniversitesi Yaşam Bilimleri Dergisi*, 1(2), 139–147.
 20. Wu, J.-H., Ferguson, A. R., & Murray, B. G. (2011). Manipulation of ploidy for kiwifruit breeding: *in vitro* chromosome doubling in diploid *Actinidia chinensis* Planch. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 106(3), 503–511. doi: 10.1007/s11240-011-9949-z
 21. Zhong, Y.-P., Li, Z., Bai, D.-F., Qi, X.-J., Chen, J.-Y., Wei, C.-G., ... Fang, J.-B. (2018). *In vitro* variation of drought tolerance in five *Actinidia* species. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 143(3), 226–234. doi: 10.21273/JASHS04399-18
 22. Adriani, M., Piccioni, E., & Standardi, A. (2000). Effect of different treatments on the conversion of 'Hayward' kiwifruit synthetic seeds to whole plants following encapsulation of *in vitro*-derived buds. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 28(1), 59–67. doi: 10.1080/01140671.2000.9514123
 23. Harvey, C. F., Fraser, L. G., Kent, J., Steinhagen, S., McNeilage, M. A., & Gijon, Y. (1995). Analysis of plants obtained by embryo rescue from an interspecific *Actinidia* cross. *Scientia Horticulturae*, 60(3–4), 199–212. doi: 10.1016/0304-4238(94)00723-S
 24. Matskevych, V. V., Kimeichuk, I. V., Matskevych, O. V., & Shyta, O. P. (2022). World experience, prospects of hazelnut and almond breeding in Ukraine. *Agrobiologia*, 1, 179–191. doi: 10.33245/2310-9270-2022-171-1-179-19 [In Ukrainian]
 25. Terek, O. I., & Patsula, O. I. (2011). *Rist i rozvytok roslyn* [Growth and development of plants]. Lviv: LNU im. Ivana Franka. [In Ukrainian]
 26. Hameg, R., Arteta, T., Gallego, P. P., & Barreal, M. E. (2018). Selecting an efficient proliferation medium for *Actinidia arguta* 'Issai' explants. *Acta Horticulturae*, 1218, 565–572. doi: 10.17660/ActaHortic.2018.1218.77
 27. Zaimenko, N. V., Skrypchenko, N. V., Ivanytska, B. O., Klymchuk, D. O., Novychenko, N. S., & Liu, D. (2020). The effect of soil and climatic conditions on the distribution of nutrients in *Actinidia arguta* leaves. *Biosystems Diversity*, 28(1), 113–118. doi: 10.15421/012015
 28. Moncaleán, P., Cañal, M. J., Fernández, H., Fernández, B., & Rodríguez, A. (2003). Nutritional and gibberellic acid requirements in kiwifruit vitropenic cultures. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*, 39(1), 49–55. doi: 10.1079/IVP2002371
 29. Hameg, R., Arteta, T. A., & Landin, M. (2020). Modeling and optimizing culture medium mineral composition for *in vitro* propagation of *Actinidia arguta*. *Frontiers in Plant Science*, 11, Article 554905. doi: 10.3389/fpls.2020.554905
 30. Deb, C. R., & Gangmei, P. K. (2020). *In vitro* morphogenesis of foliar explants and plant regeneration of *Actinidia deliciosa* A.Chev. – a horticultural important plant. *Plant Cell Biotechnology and Molecular Biology*, 21(15–16), 114–123.
 31. Levchyk, N., Skrypchenko, N., Dziuba, O., Gajdosova, A., Liubinska, A., & Zaimenko, N. (2022). Features of morphogenesis of *Actinidia arguta* leaf tissues at microclonal propagation. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 12(1), Article e4667. doi: 10.55251/jmbfs.4667
 32. George, E. F., Hall, M. A., & Klerk, G. J. D. (2008). The Components of Plant Tissue Culture Media I: Macro- and Micro-Nutrients. In E. F. George, M. A. Hall, & G. J. D. Klerk (Eds.), *Plant Propagation by Tissue Culture* (pp. 65–113). Dordrecht: Springer. doi: 10.1007/978-1-4020-5005-3_3
 33. Mezzetti, B., Rosati, P., & Casalicchio, G. (1991). *Actinidia deliciosa* C.F.Liang *in vitro*. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 25(2), 91–98. doi: 10.1007/BF00042179
 34. Mezzetti, B., Conte, L. S., & Rosati, P. (1991). *Actinidia deliciosa in vitro* II. Growth and exogenous carbohydrates utilization by explants. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 26(3), 153–160. doi: 10.1007/BF00039937
 35. Arigita, L., Cañal, M. J., Tamés, R. S., & González, A. (2010). CO₂-enriched microenvironment affects sucrose and macronutrients absorption and promotes autotrophy in the *in vitro* culture of kiwi (*Actinidia deliciosa* Chev. Liang and Ferguson). *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*, 46(3), 312–322. doi: 10.1007/s11627-009-9267-x
 36. Infante, R., Rotondi, A., Marino, G., & Fasolo, F. (1994). Solar light effects on growth, net photosynthesis, and leaf morphology of *in vitro* kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) CV hayward. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 30(3), 160–163. doi: 10.1007/BF02632207
 37. Matskevych, V. V., Rohovskiy, S. V., Vlasenko, M. Yu., & Cherniak, V. M. (2010). *Osnovy biotekhnolohii roslyn* [Basics of plant biotechnology]. Bila Tserkva: N.p. [In Ukrainian]
 38. Marino, G., & Bertazza, G. (1990). Micropropagation of *Actinidia deliciosa* cvs. 'Hayward' and 'Tomuri'. *Scientia Horticulturae*, 45(1–2), 65–74. doi: 10.1016/0304-4238(90)90069-Q
 39. Einset, J. W., & Arboretum, A. (1984). Conversion of N6-isopentenyladenine to zeatin by *Actinidia* tissues. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 124(2), 470–474. doi: 10.1016/0006-291X(84)91577-8
 40. Saeiahagh, H., Mousavi, M., Wiedow, C., Bassett, H. B., & Pathirana, R. (2019). Effect of cytokinins and sucrose concentration on the efficiency of micropropagation of 'Zes006' *Actinidia chinensis* var. *chinensis*, a red-fleshed kiwifruit cultivar. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 138, 1–10. doi: 10.1007/s11240-019-01597-4
 41. Vedenychova, N. P., & Kosakivska, I. V. (2017). *Tsytokininy yak rehuliatory ontogenezu roslyn za riznykh umov zrostannia* [Cytokinins as regulators of plant ontogenesis under different growth conditions]. Kyiv: Nash format. [In Ukrainian]
 42. Li, Z. X., Yang, S., Wang, X., Liao, Q. H., Zhang, W. L., Liu, J., ... Tang, J. M. (2023). Widely targeted metabolomics analysis reveals the effect of exogenous auxin on postharvest resistance to *Botrytis cinerea* in kiwifruit (*Actinidia chinensis* L.). *Postharvest Biology and Technology*, 195, Article 112129. doi: 10.1016/j.postharvbio.2022.112129
 43. Kovae, J. (1993). Micropropagation of *Actinidia kolomikta*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 35(3), 301–303. doi: 10.1007/BF00037286

44. Centeno, M. L., Rodriguez, A., Feito, I., & Fernandez, B. (1996). Relationship between endogenous auxin and cytokinin levels and morphogenic responses in *Actinidia deliciosa* tissue cultures. *Plant Cell Reports*, 16(1–2), 58–62. doi: 10.1007/BF01275450
45. Barbieri, C., & Morini, S. (1987). Plant regeneration from *Actinidia* callus cultures. *Journal of Horticultural Science*, 62(1), 107–109. doi: 10.1080/14620316.1987.11515757
46. Ludvová, A., & Ostrolucká, M. G. (1998). Morphogenic processes in callus tissue cultures and de novo regeneration of plants in *Actinidia chinensis* Planch. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, 67(3–4), 217–222.
47. Famiani, F., Ferradini, N., Standardi, A., Hoza, D., & Stanica, F. (1997). *In vitro* regeneration of different *Actinidia* species. *Acta Horticulturae*, 444, 133–138. doi: 10.17660/ActaHortic.1997.444.18
48. Akbaş, F., Işikalan, Ç., & Namli, S. (2009). Callus Induction and Plant Regeneration from Different Explants of *Actinidia deliciosa*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 158(2), 470–475. doi: 10.1007/s12010-008-8401-2
49. Liu, C., Sun, X., Dai, H., & Zhang, Z. (2011). *In vitro* induction of octoploid plants from tetraploid *Actinidia arguta*. *Acta Horticulturae*, 913, 185–190. doi: 10.17660/ActaHortic.2011.913.23913
50. Pathirana, R., Mathew, L., & Mclachlan, A. (2021). A simplified method for high recovery of kiwifruit (*Actinidia* spp.) shoot tips after droplet vitrification cryopreservation suitable for long-term conservation. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 144(1), 97–102. doi: 10.1007/s11240-020-01860-z
51. Kumar, K., & Rao, I. U. (2012). Morphophysiological problems in acclimatization of micropropagated plants *in-ex vitro* conditions - A Reviews. *Journal of Ornamental and Horticultural Plants*, 2(4), 271–283.
52. Izzo, R., Marinone Albini, F., Milone, M. T. A., Murelli, C., & Navari Izzo, F. (1998). Epicuticular waxes in micropropagated and from cutting vines of *Actinidia deliciosa* under water deficit. *Agrochimica*, 42(5), 219–234.
53. Moncaleán, P., Rodríguez, A., & Fernández, B. (2001). *In vitro* response of *Actinidia deliciosa* explants to different BA incubation periods. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 67(3), 257–266. doi: 10.1023/A:1012732429147
54. Arigita, L., Fernández, B., González, A., & Tames, R. S. (2005). Effect of the application of benzyladenine pulse on organogenesis, acclimatization and endogenous phytohormone content in kiwi explants cultured under autotrophic conditions. *Plant Physiology and Biochemistry*, 43(2), 161–167. doi: 10.1016/j.plaphy.2005.01.012
55. Bourrain, L. (2018). *In vitro* propagation of *Actinidia melanandra* Franch. and *Actinidia rubricaulis* Dunn. from shoot tip explants. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 46(2), 162–173. doi: 10.1080/01140671.2017.1360369
56. Purohit, S., Rawat, J. M., Pathak, V. K., Singh, D. K., & Rawat, B. (2021). A hydroponic-based efficient hardening protocol for *in vitro* raised commercial kiwifruit (*Actinidia deliciosa*). *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*, 57(3), 541–550. doi: 10.1007/s11627-020-10127-3
57. Arigita, L., Gonzalez, A., & Tames, R. S. (2002). Influence of CO₂ and sucrose on photosynthesis and transpiration of *Actinidia deliciosa* explants cultured *in vitro*. *Physiologia Plantarum*, 115(1), 166–173. doi: 10.1034/j.1399-3054.2002.1150119.x
58. Schubert, A., Bodrino, C., & Gribaudo, I. (1992). Vesicular-arbuscular mycorrhizal inoculation of kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) micropropagated plants. *Agronomie*, 12(10), 847–850.

UDC 604.7:582.688.4

Kyienko, Z. B.¹, Kimeichuk, I. V.^{2*}, & Matskevych, V. V.² (2022). Micropropagation of plants of the genus *Actinidia* Lindl. *Plant Varieties Studying and Protection*, 18(3), 220–229. <https://doi.org/10.21498/2518-1017.18.3.2022.269022>

¹Ukrainian Institute for Plant Variety Examination, 15 Henerala Rodymytseva St., Kyiv, 03041, Ukraine

²Bila Tserkva National Agrarian University, 8/1 Soborna Square, Bila Tserkva, Kyiv region, 09117, Ukraine, *e-mail: i_kimeichuk@nubip.edu.ua

Purpose. Analysis of plant micropropagation technologies for the creation of viable interspecific hybrids and varieties of *Actinidia* Lindl. **Methods.** General scientific – hypothesis, experiment, observation, analysis, synthesis method for drawing conclusions. **Results.** The introduction of *in vitro* technologies is now becoming the dominant commercial method of large-scale and rapid production of seedlings with stable inheritance of variety traits, high multiplication rate, preservation of economically valuable traits in the absence of production seasonality and time constraints. In addition to reproduction, the breeding process is also accelerated, including mutagenesis and hybridization. It is important to obtain not only a sterile explant, but also a morphogenically active one, that is, a plant that takes roots and subsequently regenerates *in vitro*. The best in terms of decontamination efficiency is the method of treatment with hypochlorite and the addition of PPM biocide to the nutri-

ent medium, but under these conditions, the lowest survival of explants in all samples was noted. The efficiency of introduction into aseptic culture at the first stage of micropropagation is also affected by the biological characteristics of the primary explants. In studies with nutrient media for *A. arguta*, it was found that of the elements of mineral nutrition, only 11 ions are necessary for life: five macro- (N, K, P, Mg, S) and six microelements (Cl, Fe, B, Mo, Na, I). Plants *in vitro* have a lower dry matter content and a greater amount of moisture, including free moisture, which is quickly lost when the water balance is disturbed. **Conclusions.** The ability to regenerate is more pronounced in the species *A. chinensis* and *A. deliciosa*, and to a lesser extent in *A. arguta*. For *A. chinensis*, the use of hydroponic technology for the adaptation of regenerants at the *ex vitro* stage is effective.

Keywords: meristem; primary explants; nutrient medium; morphogenesis; micropropagation.

Надійшла / Received 19.09.2022
Погоджено до друку / Accepted 06.10.2022