

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
СУМСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

**МАЦКЕВИЧ ВЯЧЕСЛАВ ВІКТОРОВИЧ**

УДК 606:581.143.6

**МІКРОКЛОНАЛЬНЕ РОЗМНОЖЕННЯ ВИДІВ РОСЛИН IN VITRO  
ТА ЇХ ПОСТАСЕПТИЧНА АДАПТАЦІЯ**

06.01.05 – селекція і насінництво

**АВТОРЕФЕРАТ**

дисертації на здобуття наукового ступеня  
доктора сільськогосподарських наук

Суми – 2020

Дисертацією є рукопис

Роботу виконано в Білоцерківському національному аграрному університеті МОН України впродовж 2005–2017 рр., а також ТОВ «Колосія» Закарпатської області в 2018–2019 рр. та ФГ "Беррі Фарм Юкрейн" Волинської області в 2019–2020 рр.

**Науковий консультант:** доктор сільськогосподарських наук, професор  
**ПОДГАСЦЬКИЙ Анатолій Адамович**,  
Сумський національний аграрний університет  
МОН України, завідувач кафедри біотехнології та  
фітофармакології

**Офіційні опоненти:** доктор сільськогосподарських наук, старший науковий  
співробітник **БАЛАШОВА Галина Станіславівна**,  
Інститут зрошуваного землеробства НААН України,  
завідувачка відділу біотехнології овочевих культур та  
картоплі

доктор сільськогосподарських наук, професор  
**РЯБОВОЛ Людмила Олегівна**, Уманський національний  
університет садівництва МОН України, завідувачка  
кафедри генетики, селекції рослин та біотехнології

доктор біологічних наук, професор **СКЛЯР Вікторія  
Григорівна**, Сумський національний аграрний  
університет МОН України, завідувачка кафедри екології  
та ботаніки

Захист відбудеться «26» січня 2021 р. о 10\_\_ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 55.859.03 при Сумському національному аграрному університеті МОН України за адресою: 40021, м. Суми, вул. Г. Кондратьєва, 160, тел. 0508708043, e-mail: d55.859.03.snau@ukr.net.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Сумського національного аграрного університету МОН України за адресою: м. Суми, вул. Г. Кондратьєва, 160

Автореферат розісланий «10» грудня

2020 р.

Вчений секретар спеціалізованої вченої ради



Г. О. Жатова

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Актуальність теми.** Тотипотентність рослинних клітин, тканин і органів обумовлює успішне застосування мікроклонального розмноження рослин. Однак на етапах введення в асептичні умови, мультиплікації, ризогенезу й постасептичної адаптації існують постійні фізіологічні й технологічні проблеми, що і вимагає системного аналізу цього технологічного процесу (Кушнір Г.П., Сарнацька В.В., 2005; George E.F., 1993.). Зокрема, на першому етапі, що передбачає відбір донорів та отримання стерильної культури, важливими є деконтамінація експлантів та застосування заходів, пов'язаних з адаптацією рослинних об'єктів до умов *in vitro*. На другому етапі – власне прискореного розмноження, щоб досягти максимально високих коефіцієнтів мультиплікації впродовж тривалого часу без втрат якостей матеріалу, що розмножується. Під час третього етапу – технологічно підготовлюють рослини *in vitro* для успішного розмноження *in vivo*. Четвертий етап передбачає пересадку рослин у ґрунт, використовуючи всі можливі способи підвищення адаптивної здатності рослин у постасептичний період. Потребують удосконалення прийоми переходу із мікогетеротрофних до автотрофних умов живлення та адаптації асептичного матеріалу до нативних умов.

Отже, актуальним є системне дослідження особливостей етапів мікроклонального розмноження біологічно різних, зокрема інтродукованих в Україну, видів рослин з подальшою розробкою насінницько-технологічного комплексу для їх успішного поширення.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** В основу дисертації покладено експериментальні дані науково-дослідної роботи автора, що виконувалась упродовж 2005–2016 рр. і була складовою частиною тематики досліджень кафедри лісівництва, ботаніки і фізіології рослин в 2013–2017 рр. «Удосконалення існуючих та розробка нових методів клонального мікророзмноження та постасептичної адаптації рослин *in vitro* (номер державної реєстрації 0199U000736), «Фізіологічні основи постасептичної адаптації деревних рослин» на 2017–2021 рр. (номер державної реєстрації 0117U004672), «Удосконалення існуючих та розробка нових технологічних прийомів мікроклонального розмноження горіхоплідних культур» на 2017–2021 рр. (номер державної реєстрації 0117U004673).

**Мета і завдання дослідження.** Метою роботи було визначення фізіолого-біохімічних, анатомо-морфологічних особливостей, які проявились у процесі культивування *in vitro*, та розроблення теоретико-експериментального обґрунтування оптимізації технологічного процесу культивування видів рослин *in vitro*, *ex vitro*.

Для реалізації поставленої мети заплановано вирішити **завдання** за етапами технологічного процесу, а саме:

Перший етап – на основі емпіричних досліджень розробити ефективні прийоми деконтамінації первинних експлантів з урахуванням вікових, анатомічних, видових

особливостей рослин та видового різномайття контамінуючої мікрофлори; обґрунтувати теоретичні основи первинного культивування та адаптації біологічних об'єктів до умов *in vitro*.

Другий етап – підібрати детермінанти для тривалої і стабільної мультиплікації видів рослин.

Третій етап – теоретико-експериментально обґрунтувати підходи гормональної та трофічної регуляції ризогенезу, розвитку вегетативної частини, запасуючих органів.

Четвертий етап – удосконалити наявні та розробити нові методи постасептичної адаптації.

Щоб вирішити вказані завдання застосовано наступні підходи:

1) *узагальнюючі* – через систематизацію результатів попередніх досліджень та власного експериментального матеріалу;

2) *наукові* – пізнання фізіології онтогенезу рослин *in vitro* за етапами мікроклонального розмноження та їх постасептичної адаптації;

3) *організаційні* – щодо застосування фітодетермінантів у біотехнологічному процесі та розроблення технологічних протоколів мультиплікації й адаптації рослин *in vitro*.

*Об'єкт дослідження* – технології мікроклонального розмноження і адаптації рослин *in vivo*.

*Предмет дослідження* – фізіолого-біохімічні, анатоמו-морфологічні особливості процесів у видах рослин, що відбуваються за мікроклонального розмноження та постасептичної адаптації з метою інтенсифікації насінницького процесу.

*Методи досліджень:*

- лабораторний – культивування рослин в асептичних умовах;
- вегетаційний – закладання дослідів у суворо контрольованих умовах з метою поглибленої оптимізації процесів адаптації;
- систематизація підходу в кількісній і якісній оцінці регенераційних, ростових та адаптаційних процесів рослин в асептичних і нативних умовах;
- фізіолого-технологічний – розроблення протоколів складових етапів біотехнологій мультиплікації і адаптації рослин *in vitro*;
- розрахунковий – визначення якісних та кількісних показників регенерації рослин для підвищення ефективності їх насінництва;
- математично-статистичний аналіз для обґрунтування кількісної оцінки отриманих експериментальних даних.

**Наукова новизна одержаних результатів** полягає у теоретичному обґрунтуванні та новому вирішенні актуальної проблеми: специфічності прояву інтегральних та кореляційних зв'язків між окремими органами рослин *in vivo*, *in vitro*, *ex vitro* через дослідження фізіолого-біохімічних, анатоמו-морфологічних особливостей на кожному з етапів мікроклонального розмноження численних,

систематично різноякісних ботанічних видів рослин, включаючи введення експлантів у асептичні умови, ювенілізації та онтогенетичної різноякісності рослин *in vitro*, детермінації онтогенезу регенерантів і постасептичної адаптації.

*Вперше в Україні:*

- з урахуванням біологічної специфічності культур, які вводились *in vitro*, розроблено методичні підходи застосування як деконтамінантів біоциду PPM – PlantPreservativeMixture™ (5-Chloro-2-methyl-3(2H)-isothiazolone 0,1350 % і 2-methyl-3(2H)-isothiazolone 0,0412 %) та Бланідас 300 (натрієва сіль дихлорціануронової кислоти 80,52 %);

- розроблено комплексний підхід деконтамінації регенерантів залежно від місця та типу контамінації, виду рослин, включаючи їх здатність протистояти некротизації тканин;

- відпрацьовано комплекс заходів коригування забезпеченості рослин *in vitro* регуляторами росту, включаючи їх наявність у донорів та специфічність реакції видів рослин на їх співвідношення;

- на підставі експериментальних даних вперше запропоновано гіпотезу про детермінуючий вплив на ювенілізацію різних типів живлення, включаючи гетеротрофне, рівня аерації, наявності в живильному середовищі гормонів;

- науково обґрунтовано підходи керування утворенням у регенерантів фенолоподібних речовин під час перших субкультивувань залежно від біологічних особливостей видів рослин, складу живильного середовища, використання пересадок, площі раневої поверхні, спеціальної підготовки експлантів;

- розроблено підходи для керування онтогенезом рослин *in vitro*, включаючи тривалість фотоперіоду, спектр світла, температурний режим, співвідношення регуляторів росту, забезпеченість речовинами для автотрофного живлення;

- підтверджено зв'язок ювенілізації рослин *in vitro* зі зміною прояву морфологічних ознак, зокрема фотосинтезуючих органів;

- досліджено процес гіпергідратації в рослин *in vitro*, створено модель причин її виникнення залежно від біологічних особливостей рослин та регулювання процесу зміною концентрації цитокінінів, етилену та кислотності живильного середовища;

- для окремих видів рослин апробовано використання, як гелеутворювачів, джерел автотрофного живлення картопляного крохмалю та картопляного екстракту замість агару, сахарози;

- для трьох культур: картоплі, хости і павловнії розроблено метод постасептичної адаптації шляхом введення рослин *in vitro* в стан спокою. У картоплі таким органом виявились мікробульби, включаючи одержані методом «культури одного вузла», а в павловнії це досягалось зниженням вологості з 70–75 % до 30–35 % і температури з 22–24 °C до 6–8 °C впродовж 60 діб;

- на прикладі фундука обґрунтовано застосування фотоавтотрофного методу мікроклонального розмноження;

- доведено ефективність заміни хелатної форми заліза в середовищі Мурасіге і Скуга на добриво Ferrilene 4.8 Orto – Orto, що в процесі вирощування ожини знизило частку хлоротичних, вітрифікованих рослин та збільшило кількість пагонів у конгломераті, а в сортів картоплі збільшило висоту рослин, довжину кореневої системи, прискорило початок утворення стolonів та бульб.

*Набули подальшого розвитку:*

- положення про соматональну мінливість експлантів, індуковану утворенням травматичного калюсу та екзогенними гормонами, що проявилось через зміну забарвлення листків, їх морфології;

- вплив на онтогенетичну різноякісність рослин *in vitro* павловнії, картоплі, хризантеми, гвоздики, хости походження живців. Перевагу мали регенеранти з апікальної, медіальної частини стебла, порівнюючи з базальною. Після 4–5 живцювання різниця експлантів від перших двох нівелювалась;

- положення про можливість зниження фітотоксичності цитокиніну БАП, через додавання в живильне середовище гібереліну (2,5 мг/л), що дозволило збільшити висоту регенерантів павловнії на 24 см, або в 1,6 раз, та знизити кількість вітрифікованих рослин на 52 %. У деревовидних видів: падуб, цитофортунелла оптимальним виявилось поєднання БАП та гібереліну по 2,5 мг/л.

**Практичне значення одержаних результатів.** Зроблено внесок у технології МКР 6 трав'янистих, 5 чагарникових та 12 деревних видів рослин, а для хости, агапантуса, туї західної, картоплі, малини, ожини, актинідії, аличі, сливи, персика та його підщеп, павловнії розроблені протоколи МКР та постасептичної адаптації.

Доведено перспективність використання гібереліну для обробки материнських рослин та пагонів рослин-донорів для виходу з глибокого спокою. Для хости, троянди, ожини, павловнії оптимальна концентрація розчину становить 0,01–0,1 %.

Виявлено, що краще приживлення експлантів актинідії, менш інтенсивне фенолоутворення відбувається влітку, а в павловнії – наприкінці грудня–початку січня.

Для захисту від внутрішнього контамінування рекомендовано додавати у живильне середовище термостабільні антибіотики: левоміцетин (250 мг/л), чи гентаміцин сульфат (160 мг/л). Кращим варіантом було їх поєднання (125 і 80 мг/л).

Зменшення фенолоутворення та покращення приживлення експлантів можна досягти їх зануренням у антиоксидантні розчини (перші 60 хв. аскорбінова кислота, 200 мг/л + цистеїн, 5 мг/л та наступні 60 хв. – розчин полівінілпіролідон, 10 г/л).

Доведено перевагу за приживленням експлантів агапантуса, висотою пагону та їх кількості в кущі використання рослин-донорів 90 – добового віку, проти 30 і 45 добового. У туї західної це стосувалось донорів-живців віком 60 діб, проти 20.

Максимальну кількість пагонів у конгломераті павловнії можна досягти за концентрації в середовищі БАП 1,5 мг/л, у розетці смородини – 1,0 мг/л препарату, а малини – 0,5 мг/л на фоні 0,25 мг/л ІМК.

Обґрунтовано вплив цитокінінів на бульбоутворення *in vitro* картоплі. Максимальний вихід мікробульб (162–171 % проти 71 % у контролі) спостерігався у варіантах з аденіном (20 або 25 мг/л) та поєднання аденіну (20 мг/л) з кінетином (1 мг/л) за культивування в темноті. На середовищі з 20 мг/л аденіну мала місце найнижча вітріфікація рослин: 1,1 % проти 1,4 в контролі.

Виявлено, що заміна в середовищі для регенерації хости ІОК (у межах 1-5 мг/л) на ІМК (1–5 мг/л) прискорила коренеутворення в крайніх варіантів сорту Патріот у 2,1–3,1 раза, а Паульс Глорі – 1,6–2,3. Зі зростанням концентрації ІМК збільшувалась довжина коренів за оптимальної у варіанті з концентрацією 4,0 мг/л, а також кількість коренів з найвищим проявом показника за концентрації 2,0 мг/л.

Розроблено положення про можливість заміни активованого вугілля на деревне, що позитивно вплинуло на збільшення довжини коренів у сорту хости Патріот з 14,3 до 37,3 мм, а в сорту Паульс Глорі, відповідно, з 7,7 до 38,9 мм, що не спостерігалось щодо кількості коренів, коли різниця між варіантами, залежно від концентрації ІМК, виявилась неістотною.

Виявлено вплив кислотності живильного середовища на онтогенез регенерантів. Підвищення її до рН 4,0 у смородини чорної спричиняло симптоми дефіциту магнію, фосфору та калію. За рН 7,0 на нижніх листках відмічено ознаки нестачі азоту, а на верхніх – заліза. У агапантуса рН 4,0 спричиняло вітріфікацію регенерантів за першого пасажу у 43 % регенерантів, а за третього – 92 %.

Матеріали дисертаційної роботи апробовано під час читання курсів «Фізіологія рослин», «Основи біотехнології рослин», у Білоцерківському національному аграрному університеті, а також впроваджено в навчальний процес інших навчальних закладів України.

Практичне значення і ефективність розробки протоколів удосконалення технологій мікроклонального розмноження знайшло підтвердження в Інституті біоенергетичних культур і цукрових буряків НААН України, Інституті картоплярства НААН України, Білоцерківському національному аграрному університеті, ТОВ «Колосія», Закарпатської області, ФГ «Ягідне МС» Вінницької області, ФГ Беррі Фарм Юкрейн Волинської області.

**Особистий внесок здобувача.** Дисертантом особисто розроблено концепцію, програму досліджень, сформульовано мету та основні завдання робіт. Самостійно виконано лабораторні, вегетаційні дослідження та проведено статистичну обробку одержаних експериментальних даних.

**Апробація результатів дисертації.** Основні положення дисертаційної роботи доповідали і обговорювали на: щорічно на засіданні кафедри лісового господарства та міжкафедральної лабораторії біотехнології рослин Білоцерківського національного аграрного університету та розширеному засіданні (2020); розширеному засіданні кафедри біотехнології та фітофармакології Сумського національного аграрного університету (2020); Научній конференції, посвяченній

35-летию со дня организации РУП «Институт защиты растений» НАН Беларуси (Минск, 2006); VI Державній науково-практичній конференції (Біла Церква, 2007); міжнародній науково-практичній конференції “Інноваційні агротехнології в умовах глобального потепління (Мелітополь–Кирилівка, 2009); III Всероссийской научно-практической конференции «Биотехнология, как инструмент сохранения биоразнообразия растительного мира» (Волгоград, 2010); III Международной Интернет-конференции «Инновационные фундаментальные и прикладные исследования в области химии сельскохозяйственному производству» (Орел, 2010); міжнародній науковій конференції, присвяченій 135-річчю заснування Херсонського державного аграрного університету «Онтогенез – стан, проблеми та перспективи вивчення рослин в культурних та природних ценозах» (Херсон, 2010); Державній науково-практичній конференції: “Новітні технології в рослинництві” (Біла Церква, 2012); науково-практичній конференції молодих учених, аспірантів і докторантів: “Наукові пошуки молоді у третьому тисячолітті” 16–17 травня 2013 р. (м. Біла Церква); Державній науково-практичній конференції “Аграрна наука – виробництво. Новітні технології у рослинництві” (Біла Церква, 2013); II Міжнародній науковій конференції «Актуальні проблеми озеленення населених місць: освіта, наука, виробництво, мистецтво формування ландшафту (Біла Церква, 2014); Державній науково-практичній конференції молодих учених, аспірантів та докторантів: «Новітні технології в рослинництві» (Біла Церква, 2015); міжнародній науково-практичній конференції молодих учених, аспірантів і докторантів «Наукові пошуки молоді у третьому тисячолітті» (Біла Церква, 2016); міжнародній науково-практичній конференції: "Досягнення та перспективи генетики, селекції і рослинництва зернових культур" (Миронівка, 2016); 81-ой научно-технической конференции профессорско-преподавательского состава, научных сотрудников и аспирантов: «Технология органических веществ» (Минск, 2017); международной научно-практической конференции “Dynamics of the development of word Science» 18–20 марта 2020. Wankuwer, Kanada; міжнародній науково-практичній конференції «Гончарівські читання». 25-26 травня 2020 р.

**Публікації.** Основні положення дисертації висвітлено в 59 публікаціях, з них: одна монографія, один підручник, 31 стаття, у тому числі 25 у фахових виданнях із сільськогосподарських наук України та шість закордонних; 22 – тез доповідей на наукових конференціях і з’їздах, два навчальні посібники, два – науково-практичні посібники.

**Обсяг і структура дисертації.** Дисертаційна робота містить анотацію українською та англійською мовами, зміст, перелік умовних позначень, вісім розділів, висновки, рекомендації для виробництва, список використаної літератури, який нараховує 344 посилання, в тому числі 84 латиницею, додатки. Дисертацію викладено на 478 сторінках машинописного тексту комп’ютерного набору, у тому числі 402 сторінках основного тексту. Вона ілюстрована 128 таблицями та 155 рисунками.



## ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

### БІОТЕХНОЛОГІЧНІ МЕТОДИ В НАСІННИЦТВІ РОСЛИН

#### (огляд наукової літератури)

Викладено особливості та перспективність використання біотехнологічних методів у насінництві, розсадництві рослин: оздоровлення насінневого матеріалу від найрізноманітнішої інфекції, значне підвищення коефіцієнта розмноження, можливість використання надзвичайно малих частин рослин для введення *in vitro*, відсутність сезонності у процесі вирощування рослин, регулювання швидкістю росту тощо.

У результаті досліджень встановлено численні і радикальні відмінності методів та техніки мікроклонального розмноження рослин залежно від їх біологічних особливостей.

Для окремих культур опрацьовано етапи МКР, однак вони часто апробовані на невеликій кількості зразків, не систематизовані, а в окремих випадках потребують кардинального покращення.

Незважаючи на дедалі ширше використання біотехнологічних методів для розмноження рослин, вони потребують: теоретичного узагальнення з метою використання його в процесі залучення в прискорене розмноження нових видів рослин (від конкретного до загального і навпаки), накопичення більшої кількості експериментальних висновків, розроблення специфічних технологій вирощування *in vitro* з урахуванням біологічних особливостей об'єктів дослідження, нових рішень, підходів у процесі МКР рослин, що вимагає реалізації.

### УМОВИ, МАТЕРІАЛ ТА МЕТОДИ ПРОВЕДЕННЯ ДОСЛІДЖЕНЬ

Дослідження виконували, починаючи з 2005 року згідно із загально прийнятими методиками. Змінювали їх за потреби випробувати нові складові процесу МКР. За контроль використовували середовище Мурасіге і Скуга, хоча і з деякими відмінностями для розмноження рослин та їх укорінення.

В експеримент залучали рослини, які належать до різних ботанічних та життєвих форм (табл. 1).

На першому етапі звільняли рослинний матеріал від контамінуючих мікроорганізмів, обробляючи їх водним розчином Твіну 80 (1:20) та деконтамінантом. У рослин, що мали схильність до отруєння фенольним ексудатом, додатково використовували антиоксидантні речовини: полівінілпіролідон, аскорбінову кислоту, цистеїн.

В окремих дослідах крім гіпохлориту натрію застосовували інші деконтамінанти: Бланідас 300 (0,7–1,0 г/100 автоклавованого дистилляту), Превікур Енерджі 840 SL – 300 г/л, Фундазол – 50 %, Світч (флудоксоніл – 250 г/л та ципродиніл – 375 г/л), Максим Форте 050 FS (флудоксонілу 25 г/л, тебуконазолу –

15 г/л, азоксистробіну – 10 г/л). В окремих випадках антисептики додавали в живильний розчин: AgNO<sub>3</sub>, левоміцитин, гентаміцину сульфат, PPM. Після оброблення фунгіцидами матеріал тричі промивали в автоклавованому дистилаті, а потім у ламінарній шафі замочували в розчині гіпохлориту натрію (комерційний препарат «Білизна Мілам» 1:20). На завершальному етапі стерилізації матеріал тричі промивали в автоклавованому дистилаті.

Таблиця 1 – Рослини, залучені в дослідження

Трав'янисті: гвоздика; кактус; картопля; міскантус; хоста агапантус.	Деревні: туя західна; ківі; падуб; фундук; вишня; слива; верба; павловнія; алича; персик та його підщепи; кизил; цитрофортунелла.
Чагарники: малина; троянда; ожина; смородина; хризантема.	

Для мультиплікації використовували поділ пагона на одно- двовузлові живці, а також поділ конгломерату на мікропагони. У першому випадку під впливом гормонів середовища досягали апікальне домінування, а в останньому – в середовищі з цитокінінами цей процес нівелювався.

Як індуктори ризогенезу використовували: екзогенні ауксини (ІОК, ІМК, НОК), активоване вугілля, зменшення вмісту мінеральних елементів у середовищі, вирощування вихідних рослин за умов, індукуючи ризогенез, регулюванням фотоперіоду.

Використовували фотоавтотрофне МКР у спеціальних контейнерах з інтенсивним освітленням (2,2–11,0 kLux) та підвищенням концентрації вуглекислого газу.

Використовували перлітові, вермикулітові та кокосові субстрати. Для мінерального живлення застосовували середовища Мурасіге і Скуга, Хогланда, розчин добрив фірми «Гілея», а для захисту від інфекції фунгіциди: Превікур Енерджі 840 SL, Світч, Фундазол.

Субстратом для постасептичної адаптації були: перліт, вермикуліт, сфагнумів торф, кокосовий субстрат, гідрогелі, а також гідропонну культуру.

Статистичний аналіз результатів досліджень проводили згідно з методами, викладеними у Б. А. Доспехова (1985) та П. Ф. Рокицького (1973).

## ВІДБІР ТА ВВЕДЕННЯ ЕКСПЛАНТІВ У АСЕПТИЧНІ УМОВИ

**Приживлення експлантів залежно від їх походження.** На першому етапі МКР слід враховувати походження експлантів, їх деконтамінацію, захист від інтоксикації фенолоподібними та іншими речовинами, отримання стабільних морфогенних структур на фоні біологічних особливостей рослинних об'єктів.

Перенесення експлантів *in vitro* супроводжувався стресом, який обумовлений специфічністю реакції різних експлантів у нові умови, втратою інтегральних та кореляційних зв'язків, які були у цілісному організмі, впливом деконтамінантів на обмін речовин у процесі культивування, а тому досліджували оптимальність виду експлантів залежно від біологічних особливостей предметів експерименту.

Для шипшини, сортів троянди найкращим типом експлантів виявився «зелений конус» – ізоляція бруньок під час їх розпускання. Порівняно з найближчим за розподілом варіантом, різниця становила 2,3; 1,4 і 1,2 рази. Виявлено позитивний вплив на вихід живих експлантів обробки материнських рослин хости, троянди та ожини гібереліном (0,1 г/л), або оброблення пагонів (1 мг/л). У представників роду актинідія кращим було використання апікальних частин пагона, ніж медіальних, а також весняний відбір, порівняно з літнім. У павловнії для введення в культуру кращим періодом був кінець грудня – початок січня, хоча можна пришвидшити процес пробудження, використовуючи гіберелін, краще ГКЗ.

Для виду *Thuja occidentalis* 'Smaragd' найменше морфогенних експлантів виділено з меристем – 42,7 %, що, вважаємо, пов'язано з їх малими розмірами, більшим травмуванням, меншим розміром життєво важливих структур, тоді як з пагону проростка утворилось 99,2 % експлантів. Через складність деконтамінації в агапантусу найкраще виділяти експланти з основи суцвіття.

**Деконтамінація.** Незважаючи на вологе прибирання з використанням антисептиків, оброблення лабораторії бактерицидними опромінювачами (8 год.), у повітрі знаходилась бактеріальна та грибна інфекція, хоча мінімум її було в ламінарній шафі.

Знищення глибинної інфекції, яка залишилась після використання гіпохлориту натрію та перманганату калію, можливе із застосуванням антибіотиків. Додавання в пробірки з контамінованими експлантатами сортів хости левоміцетину дало змогу за 15 діб знизити частку контамінованих рослин зі 100 до 49 %. Використання сульфату гентаміцину мало гірший ефект.

Досліджували вплив стерилізуючих речовин різної природи на ефективність деконтамінації експлантів сортів агапантусу. На фоні застосування гіпохлориту натрію, антибіотиків (левоміцетину, гентаміцину сульфат), експлантів з основи суцвіття агапантусу позитивно вплинуло на деконтамінацію. Водночас, позитивний ефект отримано за використання фунгіцидів, що пояснюємо переважаючою часткою саме грибною інфекцією (табл. 2). Інший вплив антибіотиків на деконтамінацію,

порівняно з хостою, виявлено в агапантусу, що пояснюється відмінностями в контамінуванні останнього.

Таблиця 2 – Вплив сумісного застосування із гіпохлоритом натрію антибіотиків та фунгіцидів на деконтамінацію експлантів (основа суцвіття) *Agapanthus* сортів Charlotte, Black magic

Тип експланта	Живих експлантів, %		Ефективність деконтамінації, %		Початок утворення адвентивних бруньок, діб		Утворилось регенерантів, %	
	Charlotte	Black magic	Charlotte	Black magic	Charlotte	Black magic	Charlotte	Black magic
Контроль	52,1	56,7	14,2	17,6	64,6	51,8	3,2	7,1
Левоміцитин - Дарниця (Chloramphenicol)	53,8	51,2	14,9	12,3	72,1	69,6	1,1	3,8
Гентаміцину сульфат - Дарниця	50,6	60,4	10,9	14,4	61,2	58,4	1,7	3,3
Фундазол*	62,1	67,3	15,3	19,6	71,0	67,6	1,9	5,5
Превікур Енерджи**	71,5	73,9	40,2	47,6	27,4	21,4	24,3	28,8
МАКСИМ ФОРТЕ	70,1	68,6	38,3	41,6	61,8	59,7	9,3	7,2
НІР <sub>05</sub>	3,3	4,0	1,6	2,8	-	-	2,6	0,9

Примітка: \* Беноміл 500 г/кг виробник: Агро-Кемі Кфт., Угорщина.

\*\* Превікур Енерджи 840 SL, в.р.к. – Bayer Garden \*\*\* 050 FS т.к.с. – Syngenta.

Доведено, що тривале вегетативне розмноження видів агапантусу збільшує контамінацію експлантів проти за першого квітання. Аналогічне стосувалось впливу виду експлантів на введення туї в умови *in vitro* (табл. 3.)

Таблиця 3 – Вплив виду експланта на ефективність введення *Thuja occidentalis* 'Smaragd' в асептичні умови

Тип експланта	Контаміновано, %	± до контролю
Меристема (контроль)	9,3	-
Стебловий живець	82,3	+73,0
Насіння	67,8	+58,5
Пагін проростка	7,2	- 2,1
НІР <sub>05</sub>	3,1	-

Позитивний вплив на зниження контамінування експлантів мала підготовка матеріалу. Видалення криючих лусок павловнії, на підщепі GF-667 дало змогу значно зменшити частку контамінованих експлантів (у 1,3–4,2 раза), а також тих, що мали фенольний ексудат (у 2,6–12,8 раза). У чотирьох сортів хости більша кількість стерильних експлантів за використання бруньок, порівнюючи з бутонами. Крім цього, у сорту Агалон виявлена соматональна мінливість.

Для сорту персика Щедрий за кількістю живих експлантів та часткою стерильних кращим деконтамінантом був Бланідас 300 проти АСД Ф-1 і, особливо, гіпохлорита натрію, відповідно: 96,1 та 64,2 %, 98,4 та 43,6 % і 33,7 та 4,9 %.

Виявлено особливості використання як додаткового деконтамінанта біоцида РРМ. Його концентрація 2 мл/л змінювала кількість живих експлантів та з рецидивами інфекції за культивування. Дуже близькі дані отримано щодо двох культур: ожини і фундука як частки живих експлантів, а також інфікованих за пересадки на середовище без РРМ.

Досліджено оптимальну концентрацію РРМ для ефективності деконтамінації експлантів різних видів рослин (табл. 4). Лише в трав'янистих: цміну італійського та міскантусу гігантського мав місце невеликий позитивний ефект за концентрації препарату 0,5 мл/л; вона була оптимальною для отримання стерильних експлантів та живих з умістом біоциду РРМ 2,0 мл/л. Для чагарникових та деревних концентрація становила 2,5 мл/л.

Таблиця 4 – Вплив концентрації РРМ на ефективність деконтамінації експлантів різних видів рослин на 20 добу культивування, %

Життєва форма	Вид рослини	Стан експланта	Концентрація РРМ у середовищі, мл/л						НІР <sub>05</sub>
			0,5	1,0	1,5	2,0	2,5	3,0	
Трав'янисті	Цмін італійський	стерильних	13	19	74	94	100	100	6
		живих	13	18	71	90	63	18	5
	Міскантус гігантський	стерильних	1	8	65	88	97	100	7
		живих	1	7	61	80	65	19	4
Чагарникові	Троянда, сорт Авеланж	стерильних	-	3	29	36	93	100	4
		живих	-	3	29	36	91	62	4
	Ожина, сорт Рубен	стерильних	-	2	23	27	84	94	7
		живих	-	1	23	26	81	57	6
Деревні	Вишня, сорт Облачинська	стерильних	-	2	8	39	96	100	5
		живих	-	2	7	36	90	64	4
	Фундук, сорт Барселонський	стерильних	-	-	1	24	87	92	8
		живих	-	-	1	20	68	52	6

Ще одна особливість використання препарату – необхідність повного занурення експланта в середовище з біоцидом РРМ. Лише в цьому разі можна позбутись інфекції. Ефективним виявилось застосування препарату для стерилізації верби, що значно перевищило використання як стерилізаторів хлорамфенікола та Превікур Енерджі 840 SL.

Оптимальним для введення *in vitro* кизилу виявилось також використання стерилізатором біоциду РРМ шляхом замочування впродовж доби, хоча позитивним також було застосування Бланідас 300.

Загалом на ефективність деконтамінації впливають: умови вирощування рослин-донорів, розміщення експлантів на материнській рослині, особливості контамінування типом інфекції та особливості контактних і системних деконтамінантів.

**Утворення регенерантами фенолоподібних речовин під час перших субкультивувань залежно від умов та виду рослин.** У туї за введення в асептичні умови найменша частка експлантів з фенолоподібними речовинами одержана з насіння, майже половина пробіркового матеріалу мала згадані ознаки за використання пагона проростка і максимальну кількість з меристеми та стеблового живця. В останніх з «п'яткою» утворилось 95,4 % регенерантів без фенолів, а без неї – 7,9 %. Маніпулювання прописом середовища дало змогу максимально мати рослини з корінням та пагонами завдяки включенню до його складу аденіну (замість кінетину) – 20 мл/л та аскорбінової кислоти – 15 мг/л.

Виявлено, що появі фенольних речовин можуть прияти відмираючі тканини експлантів, а також збільшення раневої поверхні. Близькі дані отримано в актинідії.

Доведено, що у фундука зниження контамінування та самоотруєння фенольними речовинами можна досягти заміною стерилізатора гіпохлорита натрію на Бланідас 300 або РРМ; оптимізацією стану експлантів (зменшення інтервалу пересадок); підбором експлантів за віком, формою; вирощуванням рослин-донорів в умовах закритого ґрунту та розсіяному світлі; оптимізацією вмісту гормонів; зменшенням площі раневої поверхні; застосуванням антиоксидантів та ювенілізацією рослин-донорів.

**Сомаклональна мінливість.** Регенерація рослин *in vitro* може відбуватись через прямий морфогенез, а також з ембріодів, які утворюються з калюса (рис. 1). В хости отримано унікальний сомаклон Na (рис. 2), а також павловнію з видозміненими міжвузлями.



Рисунок 1 – Калюсоутворення експлантах актинідії *in vitro*



на Рисунок 2 – Відмінності сомаклону хости сорту Агалон порівняно з вихідною рослиною: 1. Контроль 2. Сомаклон Na.

## ЮВЕНІЛІЗАЦІЯ IN VITRO

**Зміна форм фотосинтезуючих органів туї в умовах *in vitro* та *ex vitro*.** На кожному з етапів *in vivo* – *in vitro* – *ex vitro* – *in vivo* відбуваються зміни навколишнього середовища, вміст екзо- та ендогенних гормонів, співвідношення гетеротрофного та автотрофного живлення, а також набуття, або втрата ювенільності.

На прикладі вирощування *in vitro* туї західної встановлено, що лише ювенільний тип хвої дав змогу регенерувати рослини впродовж 11 і більше субкультивувань (табл. 5). Протилежний результат спостерігали в рослин з лускоподібною хвоєю. Викладене стосувалось не лише надземної частини рослин, а й коріння (рис. 3). За постасептичного вирощування ювенільна форма хвої втрачалась, що свідчить про можливість збереження такого стану рослин лише в умовах *in vitro*.

Таблиця 5 – Вплив форм хвої експлантів на тривалість мікроклонального розмноження туї західної

Форма хвої експлантів	Коефіцієнт розмноження субкультивування				Максимальна кількість субкультивувань, шт.
	перше	друге	третє	НІР <sub>05</sub>	
	Ювенільна	7,8	15,1	14,7	
Лусковидна	4,1	3,2	0,5	0,3	4-5
НІР <sub>05</sub>	0,3	0,4	0,3	-	

Примітка: \* з 2006 до 2018 рр. без втрат регенераційної здатності

На прикладі картоплі доведено вплив на появу ювенілізації гетеротрофного живлення. Аналогічне підтверджено в дослідях з гвоздиком. Під час проростання бульб спочатку з'являються прості листки – ювенільні, які з часом перетворюються на складні. Аналогічне відбувається під час проростання ботанічного насіння картоплі.



Регенерант з ювенільною та лускоподібною хвоєю



Регенерант з ювенільною хвоєю

Рисунок 3 – Види регенерантів *Thuja occidentalis* 'Smaragd' за типом хвої

У процесі субкультивування, незалежно чи отримано регенерант з меристеми, чи живця, листок в умовах *in vitro* залишається простим, що підтверджує ювенільний стан рослини. Доведено, що місткість культуральної посудини на прояв ювенільності не впливала, тому що не змінювався гетеротрофний тип живлення.

Водночас, виявлено вплив концентрації сахарози на площу листків регенерантів (табл. 6). Вважаємо, за першого пасажування у варіанті з відсутністю сахарози індукувався активний ріст листків живця утворених ще на материнській рослині та автотрофному живленню, а надалі з'явилася потреба в сахарозі. Аналогічне стосувалось розвитку кореневої системи.

Вплив аерації та особливості живлення пробіркових рослин картоплі на ювенілізацію рослин підтверджували дані рисунка 4. Дещо інше стосувалось бульбоутворення картоплі *in vitro* залежно від концентрації сахарози. Збільшення її стимулювало як кількості бульб, які зав'язались у перерахунку на рослину, так і їх масу що підтвердило позитивний вплив на процес автотрофного живлення рослин.

На прикладі хости встановлено негативний вплив збільшення концентрації сахарози на формування литкового апарату: кількість листків зростала, однак вони були менші за розміром, проти контролю – без сахарози, а також зменшилась інтенсивність забарвлення. Аналогічне спостерігали за зниження вмісту елементів живлення в середовищі Мурасіге і Скуга вдвічі. Зниження, або підвищення вмісту у середовищі агару (0,5 і 0,9 %) також спричиняло подібні явища.

Таблиця 6 – Вплив екзогенної сахарози на розвиток пагона картоплі *in vitro*

Кількість сахарози, %	Площа листків, мм <sup>2</sup>			Висота пагона, мм		
	1*	2	3	1	2	3
сорт Подолянка						
0	380±3,5	238±2,2	103±5,2	126±1,8	93±1,7	61±3,1
3	331±2,1	340±2,4	322±7,9	139±2	131±2,2	143±1,6
6	142±2,7	80±2,5	65±2,2	132±2,6	128±2	106±2,1
9	39±1,2	28±1,1	23±2	88±1,7	63±1,7	48±2
сорт Слов'янка						
0	413±6,8	251±3,9	121±2,4	135±2,4	92±2	74±1,9
3	337±3,3	332±4,9	341±2,8	168±7	176±2,3	165±3
6	154±4,1	93±2,65	77±1,1	142±2,4	110±2,8	104±2,1
9	68±4,3	37±1,6	18±1,2	103±2,4	71±2,1	53±1,7

Примітка: \*1, 2, 3 пасажування (субкультивування)



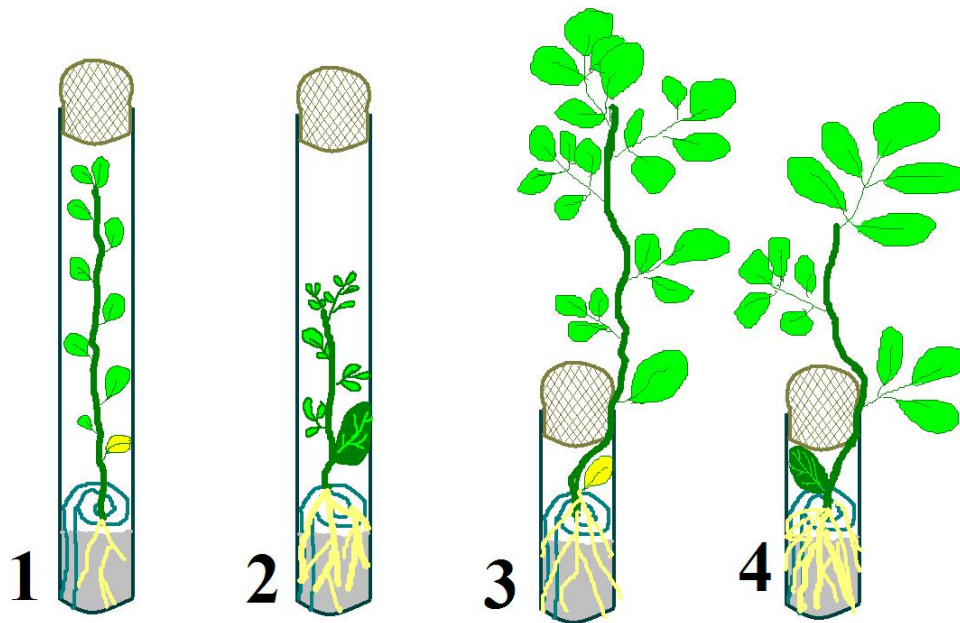


Рисунок 4 – Вплив аерації повітря та способів живлення на формування листків картоплі: 1 – у закритій пробірці з сахарозою (*in vitro*) – мікотрофне живлення; 2 – в закритій пробірці без сахарози (*in vitro*) – фотоавтотрофне живлення; 3 – пагін з вільним доступом повітря, коренева система *in vitro* в середовищі з сахарозою – мікотрофне живлення; 4 – пагін з вільним доступом повітря, коренева система *in vitro* у середовищі без сахарози – фотоавтотрофне живлення.

Відмічено, що введення маточних рослин у стан спокою впливає на потовщення пагона у прикореневій зоні, а також за виходу з цього стану з формуванням не звичайних, а «пробивних» листків.

### РІЗНОЯКІСНІСТЬ РОСЛИН *IN VITRO*

**Онтогенетична різноякісність рослин *in vitro*.** Як складна система рослинний організм характеризується фізіологічною відмінністю його частин. У павловнії це спостерігалось навіть у межах одного вузла. На прикладі культивування рослин картоплі *in vitro* встановлено, що з регенерантів верхівкової частини рослин утворювались більш потужні рослини, хоча вже під час другого субкультивування мала місце відмінність за ростом рослин залежно від місця живця на рослині (рис. 5).

Проведення дослідів методом накладання дало змогу встановити, що з кожним наступним субкультивуванням ріст і розвиток живців базальної частини рослин уповільнювався, а під час 8–10 пасажу у регенерантів була майже відсутня коренева система, стебло коротке з 4–5 міжвузлями. Аналогічне викладеному спостерігали після висадки пробіркових рослин у закритий ґрунт.

Встановлену залежність підтверджено за культивування хризантеми, гвоздики. На 30 добу після живцювання різниця у висоті пробіркових рослин хризантеми у верхівкових живців та базальних становила 2,4 раза, а в гвоздики – 1,8. За

наступних живцювань методом накладання рослини з базальних живців впродовж усіх субкультивувань зберігали найнижчу регенераційну здатність. На десяте живцювання їх висота у хризантеми становила 48 мм, або в 1,6 раза менше, ніж за першого субкультивування, а гвоздики – 43 мм, або в 1,3 раза. У рослин від медіальних живців висота істотно не змінювалась, проти першого живцювання. Регенеранти з верхівок за співставлення з першим живцюванням відрізнялись істотним зниженням висоти: у гвоздики вже після четвертого живцювання – зі 117 до 66 мм, а в хризантеми після шостого живцювання – зі 189 до 79 мм. Аналогічне в обох видів рослин спостерігали щодо розвитку кореневої системи. Причиною цього може бути недостатня кількість ауксинів, які синтезуються у верхівках невеликих за розміром пагонів та повільно пересуваються базипетально.



Рисунок 5 – Відмінності в розвитку регенерантів картоплі залежно від походження живців (друге субкультивування), сорт Слов'янка:  
 I А – живець з верхівки рослини, I В – регенерант з верхівкового живця (I А);  
 II А – живець з середньої зони стебла, II В – регенерант з живця II А;  
 III А – живець з базальної зони стебла, III В – регенерант з живця III А.

Інші відхилення залежно від походження експлантів відмічені в представників родини *Cactaceae*. В обох видів максимальний калюсогенез спостерігали в експлантів з базальної частини рослин (табл. 7).

Таблиця 7 – Вплив різних за розміщенням на материнській рослині експлантів на розвиток регенерантів (1 мг/л БАП та 1 мг/л ІМК)

Походження експлантів	Калюсогенез, %	Морфогенез, %	
		повільний*	швидкий
<i>Astrophytum myriostigma v. Monstrosa cv. "Lotus Land"</i>			
апикальні	1	26	73
медіальні	6	38	54
базальні	21	42	37
НІР <sub>05</sub>	2	4	3
<i>Sclerocactus spinosior ssp. Blainei "schleseri"</i>			
апикальні	4	-	96
медіальні	14	9	77
базальні	67	31	2
НІР <sub>05</sub>	4	-	3

Примітка: \*повільний морфогенез – тривалість формування бруньок понад одного місяця

Основною причиною асинхронного розвитку регенерантів є порушення в розміщенні ендогенних гормонів у межах материнської рослини. Ця асинхронність є однією з проблем, яку необхідно усунути для успішного промислового МКР цих та інших видів рослин. Такі відмінності в регенераційному потенціалі різних за походженням живців пояснюються тим, що ріст і розвиток тканин, окремих органів і частин рослини перебувають у взаємно обумовлених зв'язках. Кореляції обумовлені взаємовпливом за участі гормонів одних частин рослин на інші, які нерідко досить віддалені.

Різний гормональний статус живців обумовлений нерівномірним розподілом ауксинів і цитокінінів під час поділу пагона вихідної рослини-донора. Верхівка має багато ауксинів і мало цитокінінів, а живець з базальної частини, навпаки, містить у надлишку цитокініни. Викладене підтвердилось результатами дослідження (табл. 8).

Таблиця 8 – Розвиток регенерантів хости на 30 добу культивування залежно від походження експлантів та концентрації БАП (сорт Гіацінтіана)

Тип живців	БАП, мг/л	Висота рослин, мм		Довжина кореневої системи, мм		Коефіцієнт розмноження		Вітріфікованих, %	
		Кількість субкультивувань							
		1	10	1	10	1	10	1	10
апикальні	1	74±5	56±4	61±4	24±5	4,8±0,4	2,3±0,4	0	2,0±0,6
	2,5	63±4	41±5	58±7	7±3	2,2±0,2	1,4±0,3	0,3±0,2	15±2
медіальні	1	51±4	53±3	36±4	33±5	4,6±0,5	4,5±0,4	3,0±0,3	2,8±0,4
	2,5	44±5	31±6	21±3	3,0±0,5	4,9±0,6	1,1±0,4	5,0±0,7	39±7
базальні	1	37±3	18±4	11±2	0	1,4±0,3	0,8±0,4	2,0±0,5	78±6
	2,5	23±4	12±3	0,4±0,2	0	0,9±0,4	0,3±0,2	11±3	93±7

**Вплив способів живцювання та кількості субкультивувань на регенерацію рослин хости з експлантів.**

Складність розмноження хости біотехнологічним методом полягає в утворенні маточної рослини, для чого потрібно 2–3 місяці. Запропоновано два методи зняття апікального домінування: укорочення листків та розрізання денця. Особливо перспективним виявився останній (табл. 9). Водночас, виявлений специфічний вплив на процес біологічних особливостей сортів. Щодо строків культивування різниця між контролем і поділом денця у них становила 4,0–5,2 рази, а коефіцієнта розмноження – 0,0–1,2 рази. Виявлено, що зі збільшенням субкультивувань зменшувався період живцювання поділом денця. Це обумовлено стабілізацією обміну речовин у рослинних організмів до умов *in vitro*.

**Вплив віку рослин-донорів на органогенез та приживлення експлантів.**

Експериментально доведено, що використання рослин-донорів анапантусу з 90 добовим вирощуванням, проти 30 добового, дало змогу збільшити приживлення рослин у закритому ґрунті в 3,2–3,6 рази залежно від сорту, збільшити висоту пагона в 4,0–5,1 рази, а кількість пагонів у кущі – 2,9–3,0 рази, що дало змогу отримати продукцію вищої якості.

Таблиця 9 – Вплив способів зняття апікального домінування на МКР хости

Варіант	Сорт					
	Гіацинтіана		Паульс Глорі		Патріот	
	Період культивування, діб	Коефіцієнт розмноження	Період культивування, діб	Коефіцієнт розмноження	Період культивування, діб	Коефіцієнт розмноження
Контроль	120	4,2	97	4,9	79	4,3
Вкорочення листків	103	4,0	84	4,4	81	4,2
Поділ денця	23	4,7	21	4,9	20	5,1
НІР <sub>05</sub>	8	0,2	5	0,3	6	0,2

Результати послідовних субкультивувань методом накладання живців туї західної віком 20 і 60 діб засвідчили перевагу останнього варіанту, де не лише надземна частина рослин характеризувалась добрим розвитком, а й утворювалась потужна коренева система, що зумовлено віковими змінами у материнських рослин та співвідношенням гормонів у сторону збільшення ауксинів.

**ДЕТЕРМІНАЦІЯ ОНТОГЕНЕЗУ РЕГЕНЕРАНТІВ У ПРОЦЕСІ МКР**

**Синергізм трофічних та фізичних детермінант за МКР.** Особливість використання біотехнологічного методу у насінництві рослин у наявності в пробірковій культурі іншого прояву детермінантів, які регулюють життєві процеси.

На етапі мультиплікації *in vitro* павловнії встановили вплив на висоту центрального пагона і кількість мікропагонів у конгломераті температури. У

середовище додавали 1,0 мг/л БАП. Оптимальною для росту рослин виявилась температура +24 °С, а для утворення мікропагонів – 26–28 °С. Навпаки, за температури +10 °С регенеранти зупиняють елонгацію пагона та індукують перехід його у стан спокою.

Завдяки тому, що рослини картоплі підтримуються *in vitro* без індукуючих чинників змін розвитку, вони можуть знаходитись у ювенільному стані більше 10 років. Чинниками, що негативно впливають на проходження онтогенезу картоплі *in vitro* можуть бути: високі концентрації сахарози (6–8 %), цитокинінів, понижені позитивні температури (+4 °С), відсутність світла та різні хімічні речовини.

У досліді позитивно вплинули на бульбоутворення в рослин картоплі *in vitro* хлорхолінхлорид та термоіндукція (табл. 10). Виявлено також синергічну сумісну дію чинників.

Таблиця 10 – Вплив хлорохолінхлориду та термоіндукції на бульбоутворення в рослин картоплі в умовах *in vitro*

Варіант	Сорт Подолянка		Сорт Забава	
	Отримано мікробульб		Отримано мікробульб	
	всього, шт.	кондиційних*, %	всього, шт.	кондиційних, %
Контроль	112,3	89,7	124,7	93,1
Термоіндукція	117,4	94,9	121,3	96,4
Хлорхолінхлорид	97,3	64,1	102,4	65,9
Термоіндукція + хлорхолінхлорид	104,1	61,0	94,8	67,4
НІР <sub>05</sub>	3,9		4,2	

Примітка: \*кондиційних – з діаметром 8 мм і більше

Значною ефективністю характеризувалась так звана «культура одного вузла», коли у живців зав'язуються бульби без утворення стебла. Для цього необхідний високий уміст у середовищі сахарози (6–8 %), цитокинінів та інкубація живців в умовах понижених позитивних температур (табл. 11). У цьому досліді ефект від використання хлорхолінхлориду підвищувався в результаті поєднання з «культурою одного вузла». Водночас, слід відмітити специфічну реакцію залучених у дослідження сортів на чинники бульбоутворення.

Таблиця 11 – Вплив хлорхолінхлориду та термоіндукції («культура одного вузла») на бульбоутворення в рослин картоплі в умовах *in vitro*

Варіант	Сорт Подолянка		Сорт Забава	
	отримано мікробульб		отримано мікробульб	
	всього, шт.	% кондиційних	всього, шт.	% кондиційних
Контроль	112,3	89,7	124,7	93,1
«Культура одного вузла»	149,1	98,3	165,5	97,0
Хлорхолінхлорид	97,3	64,1	102,4	65,9
«Культура одного вузла» + хлорхолінхлорид	124,1	81,0	137,4	88,1
НІР <sub>05</sub>	3,6		3,9	

Доведено, що детермінація онтогенезу може регулюватись тривалістю освітлення. В експерименті з міскантусом на 50 добу культивування використання цілодобового освітлення, проти з 8 годинного сприяло збільшенню висоти рослин в 1,6 раза, довжини кореневої в 5,5, однак обумовило зменшення кількості пагонів у 2,4 раза, а також приживлення рослин в 1,1 раза.

Збільшення фотоперіоду в дослідженнях з двома видами кактусів прискорювало індукцію калюсогенезу і, навпаки, скорочення тривалості освітлення стимулювало утворення точок росту, які надалі легко відділялись.

Аналогічне викладеному стосувалось вирощування *in vitro* павловнії. Особливо сприяло збільшенню висоти регенерантів використання 16 годинного фотоперіоду з відсутністю світла в кожному сьому добу (варіант 16+). Дещо менший позитивний вплив цього варіанта мав місце щодо кількості вузлів на одному пагоні.

Крім тривалості фотоперіоду, на ріст та розвиток пробіркових рослин впливала якість світла. У досліді з сортом картоплі Подолянка на 15 добу культивування висота рослин за використання ламп ЛБ 36, проти Промінь 30 (енергозберігаючі) виявилась істотно меншою: 12,3 см проти 14,4, однак протилежне спостерігалось щодо кількості міжвузлів на стеблі (6,7 проти 5,2 шт.). Аналогічне спостерігали за використання різних типів ламп *ex vitro* за висотою рослин 16,3 та 18,8 см, а кількістю міжвузлів – 7,3 і 5,6. Отже, залежно від поставленої мети: прискорення розвитку, чи отримання регенерантів з більшими розмірами слід використовувати лампи ЛБ 36 або Промінь 30.

У досліді з павловнією визначали вплив спектра світла на ріст та розвиток регенерантів. Максимальну висоту мали рослини *in vitro* в результаті використання білого світла (60,5 см). Комбінування червоних та синіх світлодіодів (1+1) найбільш негативно позначилось на висоті рослин, яка становила лише 39,8 см. Інше їх комбінування (4+2) більш позитивно вплинуло на прояв показника з його величиною 45,9 см.

Майже протилежне спостерігали щодо кількості мікропагонів у конгломераті. Мінімальне їх число в перерахунку на рослину було за використання білого світла – 2,7 шт., а найбільше у варіанті 1+1 – 3,3 шт.

**Фітогормональна детермінація.** Оптимальною концентрацією БАП для швидкого росту регенерантів ожини виявилась 0,5 мг/л, хоча максимальне число пагонів у розетці обумовила концентрація 1,0 мг/л (табл. 12). У цьому варіанті також виявлені вітрифіковані рослини, однак у невеликій кількості.

Встановлено біологічну особливість видів смородини за реакцією на цитокініни. Лише в *Ribes nigrum L.* максимальну висоту регенерантів виявлено за концентрації БАП 0,5 мг/л, а в інших двох це мало місце на середовищі без цитокінінів. Водночас, згадана концентрація обумовила появу вітрифікованих рослин у виду *Ribes Grossularia L.*, чого не спостерігали в інших двох.

Таблиця 12 – Реакція рослин на екзогенний цитокінін залежно від виду рослини  
(вік донорських рослин 45 діб)

Культура	Концентрація БАП, мг/л	Висота регенерантів, мм	Кількість пагонів у розетці, шт.	Вітрифікованих рослин, %
<i>Rubus fruticosus L.</i>	0	67,9 ±4,3	1,0 ±0,1	0
	0,5	75,3 ±2,6	1,4 ±0,2	0
	1,0	56,7 ±3,8	5,2 ±0,4	3 ±0,6
	2,0	43,1 ±2,4	3,8 ±0,2	28 ±0,9
<i>Ribes nigrum L.</i>	0	82,3 ±4,9	1,0 ±0,2	0
	0,5	87,7 ±5,1	1,1 ±0,3	0
	1,0	64,0 ±4,2	4,1 ±0,3	1 ±0,2
	2,0	52,7 ±3,8	3,1 ±0,5	16 ±0,7
<i>Ribes rubrum L.</i>	0	71,07 ±3,1	2,7 ±0,1	0
	0,5	52,4 ±4,0	4,9 ±0,4	0
	1,0	46,8 ±4,7	5,7 ±0,6	9 ±0,5
	2,0	32,1 ±3,9	1,2 ±0,3	40 ±0,5
<i>Ribes Grossularia L.</i>	0	64,3 ±3,5	1,1 ±0,2	0
	0,5	56,1 ±3,1	4,7 ±0,4	2 ±0,4
	1,0	48,7 ±3,7	2,1 ±0,3	47 ±1,7
	2,0	25,1 ±2,8	1,8 ±0,3	69 ±3,8

Доведено вплив віку рослини-донора на реакцію регенерантів *Rubus fruticosus L.* та *Ribes Grossularia L.* щодо надлишкової концентрації екзогенного цитокініну (2,0 мг/л). Використання материнської рослини віком 15 діб в останнього виду обумовило 98 % вітрифікованих регенерантів, хоча у 60-добових це становило 27 %.

Результати дослідження впливу концентрації БАП на регенерацію верби на 30 добу культивування свідчать, що для росту регенерантів, розвитку кореневої системи оптимальним виявився варіант з 0,1 мг/л препарату, однак за коефіцієнтом розмноження, часткою вітрифікованих рослин такою концентрацією була 0,2 мг/л (табл. 13). Уміст у середовищі препарату більше 0,5 мг/л різко збільшував частку вітрифікованих рослин. Особливо це стосувалось сорту Інгер.

Таблиця 13 – Вплив концентрації БАП на регенерацію рослин верби на 30 добу культивування

Концентрація, мг/л	Висота регенерантів, мм		Довжина коренів, мм		Коефіцієнт розмноження		Гіпергідратованих рослин, %	
	Інгер	прут.	Інгер	прут.	Інгер	прут.	Інгер	прут.
-	105	49	183	27	3,3	2,8	2	1
0,1	121	50	185	23	5,6	3,1	3	2
0,2	104	41	172	11	6,2	4,4	2	2
0,3	58	36	13	3	3,2	2,9	6	3
0,5	51	19	4	-	2,7	1,8	63	19
1,0	42	20	-	-	1,1	0,6	91	26
2,0	43	11	-	-	0,6	0,3	95	72
НІР <sub>05</sub>	7	9	-	-	0,3	0,4	8	5

Примітка: \* скороченню «Інгер» відповідає сорт Інгер *Salix triandra x viminalis*; «прут.» – природна форма верби прутовидної *Salix viminalis*.

Детермінантний вплив цитокінінів залежав від кількості хелатного заліза в середовищі. Враховуючи результати експериментів для сорту верби енергетичної Інгер рекомендовано збільшити вмість Fe-хелату в 1,5 раза проти стандартного пропису Мурасіге і Скуга, кількість БАП – 1,2 мг/л та додавати 1 мг/л AgNO<sub>3</sub>.

Для павловнії за кількістю пагонів у конгломераті виділились концентрації БАП 1,0 і 1,5 мг/л, однак з умістом 2,0 мг/л вищі результати одержані з кінетином. Використання останнього також зменшило частку вітрифікованих регенерантів – у межах 1,8–7,5 раз.

Найбільше мікропагонів у конгломераті павловнії виявлено за використання білого світла та концентрації БАП 1,5 мг/л. Використання інших концентрацій цього препарату та кінетину позитивно вплинуло на прояв показника за освітлення червоними та синіми світлодіодами 1+1. У всіх варіантах з цитокінінами висота пагона була максимальною за використання білого світла. Водночас, порівняно з комбінуванням світло діодів у варіанті з білим світлом виявлена найбільша частка вітрифікованих регенерантів (до 15,3 % проти 3,3).

Виявлено вплив фітотоксичності цитокінінів на прояв основних показників регенерантів павловнії залежно від кислотності середовища (табл. 14). рН 5,2–5,4 обумовило велику частку вітрифікованих регенерантів, особливо за п'ятого пасажу. Використання кінетину в концентрації 1,5 мг/л обумовило меншу величину показника, ніж БАП 1,0. Водночас, майже незалежно від форми цитокінінів за першого пасажу в цьому варіанті утворювалось найбільше мікропагонів, однак за п'ятого їх кількість зменшилась у 2,2 та 2,9 раза, відповідно. За згаданої кислотності виявлено проблеми із засвоєнням фосфору та калію.

Для висоти регенерантів, кількості мікропагонів у конгломераті найкращим виявилось слабкокисле середовище – рН 5,6–5,8. Крім цього, незначною мірою на прояв показників впливало зростання субкультувань. Підвищення кислотності середовища вплинуло на зменшення частки вітрифікованих регенерантів. Це стосувалось також висоти рослин.

Таблиця 14 – Прояв фітотоксичності цитокінінів у павловнії за різної кислотності живильного середовища (штучне біле світло)

рН	Гормон	Вітрифікованих регенерантів, %		Висота регенерантів, мм		Кількість мікропагонів, шт.	
		кінетин, 1,5 мг/л	БАП, 1,0 мг/л	кінетин, 1,5 мг/л	БАП, 1,0 мг/л	кінетин, 1,5 мг/л	БАП, 1,0 мг/л
5,2-5,4	1 пасаж	6,9	46,7	41,6	39,3	2,9	3,2
	5 пасаж	74,3	91,5	31,6	22,6	1,3	1,1
5,6-5,8	1 пасаж	5,6	7,8	68,1	61,2	2,5	2,8
	5 пасаж	12,3	15,3	64,1	57,0	2,3	2,2
6,5-7,0	1 пасаж	1,9	4,1	49,3	46,7	2,1	2,2
	5 пасаж	0,9	3,9	44,6	40,6	2,1	2,0
7,3-7,5	1 пасаж	0,8	3,4	11,4	5,4	1,3	1,3
	5 пасаж	0,4	2,7	10,4	4,2	1,1	1,0



Найкращі умови для росту регенерантів, кількості мікропагонів у конгломераті павловнії виявлено за комбінування кінетин 0,8 мг/л + БАП 2,0 мг/л. У цьому варіанті також малою була частка вітрифікованих рослин.

Майже не виявлено впливу біологічних особливостей сортів ківі за висотою рослин, шириною листка, величиною коефіцієнта розмноження та кількістю вітрифікованих регенерантів під впливом різних цитокінінів. Максимальна висота рослин була у варіанті з використанням КТ-30 (похідний феніл сечовини з цитокініновим ефектом) у сортів Фаворит і Аурум Карпат Стратона. У двох інших отримано близькі дані. Найбільшою у цьому варіанті також виявилась ширина листка. Величина коефіцієнта розмноження знаходилась у сортів у межах 2,7–3,3 і була найбільшою за використання БАП. Водночас, у цьому варіанті також мала місце максимальна частка вітрифікованих рослин – 65–98 %, проти 2–7 % у контролі.

За п'ятого пасажу найбільшу величину коефіцієнта розмноження ківі для обох сортів, які залучали у дослідження: Ківі Карпат Стратона Валентайн і Фаворит виявлено на середовищі з поєднанням двох форм цитокінінів – БАП 0,25 мг/л + кінетин 0,5 мг/л. Порівняно низькою у цьому варіанті також виявилась частка вітрифікованих регенерантів (9–13 % проти 89–96 % на середовищі з БАП 0,5 мг/л).

Серед гіберелінів: ГК<sub>3</sub> і ГК<sub>4/7</sub> перший більшою мірою впливав на висоту рослин павловнії, майже не сприяв утворенню вітрифікованих регенерантів, однак кількість мікропагонів у конгломераті була найбільшою на середовищі з останнім.

Досліджували вплив гіберелінів на зниження фітотоксичності інших гормонів на прикладі трьох видів деревних рослин: *Ilex aquifolium*, *Ilex meserrveae*, *Citrofortunella microcarpa*. Це стосувалось основних показників: висоти регенерантів, довжини найбільшого листка, приживання експлантів (табл. 15).

Таблиця 15 – Вплив гібереліну (2,5 мг/л) на ріст та розвиток регенерантів, 30 добу культивування

Ботанічний вид рослини	Висота регенеранту, мм		Довжина найбільшого листка, мм		Приживання експлантів, %	
	БАП *	ГК**	БАП *	ГК**	БАП *	ГК**
<i>Ilex aquifolium Silver Queen</i>	27	35	7	16	8	74
<i>Ilex meserrveae Blue Angel</i>	18	29	12	19	13	77
<i>Citrofortunella microcarpa</i>	7	21	14	31	56	89

Примітка: \* концентрація БАП – 2,5 мг/л; ГК\*\* – БАП 2,5 мг/л + гіберелін

Найкращу реакцію нейтралізації БАП на висоту рослин мало застосування гібереліну у виду *Citrofortunella microcarpa* з різницею у 3 рази. Навпаки, щодо приживання експлантів у згаданого виду виявлений найнижчий вплив на прояв показника – 1,6 раза, проти 9,3 у виду *Ilex aquifolium Silver Queen*. Значний нейтралізуючий вплив гібереліну на дію БАП мав місце за довжиною найбільшого листка. У цьому разі різниця між видами рослин знаходилась у межах 1,6–2,3 рази.

Дещо нижчий ефект від компенсаторної дії гібереліну на використання БАП встановлено у ківі. Наприклад, за величиною коефіцієнта розмноження різниця з контролем у сорту Ківі Карпат Стратона Валентайн за п'ятого пасажу становила 7,7 %, сорту Фаворит – 2,9.

**Вплив цитокініну, етилену та кислотності живильного середовища на гіпергідратацію регенерантів.** Узагальнюючи дослідження, проведені з трьома ягідними культурами: ожина, малина і смородина, змоделювали технологічний процес, що сприяв гіпергідратації рослин *in vitro*. Він обумовлений: 1) живцюванням надто молодих живців рослин донорів (15-20 діб); 2) застосуванням високої концентрації цитокініну БАП (2 мг/л для ожини і смородини червоної та 4 мг/л для малин); 3) надлишком азоту: вміст  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  у середовищі збільшено в 2,5 раза порівняно із прописом MS; 4) збільшенням у три рази вмісту хелатної форми заліза; 5. культивуванням на кислому середовищі (рН 5,0); 6) загущена проти контролю, вдвічі, посадка живців.

Найбільше отруєння етиленом спостерігали в рослин яблуні. Зменшення негативного впливу цього чинника можна досягти використанням запропонованого середовища з нітратом срібла (3 мг/л), а також цілодобовим освітленням. Останнє особливо стосувалось використання регенерантів з невеликим віком (14 діб проти 28).

Результати дослідження свідчать, що за бульбоутворення картоплі *in vitro* кінетин (1 мг/л) можна замінити аденіном (20–25 мг/л), проте найбільший вихід мікробульб виявлено у варіанті з поєднанням препаратів та культивування у темряві (табл. 16). Використання аденіну (20 або 25 г/л) з кінетином за вирощування за звичайним фотоперіодом спричинило значне зростання кількості вітрифікованих рослин і різке зменшення висоти рослин.

Таблиця 16 – Вплив концентрації аденіну на бульбоутворення *in vitro* рослин картоплі, сорт Подолянка

Варіант	Висота рослин, мм	Кількість вітрифікованих рослин, %	Вихід мікробульб, %
Без кінетину та аденіну (контроль)	188	1,4	75
Аденін 1 мг/л	173	2,2	81
Кінетин 1 мг/л	164	2,9	96
Аденін 1 мг/л + кінетин 1 мг/л	176	2,7	103
Аденін 20 мг/л	175	1,1	165
Аденін 25 мг/л	156	3,4	162
Аденін 20 мг/л + кінетин 1 мг/л	58	25,7	64
Аденін 20 мг/л + кінетин 1 мг/л (культивування в темряві)	-	2,7	171
Аденін 25 мг/л + кінетин 1 мг/л	46	28,3	35
Аденін 25 мг/л + кінетин 1 мг/л (культивування в темряві)	-	4,4	156
НІР <sub>05</sub>	8	2,7	6

Доведено значний вплив нового, синтезованого в НДЦ «АСКО» Інституту біонеорганічної хімії і нафтохімії НАНУ П. Г. Дульновим, препарату Д-9 на бульбоутворення в сорту картоплі Подолянка. З використанням освітлення у варіанті з кінетином зав'язалось на 9 % більше бульб, ніж у контролі. Використання аденіну замість кінетину мало ще більший ефект – 13,1 %, а з препаратом Д-9 – 16,1 %. Вищий прояв показників отримано у варіантах без світла, відповідно: 20,7; 18,4 і 75,8 %. Крім згаданого, препарат Д-9 позитивно вплинув на довжину кореневої системи та частку рослин зі столонами.

Виявлено специфічну реакцію сортів картоплі Повінь та Слов'янка на застосування фітогормонів (табл. 17). Це стосувалось висоти пагона, що в першого була максимальною у варіантів з ІОК+кінетин, а в останнього – з використанням Д-9. Найбільшою довжина кореневої системи була в сорту Повінь у варіанті з Д-9+Д-18, а в сорту Слов'янка – Д-9. За кількістю міжвузлів та коренів найкращим варіантом був з Д-18 (0,01 мл/л).

Таблиця 17 – Ефективність сумісного застосування Д-9 і Д-18 під час культивування регенерантів на середовищах з 3 % сахарози

Варіант	Висота пагона, мм	Кількість міжвузлів, шт.	Довжина кореневої системи, мм	Кількість коренів, шт.
<b>Сорт Повінь</b>				
Контроль (без гормонів)	156,5	7,7	43,7	8,7
ІОК (1 мг/л) + кінетин (1 мг/л)	174,7	8,3	123,9	9,6
Д-9, 0,01 (мл/л)	159,8	6,5	139,8	3,7
Д-18, 0,01 (мл/л)	138,5	6,3	139,4	16,4
Д-9, 0,01 (мл/л) + Д-18, (0,01 мл/л)	176,2	8,8	147,7	13,7
НІР <sub>05</sub>	6,9	0,2	7,8	0,3
<b>Сорт Слов'янка</b>				
Контроль (без гормонів)	167,3	6,5	62,2	9,3
ІОК (1 мг/л) + кінетин (1 мг/л)	174,2	7,1	80,4	11,4
Д-9, 0,01 (мл/л)	189,4	6,3	179,3	4,1
Д-18, 0,01 (мл/л)	142,1	5,7	157,8	18,7
Д-9, 0,01 (мл/л) + Д-18, (0,01 мл/л)	183,4	7,4	163,7	15,2
НІР <sub>05</sub>	8,9	0,3	7,4	0,3

Оптимальним впливом на зав'язування бульб виявилось поєднання в середовищі препаратів Д-9 та Д-18 та збільшеної вдвічі концентрації сахарози. У сорту Повінь різниця з контролем становила 2,0 раз, а в сорту Слов'янка – 2,2. Використання препаратів окремо збільшило утворення мікробульб, проти контролю лише в 1,1–1,2 раза.

**Трофічна детермінація онтогенезу регенерантів.** Досліджували вплив гелеутворювачів: агар (контроль), картопляний екстракт (5 %), картопляний крохмаль (5 %), перліт на ріст і розвиток живців сортів картоплі Подолянка і

Забава (табл. 18). Доведено перспективність використання насамперед картопляного крохмалю для формування довшої кореневої системи, утворення столонів та бульб (сорт Забава). У сорту Подолянка використання картопляного екстракту істотно скоротило період від живцювання до початку бульбоутворення. Виявлено, що застосування в середовищах замість агару картопляного крохмалю і, особливо, картопляного екстракту продовжує період культивування рослин.

Використання картопляного екстракту для вирощування *in vitro* хризантем обумовлювало уповільнений ріст регенерантів, нівелювало апікальне домінування. Коренева система була короткою і потовщеною. У середовищі з перлітом швидко втрачається вода, що виявилось стресовим чинником для рослин – рослини швидше завершували онтогенез. У картоплі використання картопляного екстракту або картопляного крохмалю пришвидшує формування мікробульб.

Таблиця 18 – Вплив гелеутворювачів штучних живильних середовищ на особливості регенерації *in vitro* рослин картоплі з живців

Гелеутворювач (загущувач)	Висота пагона, мм	Довжина кореневої системи, мм	Наявність, шт.		Період від живцювання до початку бульбо- утворення, діб	Період культивування, діб	
			столонів	бульб		всього	± до контролю
Сорт Подолянка							
Агар	178,3	65,5	1,2	0,9	44,1	87,1	-
Картопляний екстракт	123,4	32,1	1,8	1,5	7,3	139,0	+52
Картопляний крохмаль	148,1	74,9	1,9	1,4	12,9	95,1	+8
Перліт	103,2	68,3	1,1	0,9	10,5	63,3	- 23,8
НІР <sub>0,05</sub>	8,6	5,4	0,1	0,1	2,7	6,1	-
Сорт Забава							
Агар	192,0	79,0	1,3	1,2	49,6	132,5	-
Картопляний екстракт	157,1	38,7	2,7	1,7	14,5	159,9	+27,4
Картопляний крохмаль	165,9	86,7	3,3	2,6	17,8	147,9	+15,4
Перліт	112,5	71,2	1,6	0,9	12,3	65,7	-66,8
НІР <sub>05</sub>	8,9	6,4	0,3	0,1	2,9	5,8	-

Застосування як гелеутворювача геланової камеді за асептичного культивування міскантусу засвідчило ряд переваг, проти агару. Вона дешевша і потреба її для приготування середовища менша (4,5–5,0 г/л, проти 7,0–7,5 г/л агару). Геланова камедь легко розчиняється у воді, навіть холодній. Середовище прозоріше, що дає змогу раніше ідентифікувати контамінування та фенолоутворення. Різниця в рості та розвитку рослин на обох середовищах була у межах похибки досліду.

Важливе значення в детермінації онтогенезу *in vitro* має мінеральна основа штучних живильних середовищ. Використання замість пропису Murashige and

Skoog – Lloyd and McCown зменшувало кількість пагонів у кущі *in vitro* троянди, однак покращувало ризогенез, збільшувало висоту рослин. Культивування на середовищі Murashige and Skoog різних сортів винограду спричиняло появу гіпергідратації, зумовленої надлишком азоту. Нижні листки великі, темно-зелені, а верхні – салатово-жовті, які з часом відмирають.

Зроблено зміни в складі середовища Murashige and Skoog: зменшено вміст  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  з 1650 до 400 мг/л та  $\text{KNO}_3$  з 1900 до 1050 мг/л, що обумовило зменшення на 14 добу культивування висоти рослин у сорту картоплі Подолянка (хоча в сорту Забава неістотно), суттєве збільшення кількості міжвузлів, розвиток листової пластинки та зниження періоду культивування, хоча і негативно позначилось на розвитку кореневої системи. В умовах модифікованого середовища також раніше починалось столоно- та бульбоутворення, зав'язувалось більше мікробульб, у тому числі стандартних (діаметром 8 мм і вище) та зменшувався період культивування.

Досліджували трофічну детермінацію онтогенезу павловнії *in vitro*. Виявлено, що середовище QL – за Куаріном та Лепувром більш придатне для ризогенезу. У регенерантів проявилось апікальне домінування. Рослини, які ростуть на модифікованому нами середовищі (МК), інтенсивніше формують конгломерат мікропагонів з малими листочками та вкороченими міжвузлями, а також менш розвиненою кореневою системою.

Опрацювали можливість комбінування поживних середовищ за мікроелементами (табл. 19). Дослідження свідчать, що з використанням середовища QL можна отримати найвищі рослини з найменшою часткою вітрифікованих. Найвищий прояв останнього показника відмічено у рослин на середовищі МК. Найважливішим показником за мікроклонального розмноження рослин вважається коефіцієнт розмноження. Максимальне значення його мало місце на комбінованому середовищі МК (2/3) + QL (1/3).

Таблиця 19 – Розвиток регенерантів павловнії на середовищах, різних за вмістом поживних елементів

Середовище	Висота регенеранту, мм	Коефіцієнт розмноження*	Частка вітрифікованих регенерантів, %
МК	56,8	5,2	8,1
QL	79,2	3,9	1,6
МК (2/3) + QL (1/3)	61,8	6,4	6,8
QL (2/3) + МК (1/3)	66,2	4,1	4,9

Примітка: \*коефіцієнт розмноження розраховували за кількістю технологічно придатних однузлових стеблових живців

Трофічна детермінація онтогенезу регенерантів проявляється на 4–5 субкультивування, тобто не відразу. У дослідженні з ківі виявлені темпи змін за

висотою рослин, коефіцієнтом розмноження залежно від пасажів (1 або 5). Незважаючи на те, що виявлено біологічну особливість чотирьох сортів за реакцією на живильне середовище, в умовах використання QL різниця за висотою рослин між пасажами знаходилась у межах 1,1–1,9 рази, MS – 1,2–1,3, а МК – 1,1–1,2 рази. За різницею у величині коефіцієнта розмноження дані, відповідно, становили: 1,1–1,2, 1,1–1,9, а також 1,1–1,5 рази. За обома показниками максимальною відмінністю за пасажами в прояві показників характеризувався сорт Фаворит.

Залежно від біологічних особливостей сортів ківі виявлено різну приживлюваність рослин в умовах вологої камери на 30 добу постасептичної адаптації залежно від кількості субкультивувань на модифікованому середовищі та відмінності у прирості пагона. Стабілізувалось вираження першого показника в сортів Фаворит, Ботанічна -1 і Аурум Карпат Стратона за четвертого субкультивування і більше. У сорту ККСВ це відмічалось за третього пасажу. За приростом пагону близькі дані отримано за третього субкультивування і більше у сортів Фаворит і Ківі Карпат Стратона Валентайн. В інших двох це стосувалось четвертого пасажу і більше.

**Особливості використання заліза в штучних живильних середовищах.** Хлоротичні рослини спостерігали лише за 100 і 125 % концентрацією хелатної форми заліза відносно пропису Мурасіге і Скуга, причому різниця в частці рослин із згаданими симптомами за 100 % концентрації у сорту Reuben становила 9,7 рази на користь добрива Ferrilene 4.8 Orto-Orto, проти пропису Мурасіге і Скуга. У сорту Loch Tay таких регенерантів не виявлено.

Вітрифіковані рослини з'явилися за використання останнього середовища, починаючи з концентрації хелатного агента в 125 %, а добрива – 150. Найбільше їх було за концентрації 250 %. У сорту Loch Tay за використання обох форм заліза усі рослини виявились вітрифікованими при концентрації 205 %.

Найбільше пагонів у конгломераті виявлено у варіанті з концентрацією заліза 150 % незалежно від препарату. Водночас, за застосування добрива перевага в кількості мікропагонів у конгломераті в сорту Reuben становила 5,3 рази. У сорту Triple crown різниця була в 2,8 рази, хоча і в іншому варіанті з добривом, а в сорту Loch Tay – 1,1 рази.

Більш чутливими до нестачі заліза, порівнюючи з ожиною, були сорти малини. Для отримання максимальної кількості мікропагонів у конгломераті оптимальною виявилась концентрація в 200 %, порівнюючи з середовищем Мурасіге і Скуга.

Подвійна концентрація заліза в середовищі за живцювання (3 % сахарози) та бульбоутворення (6 % сахарози) для сортів картоплі Подолянка та Забава обумовила більшу висоту рослин за обліком на 30 добу у сорту Забава у варіанті живцювання максимальну довжину кореневої системи та в обох варіантах двох сортів прискорення початку утворення стolonів. Водночас, останнє щодо бульб не спостерігалось. Щодо росту і розвитку рослин рекомендована, концентрація заліза менше знижувала прояв показників, ніж зменшена вдвічі.

Аналогічне викладеному стосувалось кількості усіх бульб та кондиційних, а також середньої маси мікробульби та загальної з рослини. У сорту Подолянка виявлено меншу негативну реакцію на формування кондиційних бульб (діаметром 8 мм і більше) за використання рекомендованої дози, ніж з подвійною, проте однак в обох сортів вона виявилась дуже великою: 3,3 раза у сорту Подолянка та 2,3 раза, в сорту Забава. Дещо менша відмінність мала місце за кількістю всіх бульб, що свідчить про позитивний вплив збільшення концентрації заліза у середовищі на формування кондиційних бульб.

Особливо велика різниця у масі бульб з рослини була за використання половинної дози заліза проти подвійної. У сорту Подолянка вона становила 2,4 раза, а сорту Забава – 3,0.

Для поліпшення регенераційних та туберизаційних процесів у картоплі запропоновано новий пропис середовища, який відрізнявся від Мурасіге і Скуга модифікованого в Інституті картоплярства наступним: замість агару і сахарози використано крохмаль, кінетин (1 мг/л) замінено на аденін (20 мг/л), концентрацію хелатного заліза збільшено вдвічі, концентрація аскорбінової кислоти становила 25 мг/л. На новому середовищі у обох сортів: Подолянка і Забава висота рослин була меншою у 1,3 раза (табл. 20). Близьке стосувалось довжини кореневої системи. Однак, розвиток листової пластинки виявився кращим, раніше починалось столоноутворення (у 4,0 та 3,7 раза, відповідно), і більше отримано кондиційних бульб (у 1,4 та 1,5 рази).

Таблиця 20 – Регенерація і бульбоутворення рослин картоплі залежно від модифікаційних змін живильного середовища Мурасіге і Скуга

Модифікація середовища	Висота рослини, мм*	Розвиток листової пластинки, бал*	Довжина кореневої системи, мм*	Початок столоноутворення, діб	Отримано кондиційних мікробульб ( $\varnothing > 8$ мм)**, %
Сорт Подолянка					
Базова	178,3	3,7	65,5	44,1	90,0
Нова	137,7	4,1	56,6	10,9	126,7
НІР <sub>05</sub>	9,5	0,2	3,3	0,4	9,3
Сорт Забава					
Базова	192,0	3,9	79,0	49,6	120,0
Нова	153,5	4,5	59,3	13,4	184,3
НІР <sub>05</sub>	7,8	0,1	3,1	0,4	10,1

Примітки: \*Обліки висоти рослини, розвитку листової пластинки, та довжини кореневої системи вказано станом на 15 добу культивування. \*\* кондиційність бульб визначали на підставі дослідження В. С. Різника (1997).

У дослідженнях з агапантусом визначали реакцію рослин на кислотність живильного середовища. Доведено, що за рН 5,5 відбувалась незначна вітрифікація рослин (приблизно 1 %), однак за рН 7,0 цей процес був відсутній. Лише в середовищі

з рН 5,5 не відмічено некротичне відмирання листків. Ще одна його особливість – стабільність прояву коефіцієнта розмноження впродовж трьох пасажів.

## ПОСТАСЕПТИЧНА АДАПТАЦІЯ РОСЛИН *IN VITRO*

**Трофічна та гормональна детермінація ризогенезу *in vitro* в регенерантів хости.** Постасептична адаптація регенерантів великою мірою залежить від утворення коренів в експлантів та регуляції водообміну. Виявлено, що збільшення фотоперіоду в регенерантів двох сортів хости за початком коренеутворення мало вищий ефект, ніж після застосування цього прийому до рослин-донорів.

Виявлено, що в обох сортів хости: Патріот і Паульс Глорі використання ІОК у живильному середовищі в межах 1–5 мг/л майже не вплинуло на початок коренеутворення. Протилежне стосувалось введення ІМК, найкращою концентрацією якої для прояву показника була 4 мг/л, а різниця з аналогічним варіантом з ІОК становила в сорту Патріот 3,2 раза, або на 28,3 доби прискорило процес. Це саме стосувалось довжини кореневої системи на 45 добу культивування.

Лише в контролі встановлено негативний вплив половинної норми мінеральної основи на початок коренеутворення у регенерантів хости. Використання ІМК в концентрації 1 або 3 мг/л у сорту Патріот за повної мінеральної основи значно (у 3,0 і 3,6 раза, відповідно) прискорило початок коренеутворення, а в сорту Паульс Глорі – 2,2 і 2,9 раза. Дещо нижчі результати отримані за використання в середовищі половинної мінеральної основи: у першого сорту у 2,6 і 2,8 раза, а останнього – 2,1 та 2,3.

Водночас, мав місце значний вплив використання ІМК на довжину кореневої системи. Особливо це стосувалось концентрації препарату 3 мг/л. Порівнюючи з контролем, показник у сорту Патріот у цьому варіанті зріс у 29,5 раза, а сорту Паульс Глорі – 26,4. На кількість коренів у рослині застосування ІМК вплинуло меншою мірою, відповідно, в сортів 6,0 і 5,1 раза.

Доведена можливість використання в поживних середовищах замість активованого вугілля деревного, отриманого від неповного спалювання деревини плодкових. У сортів істотної різниці між варіантами з використанням ІМК за початком коренеутворення і використання активованого вугілля не виявлено, хоча в результаті застосування деревного вугілля (2,5 г/л) істотно швидше процес відбувався за концентрації ІМК 1 мг/л. Заміна активованого вугілля на деревне значно збільшила довжину кореневої системи, однак істотно не вплинула на кількість коренів.

Найбільше прижилось регенерантів хости після замочування їх впродовж 30 хвилин у розчині ІМК з концентрацією 0,5 мг/л. Різниця з контролем становила 35 %. Ще більшою мірою це стосувалось кількості коренів та їх довжини. Додаткове використання БАП позитивно вплинуло на кількості коренів лише в концентрації 1,0 мг/л.

Для замочування верхівкових живців малини максимальна частка укорінених регенерантів *in vitro* було за концентрації ІМК 1,0 мг/л в обох сортів (Зюгана і Брусвяна), а *ex vitro* – 2,0 мг/л.



**Особливості постасептичної адаптації павловнії.** Результати дослідження з визначення впливу ІОК, ІМК на ризогенез павловнії засвідчили, що максимальна довжина коренів, їх кількість відмічена за концентрації ІМК 2,5 мг/л.

Серед чотирьох живильних середовищ: WPM, MS, QL, BDS з додаванням 4,0 мг/л НОК оптимальним для павловнії виявилось QL. Довжина коренів у нього становило 186 мм проти MS 174, а кількість коренів, відповідно, 9,2 та 6,3 шт./рослину.

Серед досліджуваних концентрацій активованого вугілля оптимальною для початку коренеутворення була 3,0 г/л, утворення коріння – 2,5, а довжини коренів – 2,0.

Для кращого приживлення в теплиці слід брати регенеранти павловнії 15–20–30 добового віку. Найкраще приживлення спостерігалось у 20 добових регенерантів, а висота рослин на 15 і 30 добу – у 30 добових.

Експериментально доведено, що залишки агаризованого середовища на кореневій системі негативно впливали на адаптацію *ex vitro*. Запропоновано на стадії ризогенезу замінювати агар на вермикуліт. Оптимальна глибина посадки рослин *in vitro* для приживлення в павловнії становила 2-3 мм. Найкращим субстратом був кокосовий, температура 23 °С, освітленість 2511 люкс за використання стрейч-плівки. Незначно поступалось йому використання агроперліту.

За вирощування регенерантів павловнії на перліті найвища висота рослин, кількість міжвузлів, найдовша коренева система виявилась за підживлення  $\text{KН}_2\text{PО}_4 + \text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$  проти використання подвійної кількості  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  або  $\text{KNO}_3$ , чи  $\text{KН}_2\text{PО}_4$ , або  $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ .

Серед добрив з йоном Fe найбільша висота рослин *ex vitro*, кількість міжвузлів, та коренів була в результаті застосування Ferrilene 4.8 Orto – Orto, а найбільшу довжину коренів виявлено за додавання Ferrilene Trium.

Аналізуючи теоретичні та фактичні дані дійшли до висновку, що ефективним для приживлення *ex vitro* може бути введення рослин у стан спокою. У павловнії це досягалось поступовим зниженням вологості (з 70–75 до 30–35 %) та зниженням температури з 22–24 до 6–8 °С. Через два місяці такі рослини переносили в температурні умови 22–24 °С та зволожували, що сприяло виходу рослин із стану спокою. Позитивний вплив на приживлюваність рослин, розмір листкової пластинки, діаметр стебла мало вирощування їх у глибоких горшках об'ємом 0,5 л.

**Постасептична адаптація картоплі, туї та актинідії.** Досліджували вплив субстратів на стан регенерантів картоплі (табл. 21). Найкраще приживлення *ex vitro* відбулось з використанням перліту. Неістотно відрізнявся від нього за проявом показника гідрогель crystal water.

Істотно відрізнялось від найближчого варіанта використання перліту для отримання рослин з найбільшою висотою, довжиною кореневої системи, а неістотно – кількість живців. Поступалось також використання перліту за кількістю коренів на рослину субстрату з мохом сфагнумом. Водночас, недоліком перліту є його крихкість та утворення пилу під час роботи з ним.

Таблиця 21 – Стан регенерантів картоплі залежно від субстратів на 20 добу культивування, сорт Подолянка

Субстрат	Прижилось живців, %	Висота рослин, мм	Кількість живців, шт.	Кількість коренів, шт.	Довжина кореневої системи, мм
Грунт	67,3	127,7	4,7	2,7	7,8
Торф	46,2	108,4	4,3	3,9	6,3
Мох сфагнум	93,1	114,6	5,1	6,7	7,3
Пісок	78,6	98,5	5,6	4,2	9,4
Гранітний пил	74,4	129,8	4,8	3,7	4,2
Перліт	96,9	149,0	6,5	6,1	13,7
Гідрогель crystal soil	92,4	87,8	4,0	2,1	3,3
Гідрогель crystal water	96,2	124,2	4,2	2,7	4,6
Пластагар	89,7	98,6	4,3	4,8	3,2
Мінеральна вата	92,0	117,6	6,3	6,0	11,4
НІР <sub>05</sub>	2,6	7,0	0,4	0,3	0,5

Значно скорочується період від посадки до відмирання надземної частини (максимально 25 діб), до утворення стolonів (23 доби) та до утворення бульб (33 доби) за використання субстратом гідрогеля crystal soil, хоча максимальна кількість бульб на рослині та їх маса були у варіанті із застосуванням перліту.

Результати дослідження з визначення впливу площі живлення в постасептичний період свідчать, що оптимальним виявилось використання комірок 12 x 12 см (табл. 22). Порівнюючи з іншими варіантами, вдалось отримати істотно вищі рослини, які формували найбільшу кількість коренів, хоча за кількістю міжвузлів та довжиною кореневої системи різниця була неістотною.

Таблиця 22 – Вплив площі живлення на розвиток пагона картоплі за постасептичного живцювання, сорт Подолянка

Розміри комірки	Площа живлення, см <sup>2</sup>	Висота рослин, мм	Кількість міжвузлів, шт.	Кількість коренів, шт.	Довжина кореневої системи, мм
2,5x2,5 см	6,25	398	4,3	3,6	49
5x5 см	25,0	463	4,9	4,7	95
7x7 см	49,0	509	5,2	5,4	143
8x8 см	64,0	563	5,6	6,7	176
10x10 см	100,0	692	6,0	7,1	179
11x11 см	121,0	729	6,2	7,9	201
12x12 см	144,0	876	6,3	8,3	203
НІР <sub>05</sub>	7,2	12,3	0,2	0,2	12

Доведено, що мінімальний розмір комірки прискорював початок утворення стolonів та бульб, однак кількість мінібульб у перерахунку на рослину та маси бульб з рослини максимальні дані отримано з використанням розміру комірки 12x12 см.

Кращим субстратом для туї виявився гідрогель crystal soil. А для актинідії – «Laflora KKS-1» (Естонія). Найкраща приживлюваність актинідії відбувалась у мікропарниках, а також за використанням антитранспіранта біоприлипача Ліпосам.

**Введення регенерантів *in vitro* у стан спокою, як шлях постасептичної адаптації та захист від шкідливої мікрофлори субстрату.** Переходом у стан спокою для картоплі є бульбоутворення. Використовуючи численні чинники, можна досягти утворення пробіркових мікробульб. Доведена перевагу цього матеріалу, проти розсади, за багатьма показниками. У сорту Подолянка кількість пагонів у мікробульб перевищувала показник розсади в 2,1 раза. Щодо кількості стolonів ця різниця вимірювалась 2,0 рази. Відмічено глибше закладання стolonів у мікробульб у 3,8 раза, а маса міні бульб переважала в 1,6 раза. Водночас, період вегетації у мікробульб виявився в 1,2 раза довшим. Близькі дані отримано у сорту Червона рута, відповідно: 2,2; 1,9; 2,7; 1,6 і 1,2 раза.

Порівняння за численними показниками матеріалу від розсади без коріння, з корінням та яка пройшла стан спокою свідчить, що найгірші результати мали рослини хости, які висаджували без коріння. Порівняння інших двох варіантів у сорту Патріот свідчить про перевагу рослин, які пройшли стан спокою, за приживанням у 1,5 раза, кількості пагонів – 5,1, а маси рослин – 4,0 раза. Водночас кількість коренів у розсади, яка їх мала, була більшою, ніж у порівнювальному варіанті в 1,1 раза. Близькі дані отримано в сорту Паульс Глорі, відповідно: 1,5; 3,7; 3,3 і 1,1.

Випробовували два способи захисту розсади хости сорту Патріот: оброблення субстрату і замочування рослин (табл. 23). Серед різних варіантів виділився з використанням замочування в рекомендованій концентрації препарату Превікур Енерджі 840 SL. За приживленням рослин, їх масою виявлено істотне перевищення найближчого за значенням варіанту, а щодо кількості листків отримано також найвищі дані, однак різниця з варіантом використання для оброблення субстрату  $\text{AgNO}_3$  виявилась неістотною.

Таблиця 23 – Ефективність оброблення субстратів та рослин на вихід розсади хости, сорт Патріот

Варіант		Прижилося рослин, %	Маса рослин, г	Кількість листків, шт.
Контроль (без обробки субстрату і розсади)		35,61	0,48	3,68
Оброблення субстрату	Ризолекс	77,34	0,79	5,23
	Фундазол	41,27	0,65	4,12
	$\text{AgNO}_3$	46,38	0,82	5,57
Замочування рослин	Превікур Енерджі 840 SL	89,47	0,94	5,93
	Максим Форте 050 FS	72,14	0,73	5,45
НІР <sub>05</sub>		4,28	0,08	0,7

**Фотоавтотрофний метод МКР рослин як одночасне розмноження і постасептична адаптація.** У фундука досліджували вплив розмірів фотоасиміляційних органів на укорінення регенерантів. У сорту Трапезунд найшвидше почалось коренеутворення за висаджування живців з цілим листком (у 3,1 раза, проти з третини листка), та зафіксовано найбільшу довжину коренів на 30 добу культивування у живців з цілим листком проти третини (у 9,7 раза, ніж у живців з половиною листка).

З метою кращої підготовки рослин ожини до перенесення в постасептичні умови змінювали гормональний склад живильного середовища *in vitro*. Базовим був варіант мінеральної частини згідно з прописом Мурасіге і Скуга та з аденіном – 0,25 мг/л, БАП – 0,5 мг/л, ІМК – 0,1 мг/л. Модифіковане живильне середовище містило половину мінеральної основи та аденіну – 0,016 мг/л, БАП – 0,032 та ІМК – 1,5 мг/л.

За використання модифікованого живильного середовища у рослин була значно (у 5,7 раза) довша коренева система, більша кількість коренів (у 3,0 раза), краще приживання в умовах *ex vitro* (у 15,2 раза), однак у 1,5 раза виявилась менша висота рослин та в 3,1 раза кількість пагонів у конгломераті. Оптимальним строком культивування *in vitro* був 30 діб.

У постасептичних умовах коренеутворення у живців без застосування екзогенних фітогормонів за вирощування їх *in vitro* розпочиналось на 27 добу, а у варіанті з ІМК (2,5 мг/л) – вже на 14 добу. Використання ІМК також покращувало розвиток кореневої системи, сприяло утворенню довшої листкової пластинки, хоча найшвидше пробуджувались бруньки у варіанті з гібереліном ( $A_3$ ) в концентрації 1 мг/л. Позитивно вплинуло використання ІМК у медіальних живців, проти апікальних.

Враховуючи, що за постасептичного вирощування ожини за 70 % вологості повітря інфікувалось 86 % рослин, а в умовах з 100 % вологістю – 100 %, для кращого приживлення живців використовували обробку їх хімічними препаратами. Найкращі результати отримано за обприскування рослин Превікур Енерджі 840 SL з концентрацією 1,5 г/л та частотою оброблення один раз у п'ять діб. У цьому варіанті також була найбільша висота рослин: за вологості повітря 70 % у 1,3 раза перевищила значення показника контролю.

Виявлено позитивний вплив на масу рослин із живців ожини збільшення інтенсивності освітлення та концентрації  $CO_2$ . У звичайних умовах маса рослин збільшилась на 18 % після зростання інтенсивності освітлення з 2,2 kLux до 11,0, а чотирикратне зростання концентрації вуглекислоти обумовило зростання маси рослин на 72 %. Крім цього, сумісна дія двох чинників обумовила придатність до повторного живцювання рослин на 15–15 добу, а у звичайних умовах це мало місце через 1–1,5 місяця.

## **ПРОТОКОЛИ УДОСКОНАЛЕНИХ ТЕХНОЛОГІЙ МКР ТА ПОСТАСЕПТИЧНОЇ АДАПТАЦІЇ**

Успіх МКР рослин залежить від чіткого дотримання технологічних прийомів. За послідовністю їх виконання вони поділені на чотири групи: 1) добір материнських рослин, деконтамінація експлантів і первинне культивування; 2) розмноження *in vitro*; 3) укорінення *in vitro/ex vitro*, 4) постасептична адаптація. Запропоновано для практичного використання протоколи МКР наступних культур: хоста, туя західна, агапантус, картопля, малина, ожина, актинідія, алича, слива, персик, підщепа персика, павловнія.

## ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено теоретичне узагальнення та нове вирішення актуальної проблеми сільськогосподарського виробництва, а саме: використання мікроклонального розмноження численних видів рослин: хости, туї західної, агапантусу, картоплі, малини, ожини, шипшини, троянди, актинідії, павловнії, ківі та інших *in vitro* для звільнення від різного виду інфекцій: бактеріальної, грибною та вірусної, збереження в стані ювенілізації з урахуванням специфічного прояву їх біологічних особливостей, включаючи добір рослин-донорів для введення в стерильну культуру, деконтамінацію експлантів та специфічність первинного культивування, а також збереження в культурі *in vitro*, активізування процесів ризогенезу, швидкого розмноження і постасептичної адаптації.

1. Доведено вплив різних частин організмів, їх онтогенетичної різноякісності, втрати інтегральних та кореляційних зв'язків за введення рослин у асептичну культуру. На прикладі шипшини, троянди встановлене оптимальне приживлення експлантів, виділених із «зеленого конусу» і не отримано жодного позитивного результату з використанням рослин, які знаходились у глибокому спокою. Водночас, за оброблення материнських рослин та пагонів рослин-донорів хости, троянди, ожини 0,01–0,1 % розчином гібереліну дало змогу збільшити вихід експлантів з 2–5 (контроль) до 54–68 %. У павловнії ефективними виявили ГК<sub>3</sub> і ГК<sub>4/7</sub>. Пробудження відбувалось через 7–10 діб.

2. В актинідії виявлено вплив на швидкість адаптації до асептичних умов, регенераційну здатність місця ізоляції експланта. Більш успішними вони були за використання апікальної частини пагона, порівнюючи з медіальною і, тим паче, базальною. Через інтенсивне фенолоутворення введення в культуру актинідії доцільно проводити влітку. У павловнії краще приживлення експлантів відбувалось з пагонів, які пробудились у кінці грудня – на початку січня.

3. Враховуючи неоднаковий уміст пластичних, запасних речовин і, особливо, біологічно активних, виявлено відмінності в регенерації *in vitro*. У туї західної найкращим вихідним матеріалом виявився пагін проростка: 24,1 % регенерантів мали коріння та пагони. У стеблових живців це становило 0,9 %, а меристем – 16,6 %. Через складність отримання стерильного морфогенного експланта в агапантусу кращою частиною-донором виявилась основа суцвіття.

4. Доведено, що залежно від місця знаходження інфекції, її типу, біологічних особливостей експлантів для деконтамінації слід використовувати різні речовини. Серед менш шкідливих для рослин та оточення, зокрема для стерилізації та приживлення хости, виділено гіпохлорити натрію («Білизна» у розведенні 1:1) у поєднанні з перманганатом калію (залежно від насичення інфекцією 0,05–0,1 мг/л). Збільшення концентрації препаратів підвищувало токсичність речовин-стерилізаторів. Для захисту від внутрішнього контамінування позитивний ефект отримано від додавання в середовище термостабільних антибіотиків: левоміцетин –

250 мг/л, гентаміцин сульфат – 160 мг/л, або їх поєднання (125 і 80 мг/л). В останньому варіанті залежно від сорту хости лишили контамінованими 21–28 % експлантів, проти 49–59 % за використання препаратів окремо. Для сортів агапантуса серед фунгіцидів: Фундазол, Максим Форте 050 FS і Превікур Енерджи 840 SL найбільш перспективним виявилось використання останнього в концентрації 3 мг/л. Максим Форте.

5. На прикладі агапантуса виявлено, що тривале вегетативне розмноження підвищило контамінацію посадкового матеріалу. У туї західної найменше контамінованими були меристеми (9,3 %) проти стеблових живців (82,3 %). Серед чотирьох сортів хости менше контаміновані експланти з бутона (11–21 %), ніж з бруньок (33–59 %). Крім цього, в експлантів з бутонів у двох сортів виявлено соматоклональну мінливість за забарвленням листя.

6. Встановлено, що ефективність, як деконтамінанта, біоциду РРМ у концентрації 2 мг/л для ожини і фундука проявилась лише після повного занурення експлантів у поживне середовище. Оптимальним періодом культивування був 15-20 діб. Для трав'янистих рослин: цмин італійський, міскантус гігантський за часткою стерильних і живих експлантів оптимальною концентрацією РРМ була 2,0 мг/л, відповідно, 88–94 і 80–90 %. Для чагарникових: троянда, ожина найвища ефективність деконтамінації мала місце у варіанті концентрації РРМ 2,5 мг/л, а деревних: вишня, фундук за максимальною часткою стерильних концентрація 3,0, а живих – 2,5 мг/л.

7. Доведено вплив стану експлантів та складу живильного середовища на утворення регенерантами фенолоподібних речовин. Використання у туї західної живців з «п'яткою» дало змогу одержати 95,4 регенерантів без фенолів проти 7,9 % у контролі. Заміна в середовищі кінетину на аденін (20 мг/л) знизило частку експлантів з фенолами з 93,1 % (контроль, без гормонів) до 24,9 %. Ще кращим виявилось поєднання аденіну (20 мг/л) з 15 мг/л аскорбінової кислоти (лише в 3,8 % регенерантів мали фенольні виділення). У міскантуса позитивний вплив мало видалення відмерлих листків у експлантів, використання апікальної його частини, порівнюючи з медіальною, мінімізація раневої поверхні, а також занурення експлантів у антиоксидантний розчин (перші 60 хв. – аскорбінова кислота, 200 мг/л + цистеїн, 5 мг/л та наступні 60 хв. – розчин полівінілпіролідон, 10 г/л).

8. За введення в культуру фундука стебловими експлантами зменшення частки живців з фенольними виділеннями досяглось комплексом заходів: заміна в процесі стерилізації гіпохлориту натрію на Бланідак 300, або РРМ; дотримання рН середовища 6,0; застосування антиоксидантних речовин; підготовка донорних рослин в умовах закритого ґрунту з фунгіцидним захистом, штучним розсіяним освітленням, видалення некротизованих тканин та зменшення площі раневої поверхні.

9. Доведено можливість соматоклональної мінливості найчастіше з травматичного калюсу, або індукованого екзогенними гормонами, що знайшло відображення в павловнії, хости через зміну забарвлення рослин. Використання

методу дало змогу виділити клон павловнії 112-3, який відрізнявся утворенням у вузлі трьох листків, замість двох.

10. Виявлено особливий прояв ювенілізації *in vitro* у туї західної, що проявлялось у зміні форми хвої з лускоподібної до голкоподібної. Це позитивно вплинуло на кількість субкультивувань, відповідно, 11 і більше, проти 4–5-и; коефіцієнти розмноження: 14,7, проти 0,5 за третього субкультивування. У картоплі ювенілізація проявлялась *in vitro* незалежно від експланта, хоча регулюванням інтенсивності гетеротрофного живлення можна досягти бульбоутворення в умовах штучного середовища. Збільшення концентрації сахарози *in vitro* у картоплі, гвоздики до 9 % обумовило зменшення вегетативної частини рослин та кореневої системи.

11. Встановлено вплив живлення на регулювання ювенілізації в картоплі. Підтримання її досяглося вирощуванням рослин в умовах слабкої аерації та наявності в живильному середовищі сахарози, що знайшло вираження в утворенні простих листків. За автотрофного живлення (без сахарози) і аерації рослини переходили до наступних фаз розвитку, що підтверджувалось наявністю складних листків. За міксотрофного живлення (з сахарозою) та доступу повітря в рослин з'являлись складні листки. Це саме відбулось, однак меншими темпами, за відсутності в середовищі сахарози та з достатньою аерацією. Аналогічне спостерігалось щодо концентрації сахарози та поживних речовин у хости.

12. У павловнії, картоплі, хризантеми, гвоздики, хости виявлено онтогенетичну різноякісність регенерантів *in vitro* залежно від походження живців. Регенеранти з базальної частини, порівнюючи з медіальною та апікальною, стебла відстали в рості та розвитку з кожним наступним пасажем і в 8–10 у них була майже відсутня коренева система, стебло коротке з 4–5 міжвузлями. Рослини регенеровані з медіальних живців стабільно росли впродовж 10 субкультивувань. Найкращий ріст і розвиток мали рослини *in vitro* з апікальної частини стебла, однак лише до 4–5 живцювання, після чого вони не відрізнялись від рослин з медіальної частини стебла. На прикладі хости доведено вплив гормонів експлантів на результати подальших культивувань.

13. Виявлено способи зняття апікального домінування на період культивування і збільшення коефіцієнта розмноження трьох сортів хости. Порівнюючи з вкороченням листків, більш ефективним виявився поділ денця, що, відповідно, до згаданого становило 20–23 доби і 4,7–5,1, проти контролю: 79–120 і 4,2–4,9. В усіх сортів під час перших (4–6) послідовних субкультивувань відбувалось істотне скорочення періоду між живцюванням з 40–67 діб до 21–31 доби, що не спостерігалось за наступних субкультивувань.

14. У двох сортів агапантуса доведено перевагу за приживленням експлантів, висотою пагона та їх кількістю в куці 90 добового віку рослин-донорів, порівнюючи з 30 і 45 добовими, а за остайніми варіантами, відповідно, в 3,2 і 3,6 раза, 4,0–5,7 та 2,9–3,0. За мікроклонального розмноження туї західної після третього субкультивування в рослин *in vitro* з живців віком 20 діб виявлено ознаки

гіпергідратації тканин, втрату здатності до ризогенезу та вкорочений пагін, а за п'ятого морфогенез був відсутній. Використання донорів живців віком 60 діб дало змогу отримати добре сформовані рослини-регенеранти.

15. Виявлено детермінацію органогенезу *in vitro* в картоплі під впливом змін складу живильного середовища, дією низьких позитивних температур, режимів та спектра освітлення. Термоіндукція рослин *in vitro* картоплі дало змогу в «культурі одного вузла» отримати в сорту картоплі Подолянка більше всіх мікробульб, ніж у контролі, в 1,3 раза, в тому числі кондиційних на 8,6 %, а в сорту Забава, відповідно, 1,3 раза та 3,9 %. Цілодобове освітлення регенерантів міскантуса, порівняно з 8 годинним, збільшило довжину кореневої системи в 5,5 рази, висоту рослин – 1,6, приживлення рослин на 8,3 %, однак зменшило кількість пагонів у 2,4 рази. Використання ламп Промінь 30, порівняно з ЛБ 36, дало змогу збільшити висоту рослин у регенерантів сорту Подолянка на 15 добу культивування на 2,1 см, рослин *ex vitro* на 2,5 см, однак зменшило кількість міжвузлів на стеблі, відповідно, на 1,5 і 1,7 шт.

16. У нативних умовах за апікального домінування від донорів можна отримати одновузлові живці, а за його відсутності – конгломерат пагонів, хоча у різних видів ягідних культур доведено можливість регулювання процесу за використання цитокінінів. Для малини найкращі результати одержано за включення в середовище Мурасіге і Скуга 0,5 мг/л БАП на фоні 0,25 мг/л ІМК. Водночас, у смородини виявлено сортову специфіку реакції на використання БАП. Найбільшу висоту регенерантів у *Ribes nigrum* L. відмічено за концентрації БАП 0,5 мг/л, а в *Ribes rubrum* L., *Ribes Grossularia* L. – за відсутності препарату. Однак, для всіх видів та сортів найбільше пагонів у розетці було у варіанті БАП 1,0 мг/л. Вищі концентрації препарату спричинили відхилення в рості та розвитку рослин, хоча з віком цей ефект знижувався. Аналогічне мало місце у двох форм верби. У павловнії максимальна кількість мікропагонів у конгломераті була за концентрації БАП 1,5 мг/л, однак вітрифікованих рослин виявилось більше, порівнюючи з 1,0 мг/л, на 22 %.

17. Доведено, що фітотоксичність БАП можна знизити додаванням у середовище гіберелінів. Особливо успішним виявилось використання ГК<sub>3</sub>, що дало змогу збільшити висоту регенерантів павловнії на 24 см, або в 1,6 раза. Ще більший ефект отримано за зменшення кількості вітрифікованих рослин на 52 %. У деревних: падуб, цитрофортунелла найкращим варіантом виявилось поєднання БАП та гіберелін по 2,5 мг/л, що дало змогу збільшити висоту регенерантів у 1,3–3,0 раза, довжину найбільшого листка – 2,2–2,6, приживлених експлантів у 1,6–9,3. Концентрація гібереліна 2,5 мг/л дала змогу через 7 діб пробудити донорні рослини падубу мезерва, та збільшити приживлення експлантів троянди на 14 %.

18. На трьох ягідних культурах – ожина, малина і смородина червона створено модель причин виникнення гіпергідратації та інших небажаних явищ: використання для живцювання дуже молодих рослин-донорів (15–20 добового віку), застосування



високих концентрацій БАП (2 мг/л для ожини і смородини червоної та 4 мг/л для малини), збільшення в середовищі, порівнюючи з прописом Мурасіге і Скуга, вмісту  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  у 4 рази, або в 3 рази вмісту хелатної форми заліза, культивування на середовищі з рН 5,0 (у контролі 5,6), загущення вдвічі посадки живців. У дослідах з ожиною встановлено отруєння регенерантів етиленом, зниження негативного впливу якого можна досягти збільшенням фотоперіоду до 24 год. на добу.

19. Відмічено вплив цитокінінів на бульбоутворення *in vitro* картоплі. Максимальний вихід мікробульб (162–171 проти 71 % у контролі) спостерігався у варіантах з аденіном (20 або 25 мг/л) та поєднання аденіну (20 мг/л) з кінетином (1 мг/л) за культивування в темряві. На середовищі з 20 мг/л аденіну мала місце найнижча вітріфікація рослин: 1,1, проти 1,4 % в контролі. Вищий ефект, ніж з кінетином, отримано із застосуванням аналога цитокінінів препарату Д-9, синтезованого в НДЦ «АСКО» Інституту біонеорганічної хімії і нафтохімії НАНУ у концентрації 0,01 мг/л. У сортів Повінь і Слов'янка це стосувалось довжини кореневої системи, частки рослин зі столонами і мікробульбами, а щодо останнього сорту – висоти пагона. Позитивно вплинуло на довжину кореневої системи, кількість коренів заміна ІОК на препарат Д-18 згаданого Інституту. Аналогічне за всіма показниками стосувалось поєднання препаратів у концентрації 0,01 мг/л.

20. Виявлено модифікації використання фітогормонів. За умов відсутності світла в сортів Повінь та Слов'янка на середовищі з Д-9 зав'язалось на 100 регенерантів, відповідно 189,4 і 208,3 бульб, порівнюючи з використанням світла: 109,3 і 136,7 %. Доведено позитивний вплив застосування препарату Д-9 на вихідних рослинах для живцювання. Перевага над контролем у перерахунку на кількість бульб у 100 регенерантів у сорту Повінь з 30 г/л сахарози в індукованих вихідних рослин становила 8,2 рази, а з концентрацією сахарози 60 г/л – 1,1 рази. У сорту Слов'янка це, відповідно, становило: 6,1 і 1,2 рази.

21. Використання гелеутворювачем у середовищі замість агару картопляного крохмалю, порівнюючи з картопляним екстрактом і перлітом, у сорту Подолянка дало змогу отримати довшу кореневу систему (в 1,1 рази), більше столонів (у 3,4 рази), менший період від живцювання до бульбоутворення, однак більш тривалий період культивування – на 52 доби. У сорту Забава кращим варіантом було використання картопляного крохмалю за всіма показниками, крім висоти пагона, періоду від живцювання до бульбоутворення та періоду культивування (більше на 15,4 доби). Використання за вирощування *in vitro* експлантів міскунтуса замість агару геланової камеді дало змогу отримати краще розчинення його у воді, зниження вартості середовища та збільшення його прозорості.

22. Використання модифікованого в Інституті картоплярства НААН середовища Мурасіге і Скуга, замість стандартного, дало змогу в сорту Подолянка збільшити кількість міжвузлів (з 3,9 до 4,7 шт.), розмір листової пластини (на 1,2 бала) та зменшити період культивування – на 12,1 доби, а також поліпшити

зав'язування бульб, зокрема кондиційних. У сорту Забава також виявлено істотну різницю за показниками.

23. Заміна хелатної форми заліза в прописі Мурасіге і Скуга на добриво Ferrileme 4.8 Orto–Orto дало змогу за вирощування ожини знизити частку хлоротичних рослин за 100 % концентрації заліза в сортів Reuben та Triple Crown у 9,7 та 11,0 раза, вітрифікованих рослин за 200 % концентрації – в 3,0 і 2,2 раза, а за кількістю мікропагонів у конгломераті для двох сортів і концентрація 150 %, а сорту Triple Crown – 200 %. Близькі дані отримано за розмноження малини. У картоплі сорту Подолянка подвійна концентрація заліза за живцювання збільшувала висоту рослин, довжину кореневої системи, прискорювала початок утворення стolonів та бульб, а за бульбоутворення: довжину кореневої системи та початок утворення стolonів. Аналогічне стосувалось сорту Забава.

24. Середовище Мурасіге і Скуга в нашій модифікації: заміна сахарози та агару картопляним крохмалем, кінетину на аденін (20 мг/л), зростання концентрації хелатного заліза вдвічі, проти з базового, дало змогу збільшити величину листової пластинки в сорту картоплі Подолянка на 0,4 бала, скоротити початок стolonоутворення на 33,2 доби, отримати більше кондиційних бульб у 1,4 раза. Близькі дані отримано в сорту Забава.

25. Виявлено вплив кислотності живильного середовища на онтогенез регенерантів. Підвищення її до рН 4,0 у смородини чорної спричиняло симптоми нехватки магнію, фосфору та калію. За рН 7,0 на нижніх листках відмічено ознаки нестачі азоту, а на верхніх – заліза. У агапонтуса рН 4,0 спричинило вітрифікацію регенерантів за першого пасажу у 43 %, а за третього – 92 %. Спостерігалось також некротичне відмирання листків, відповідно, в 10 і 30 % рослин, та різко знижувався коефіцієнт розмноження між пасажами з 5,6 до 0,3. Кислотність з рН 7,0 спричиняла некротичне відмирання листків відповідно до пасажів, у 23 і 97 % регенерантів та зменшувала коефіцієнт розмноження з 1,9 до 0,8 (у контролі – 4,7 та 4,8).

26. Доведено позитивний вплив довгого фотоперіоду (8 годин, проти 16) на ризогенез у рослин-донорів та експлантів хости. У двох сортів: Патріот і Паульс Глорі в останньому варіанті початок коренеутворення наступав на 7,1 та 5,8 доби раніше, довжина коренів була більша на 4,6 і 5,2 мм, а кількість коренів зросла у 2,5 і 4,6 раза, відповідно. За довшого фотоперіоду у регенерантів хости скорочувався строк до початку коренеутворення, відповідно, на 8,2 і 7,1 доби, збільшувалась довжина кореневої системи на 5,4 і 12,6 мм, та кількість коренів у 1,9 і 1,6 раза.

27. Встановлено, що заміна в середовищі для регенерації хости ІОК (у межах 1–5 мг/л) на ІМК (1–5 мг/л) прискорила коренеутворення в останніх варіантів сорту Патріот у 2,1–3,1 раза, а Паульс Глорі – 1,6–2,3. Із зростанням концентрації ІМК збільшувалась довжина коренів за оптимальної у варіанті з концентрацією 4 мг/л, а також кількість коренів з найвищим проявом показника за концентрації 2 мг/л. За повної мінеральної основи, порівнюючи з половинною, використання ІМК (1 і 3 мг/л)

в обох сортів значно скорочувало початок коренеутворення (в межах 2,3-3,6 рази) з оптимумом у варіанті 3 мг/л. Це саме стосувалось довжини коренів, однак кількість їх виявилась більшою за концентрації 1 мг/л.

28. Не виявлено істотної різниці за початком коренеутворення у сорту хости Патріот внаслідок заміни активованого вугілля (1,5 г/л) на деревне (2,5 г/л), однак між варіантами концентрації ІМК: 1 і 3 мг/л на згаданому фоні різниця в прояві показника виявилась істотною. Заміна активованого вугілля на деревне позитивно вплинула на збільшення довжини коренів у сорту Патріот з 14,3 до 37,3 мм, а в сорту Паульс Глорі, відповідно, з 7,7 до 38,9 мм, чого не спостерігалось щодо кількості коренів, коли різниця між варіантами, залежно від концентрації ІМК, виявилась неістотною. За використання для замочування регенерантів хости 2,4 Д результати виявились гіршими, ніж з ІМК. Оптимальним для замочування живців малини виявилось використання концентрації ІМК 1,0 і 1,5 мг/л.

29. Доведено, що лише концентрація ІОК 0,1 мг/л неістотно збільшувала довжину коренів експлантів павловнії та їх кількість. Навпаки, використання в середовищі ІМК в межах 0,1–2,5 мг/л значно підвищувало прояв показників, відповідно, до 2,9 і 3,5 рази. Серед чотирьох середовищ оптимальним для ризогенезу виявилось використання за прописом Куаріна і Лепувра, що, порівняно з Мурасіге і Скуга дало змогу збільшити довжину коріння на 6,9 %, а їх кількість на 46 %. Використання в середовищі активованого вугілля в концентраціях 0,5–2,5 г/л прискорило початок коренеутворення на 5 діб, збільшило кількість коренів на 2,5 шт. (за 2,5 г/л), а їх довжину – на 26 мм (за 2,0 г/л). Використання активованого вугілля в кількості 3,0 г/л знизило прояв усіх показників.

30. Кращими для приживлення павловнії виявились 20 добові регенеранти, а з погляду висоти рослин – 30 добові. Оптимальною глибиною посадки рослин у вологій камері була 2–3 мм. Доведено доцільність живцювань *ex vitro*, яке слід проводити за першого-третього розмноження. Для кращого розвитку рослин *ex vitro* необхідно мати в живильну розчині 2500 мг/л  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ , 2200 –  $\text{KNO}_3$ , 1940 –  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  і 1540 –  $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ . За підживлення  $\text{KH}_2\text{PO}_4 + \text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$  висота рослин збільшилась у 2,7 раза, кількість міжвузлів – 1,2, кількість коренів – 1,2, довжина кореневої системи – 1,4. Використання добрива Ferrilene 4.8 Orto-Orto, порівняно з іншими двома формами заліза, дало змогу збільшити висоту рослин у 2,4 раза, кількість міжвузлів – 1,2 та кількість коренів – 1,3 за незмінної їх довжини. Для успішної постасептичної адаптації доцільно вводити рослини павловнії в період спокою, що досягалось зниженням вологості з 70–75 до 30–35 % і температури з 22–24 до 6–8 °С впродовж 60 діб. За таких умов пробудилось 93 % рослин проти 42 % за віку у 21 добу. Ювенілізація рослин *in vitro* передається впродовж 2–3 поколінь після постасептичного живцювання.

31. Доведено, що для приживлення живців під час постасептичної адаптації регенерантів сорту картоплі Подолянка кращими субстратами були мох сфагнум, гідрогелі, перліт, мінеральна вата, а погляду зору росту та розвитку рослин два

останні. Найкоротший період для столоно- і бульбоутворення, відмирання надземної частини виявився за вирощування рослин на гідрогелях: crystal soil та crystal water, а за кількістю і масою бульб – перліт. Для розвитку пагона, бульбоутворення кращою площею живлення була 12 x 12 см. Для постасептичної адаптації туї західної за приростом пагону та кореня, кількістю бічних коренів, кольором лусок кращим субстратом виявився гідро гель crystal soil.

32. Виявлено особливості онтогенезу сортів картоплі залежно від типу вихідного матеріалу для *ex vitro*. За кількістю пагонів та стелонів, глибиною закладання стелонів, утворенням мінібульб перевагу мало використання мікробульб, порівняно з розсадою. У двох сортів хости краще приживлення (у 2,1–2,3 раза), ріст і розвиток рослин відбувались у матеріалі, який пройшов стан спокою. З метою захисту розсади хости оптимальним виявилось замочування рослин у Превікур Енерджі 840 SL 2–3 мл на літр води, на 5–10 хв. Доведено, що для постасептичної адаптації актинідії кращим субстратом був Laflora KKS-1, а серед зовнішніх умов – застосування мікропарників. Позитивні результати отримані за використання антитранспіранта прилиплювача Ліпосам.

33. Виявлено, що за фотоавтотрофного мікроклонального розмноження використання цілої листкової пластинки у живців фундука, порівнюючи з половиною або третиною, пришвидшує коренеутворення в 1,6 і 3,1 раза, відповідно, та довжину коріння в 9,7 раза. В ожини, використання модифікованого живильного середовища: мінеральна основа Мурасіге і Скуга – 50 %, аденіну – 0,016 мг/л, БАП – 0,032 та ІМК – 1,5 сприяло в умовах *ex vitro* збільшенню довжини коренів у 5,7 раза, їх кількості – 3, приживлення – 15,2, хоча рослини мали меншу висоту на 33 % і кількість пагонів у конгломераті на 32 %. За повторного культивування *ex vitro* позитивний вплив на приживлення рослин (у 1,4 рази), довжину кореневої системи (2,2), кількість коренів (2,5), масу рослин (5,3) мав апікальний тип живця, проти медіального. За використання ІМК (1,0-2,0 мл/л) серед апікальних живців згадані показники зросли на 4 %, у 1,3; 1,7 та 2,1 рази. Мінімальне інфікування рослин відбувалось за вологості 70 %, порівняно з 100 %, а з хімічних препаратів використання Превікур Енерджі 840 SL 0,75, або 1,5 мл/л з періодичністю обприскування, відповідно, три і п'ять діб.

## РЕКОМЕНДАЦІЇ ДЛЯ ПРАКТИЧНОГО ВИКОРИСТАННЯ

1. На першому етапі МКР у процесі введення частин рослин у асептичні умови запропоновано наступні удосконалення. Для шипшини, троянди кращим варіантом введення в *in vitro* виявилось використання донорів у фазі «зелений конус», а в актинідій – апікальних частин стебла, туї західної – пагонів проростка, а агпантуса – основи суцвіття. Вивести зі стану спокою рослин-донорів хости, троянди, ожини і павловнії можна обробляючи рослини гібереліном (0,1 г/л), або включаючи гормон у живильне середовище (1 мг/л).

2. Деконтамінанти вибирати залежно від місця розташування інфекції, її природи. Основними можуть бути: гіпохлорит натрію («Білизна» у співвідношенні з водою 1:1) та перманганат калію (0,05 мг/г), а також Бланідас 300 (0,7 %). За глибокого бактерицидного контамінування слід використовувати суміш левоміцетину (125 мг/л) та гентаміцин сульфату (80 мг/л), а грибного – Превікур Енерджі 840 SL (3 мл/л). За змішаної інфекції ефективним виявився біоцид РРМ для трав'яних (цмин італійський, міскантус гігантський – 2,0 мл/л), чагарникових (троянда, ожина – 2,5), деревних (вишня, фундук – 3,0 для отримання максимальної кількості стерильних експлантів та 2,5 – для живих).

3. Для усунення утворення фенолоподібних речовин за перших субкультивувань у туї західної, міскантуса, кактусів, актинідії, фундука та ліщини слід видаляти відмерлі частини рослин, використовувати живці з «п'яткою», а також середовище з антиоксидантами: аденін (20 мг/л) та аскорбінова кислота (15 мг/л). Для окремих видів рослин застосовувати комплекс заходів, наприклад, для фундука: підготовувати рослини для введення *in vitro* в умовах закритого ґрунту, за штучного розсіяного освітлення з використанням для захисту від інфекції фунгіцидів, а також відділення некротичної тканини, зменшення площі раневої поверхні. Використовувати стеблові експланти, заміна гіпохлориту натрію на Бланідас 300, або РРМ, дотримуватись рН середовища 6,0, застосовувати антиоксиданти.

4. Для запобігання соматоклональної мінливості під час субкультивувань регенерантів, що проявляється у вигляді зміни забарвлення, кількості листків та пазушних бруньок, не використовувати для пасажів калюсну культуру, дотримуватись оптимальних концентрацій гормонів.

5. Одне з основних завдань МКР рослин – збереження їх у ювенільній стадії, що підтверджується специфічністю морфології листків. Це досягається оптимізацією концентрації в середовищі сахарози (для картоплі, гвоздики 3 %), слабка аерація, повне мінеральне живлення, концентрацією агар-агару (0,7 %).

6. Зважаючи на різноякісність живців залежно від знаходження на рослині-донорі для успішного МКР доцільно використовувати з верхньої частини рослин, що підтримуватиме ювелінізацію рослин, дасть змогу поліпшити процеси адаптації на етапі *ex vitro*, пришвидшить розмноження. Для більшості видів позитивний вплив на ріст і розвиток рослин мало використання БАП в концентрації 1,0–1,5 мг/л. Більші концентрації негативно впливають на ріст рослин, обумовлюють калюсоутворення, вітрифікацію.

7. Для зняття апікального домінування у хости використовувати поділ денця, що дасть змогу скоротити період культивування (у трьох сортів у межах від 79–120 до 20–23 діб), збільшити коефіцієнт розмноження з 4,2–4,9 до 4,7–5,1, а також збільшити кількість субкультивувань. З метою збільшення висоти пагона, приживлюваності експлантів, кількості пагонів у куці агпантуса використовувати 90 добові рослини-донори, а не 30, 45 добові.

8. Детермінацію онтогенезу регенерантів у процесі МКР можна досягти термоіндукцією, використанням хлорхолінхлориду, змінами фотоперіоду. Для стимуляції бульбоутворення у картоплі оптимальним виявилось використання термоіндукції (витримування рослин впродовж 4 діб за температури 2-4 °С). Використання 8-и годинного освітлення, проти з цілодобового у міскантуса спричинило зменшення висоти рослин у 1,6 раз, довжину кореневої системи – 5,4 частки рослин, що прижились – 1,1 хоча кількість пагонів зростає в 2,6 рази.

9. Використання ламп Промінь 30 рекомендується для видовження стебла, зменшення кількості листків, хоча і з більшою площею. Лампи ЛБ-36 спричиняли перевагу розвитку над ростом: рослини менші, однак з більшою кількістю міжвузлів.

10. З метою детермінації розвитку пагона в процесі морфогенезу в процесі вирощування ожини, малини і смородини слід використовувати БАП в концентрації 0,5 мг/л для отримання максимальної висоти пагона і 1,0 – кількості пагонів у розетці. Збільшення концентрації препарату спричиняло вітрифікацію рослин. Для верби рекомендується збільшення в середовищі Fe-хелату, кількість БАП знизити до 0 мг/л і додати 1 мг/л AgNO<sub>3</sub>.

11. Додавати в середовище гіберелін для: нівелювання фітотоксичної дії цитокінінів, пробудження первинних експлантів, що знаходяться в стані спокою.

12. Запобігання вітрифікації рослин можна досягти: зменшенням кількості цитокінінів за живцювання молодих рослин-донорів (15–20 діб); зниженням концентрації азоту; зменшенням вмісту хелатної форми заліза; підвищенням рН середовища; запобіганням самоотруєння етиленом за загущеного садіння живців.

13. Замінювати як гелеутворювач агар-агар на картопляний крохмаль, або картопляний екстракт (у середовище також не потрібно додавати сахарозу), геланову камедь (робить середовище прозорим) та перліт.

14. Для отримання найвищих рослин картоплі з найменшою часткою вітрифікованих та забезпечити максимальний вихід мікробульб слід додавати в середовище 25 мг/л аденіну замість кінетину. Підвищити ефективність препарату можна за відсутності світла. Збільшення кількості стolonів, бульб можна досягти індукуванням вихідних для живцювання рослин гормонами та збільшенням концентрації сахарози до 60 г/л.

15. Змінити концентрацію та форму хелатного заліза в середовищі для зменшення хлоротичних, вітрифікованих рослин та із більшою кількістю мікропагонів у конгломераті. Незважаючи на специфічність реакції на варіанти трьох сортів ожини, оптимальними слід рекомендувати: FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O + Na<sub>2</sub>EDTA·2H<sub>2</sub>O в концентрації 125 % до стандартного пропису, або добриво Ferrilene 4.8 Orto–Orto в концентрації 150 % від розрахункової норми FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O + Na<sub>2</sub>EDTA·2H<sub>2</sub>O. Для малини викладене, відповідно, становило 150 і 200 %. Для двох сортів картоплі оптимальною виявилась 200 % концентрація.

16. На двох сортах картоплі: Подолянка і Забава рекомендується використовувати удосконалене середовище Мурасіге і Скуга, що дало змогу збільшити величину листової пластинки в 1,1–1,2 рази, скоротити період до утворення стolonів у 3,7–4,0 рази, а вихід кондиційних бульб збільшити в 1,4–1,5 рази.

17. Для поліпшення ризогенезу в хости слід рослини-донори та регенеранти вирощувати на довгому фотоперіоді (16 год.), що дасть змогу прискорити коренеутворення, збільшити довжину та кількість коренів. Цьому також сприятиме додавання в середовище від 1 до 4 мг/л ІМК, вирощування регенерантів на збідненому ( $MS_{1/2}$ ) середовищі та додавання активованого, або деревного вугілля. Заміна в середовищі ІОК (1-5 мг/л) на ІМК (1–5 мг/л) прискорювало коренеутворення, збільшувало їх довжину (оптимальна концентрація ІМК 4 мг/л) та кількість (найкращий варіант 2 мг/л). Використання замість активованого вугілля деревного призвело до збільшення довжини коренів, хоча різниця їх кількості між варіантами не істотна.

18. З метою збільшення кореневої системи в експлантів павловнії слід замінити ІОК на ІМК (в концентрації 0,1–2,5 мг/л), застосовувати середовище Куаріна і Лепувра, а також активоване вугілля в концентрації 0,5–2,5 г/л, хоча вміст останнього 3,0 г/л знизив прояв кількості коріння, їх довжину та гальмував прискорення початку коренеутворення.

19. Застосовувати технологію постасептичного приживлення павловнії, що включає: використання 20 добових регенерантів для кращого приживлення, а 30 добових для отримання високих рослин; доцільно проводити живцювання *ex vitro*, яке можна продовжувати до третього розмноження; мати в живильному середовищі 2500 мг/л  $NH_4NO_3$ , 2200 –  $KNO_3$ , 1940 –  $KH_2PO_4$  і 1540 –  $MgSO_4 \times 7H_2O$ , а для підживлення використовувати  $KH_2PO_4 + MgSO_4 \times 7H_2O$ . Замість  $FeSO_4 \times 7H_2O + Na_2EDTA \times 2H_2O$  використовувати добриво Ferrilene 4.8 Orto-Orto в концентрації 91,7 мг/л. Для успішної постасептичної адаптації доцільно вводити рослини павловнії в період спокою, що досягалось зниженням вологості з 70–75 до 30–35 % і температури з 22–24 до 6–8 °С впродовж 60 діб. За таких умов пробудилось 93 % рослин, проти 42 % за віку 21 доба. Ювенілізація рослин *in vitro* передається впродовж 2–3 поколінь після постасептичного живцювання.

20. Рекомендовано використовувати для приживлення картоплі мох сфагнум, перліт, мінеральну вату і, особливо, гідрогелі crystal soil або crystal water. Кращий розвиток пагона, бульбоутворення досягався за площі живлення 12 x 12 см. Для постасептичної адаптації туї західної за приростом пагона та кореня, кількістю бічних коренів, кольором лусок кращим субстратом виявився гідрогель crystal soil.

21. У картоплі збільшення кількості пагонів, стolonів, глибше закладання останніх, утворення мінібульб досягалось з використанням мікробульб, проти розсади. Для сортів хости краще приживлення відбувалось за використання матеріалу, що пройшов стан спокою. Ефективний захист від грибною інфекції

досягався замочуванням рослин у Превікур Енерджі 840 SL 1,5 мл/л впродовж години. Постасептична адаптація більш успішна за використання субстрату Laflora KKS-1, а серед зовнішніх умов – застосування мікропарників.

22. Для постасептичної адаптації фундука використовувати рослини з цілим листком, а не з його частинами. Використання за останнього живцювання ожини модифікованого живильного середовища: мінеральна основа Мурасіге і Скуга (50 %), аденін – 0,016 мг/л, БАП – 0,032 та ІМК 1,5 сприяло в умовах *ex vitro* збільшенню довжини коренів у 5,7 раза, їх кількості – 3, приживлення – 15,2, хоча рослини мали меншу висоту на 33 % і кількість пагонів у конгломераті на 32 %. За повторного культивування *ex vitro* позитивний вплив на приживлення рослин (у 1,4 раза), довжину кореневої системи (2,2), кількість коренів (2,5), масу рослин (5,3) мав апікальний тип живця, проти з медіального. За використання ІМК серед апікальних живців згадані показники зросли на 4 %, у 1,3; 1,7 та 2,1 раза. Мінімальне інфікування рослин відбувалось за вологості 70 %, порівнюючи зі 100 %, а з хімічних препаратів використання Превікур Енерджі 840 sl в.р.к 0,75, або 1,5 г/л з періодичністю обприскування, відповідно, три і п'ять діб.

23. У практичній роботі рекомендовано використовувати апробовані протоколи МКР хости, агапнтуса, туї західної, картоплі, малини, ожини, актинїдії, аличі, персика і його підщеп, павловнії.

## СПИСОК НАУКОВИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

**Монографія, підручник, навчальні посібники, науково-практичні посібники:**

1. Подгаєцький А. А., Мацкевич В. В., Подгаєцький А. Ан. Особливості мікроклонального розмноження видів рослин: (монографія) Біла Церква: Білоцерківський національний аграрний університет, 2018. 209 с. (*особистий внесок 45%*)
2. Власенко М. Ю., Вельямінова-Зернова Л. Д., Мацкевич В. В. Фізіологія рослин з основами біотехнології: підручник Біла Церква: Білоцерківський національний аграрний університет, 2006. 504 с. (*особистий внесок 30 %*)
3. Мацкевич В. В., Роговський С. В., Власенко М. Ю., Черняк В. М. Основи біотехнології рослин: навчальний посібник Біла Церква: Білоцерківський національний аграрний університет, 2010. 135 с. (*особистий внесок 45%*)
4. Подгаєцький А. А., Кабанець В. М., Кравченко Н. В., Подгаєцький А. Ан., Мацкевич В. В., Бордун Р. М. Розмноження та оздоровлення насінневого матеріалу картоплі: навчальний посібник. Суми: ПВКФ Видавництво «МакДен», 2019. 164 с. (*особистий внесок 15%*)
5. Мацкевич В. В., Подгаєцький А. А., Філіпова Л. М. Мікроклональне розмноження окремих видів рослин (протоколи технологій): науково-практичний посібник. Біла Церква: Білоцерківський національний аграрний університет, 2019. 84 с. (*особистий внесок 45%*)



6. Мацкевич О. В., Філіпова Л. М., Мацкевич В. В., Андрієвський В. В. Павловня: науково-практичний посібник. Біла Церква: Білоцерківський національний аграрний університет, 2019. 80 с.

### Статті у фахових виданнях України

1. Мацкевич В.В., Лященко С.А. Вплив віку вихідних рослин картоплі на ріст та розвиток регенерантів при живцюванні «Картоплярство»: Міжвідомчий тематичний науковий збірник. 2006. Вип. 34-35. С. 79-84. (особистий внесок 75%)

2. Мацкевич Н.О., Пустовіт О.С., Власенко М.Ю. Мацкевич В.В. Особливості індивідуального розвитку картоплі при клональному мікророзмноженні. Вісник Білоцерківського державного аграрного університету. 2007. Вип. 46. С. 27-31. (особистий внесок 25%)

3. Мацкевич В.В., Власенко М.Ю., Войніцький І.І. Вплив хлорохолінхлориду та термоіндукції на бульбоутворення в рослин картоплі в умовах *in vitro*. «Картоплярство»: Міжвідомчий тематичний науковий збірник. 2007. Вип. 37. С. 33-37. (особистий внесок 45%)

4. Мацкевич В.В., Власенко М.Ю., Хоменко В. В. Особливості бульбоутворення з живців рослин *in vitro* сорту Подолянка залежно від компонентів живильного середовища «Картоплярство України»: Науково-виробничий журнал. 2009. № 3-4 (16-17). С. 23-27. (особистий внесок 45%)

5. Мацкевич В.В., Власенко М.Ю., Кононенко О.І., Шовкун І.Ю. Індукування бульбоутворення та генезис асимілюючих органів рослин картоплі в асептичних і нативних умовах Збірник наукових праць Уманського державного аграрного університету. Агрономія. Умань. 2009. Вип. 71. С. 44-50. (особистий внесок 35%)

6. Мацкевич В.В., Власенко М.Ю., Філіпова Л.М. Ефективність тривалого клонального мікророзмноження *Thuja occidentalis* 'Smaragd' залежно від компонентів живильного середовища та стану експлантів. Збірник наукових праць Уманського державного аграрного університету. Агрономія Умань. 2010. Вип. 74. С.324-329. (особистий внесок 45%)

7. Мацкевич В.В., Власенко М.Ю. Філіпова Л.М. Детермінація онтогенезу рослин картоплі в умовах *in vitro* новими синтетичними фітогормонами Таврійський науковий вісник. Херсонський державний аграрний університет, Херсон. 2010. Вип. 71. Ч. 2. С.12-18. (особистий внесок 35%)

8. Мацкевич В.В., Філіпова Л.М., Власенко М.Ю., Дульнєв П.Г. Застосування нових синтетичних фітогормонів для детермінації онтогенезу рослин картоплі в умовах *in vitro*. Збірник наукових праць Уманського національного університету садівництва. Агрономія. Умань. 2011. Вип. 75. Ч. 1. С. 115-121. (особистий внесок 35%)

9. Мацкевич В.В., Козак Л.А., Філіпова Л.М. Особливості введення *in vitro* та клонального мікророзмноження *Astrophytum tyriostigma* та *Sclerocactus* sp. Збірник

наукових праць Білоцерківського державного аграрного університету. *Агробіологія*. Біла Церква. 2012. Вип. 8 (94). С. 115-118. (особистий внесок 45%)

10. Мацкевич В.В., Філіпова Л.М., Стадник А.П. Особливості введення *in vitro* та клонального мікророзмноження *Hosta* *Агроекологічний журнал*. 2012. Вип. 4. С. 81-88.

11. Мацкевич В.В., Філіпова Л.М. Удосконалення технології клонального мікророзмноження *Miscanthus giganteus*. *Збірник наукових праць Уманського національного університету садівництва. Агронімія*. Умань, 2012. Вип. 80, Ч. 1. С. 129-136. (особистий внесок 75%)

12. Мацкевич В.В., Філіпова Л.М. Особливості регенерації рослин картоплі з живців залежно від субстрату та площі живлення. *Збірник наукових праць Білоцерківського державного аграрного університету. Серія Агробіологія*. Біла Церква. 2013. Вип. 10 (100). С. 30 –33. (особистий внесок 65%)

13. Мацкевич В.В., Філіпова Л.М., Диба Р.Д. Особливості стерилізації експлантів хости. *Науковий вісник НЛТУ: збірник науково — технічних праць*. Львів: РВВ НЛТУ України. 2013. Вип. 23.5. С. 183-187. (особистий внесок 45%)

14. Matskevych V., Filipova L., Dyba R. *In vitro* regeneration introduction in dormancy state as a way of post-aseptic adaptation. *Агробіологія*. 2013. № 11 (104). С. 19-23. (особистий внесок 50%)

15. Філіпова Л., Мацкевич В. Утворення регенерантами фенолоподібних речовин під час перших субкультивувань залежно від умов та виду рослин. *Вісник Львівського національного аграрного університету. Агронімія*. 2013. № 17 (2). С. 233-239. (особистий внесок 65%)

16. Стадник А.П., Філіпова Л.М., Мацкевич В.В. Екологічні особливості трофічної та гормональної детермінації ризогенезу *in vitro* регенерантів хости. *Агроекологічний журнал*. 2014. № 3. С. 75-80. (особистий внесок 35%)

17. Стадник А.П., Мацкевич В.В., Філіпова Л.М., Пасічник Т.В. Деконтамінація та первинне культивування експлантів *Agarantus sp.* *Агроекологічний журнал*. 2015. № 2. С. 106-111. (особистий внесок 35%)

18. Matskevych V., Filipova L. Using cytokinin sinberries clonal micropropagation. *Збірник наукових праць Білоцерківського державного аграрного університету. Агробіологія*. Біла Церква. 2015. № 1 (117). С. 91-95. (особистий внесок 55%)

19. Matskevych V., Filipova L. Exogenous phytohormones influence on the blackberry (*Rubus Fruticosus* L.) regenerates development and tools of their reduction in postaseptic culture. *Збірник наукових праць Білоцерківського державного аграрного університету. Агробіологія*. Біла Церква. 2015. № 2 (118). С. 133-137. (особистий внесок 55%)

20. Мацкевич В. В., Подгаєцький А. А. Особливості використання форми і кількості заліза за вирощування *in vitro* ожини і малини. *Науковий журнал Вісник Сумського національного аграрного університету. Агронімія і біологія*. 2015. - Вип. 9 (30). С. 46-51. (особистий внесок 50 %)

21. Подгаєцький А.А., Мацкевич В.В., Врублевський А.Т. Використання біоциду РРМ як додаткового деконтамінанта в процесі мікроклонального розмноження рослинних об'єктів. *Науковий журнал Вісник Сумського національного аграрного університету. Агронія і біологія*. 2016. Вип. 9(32). С. 156-160. (особистий внесок 45%)
22. Скрипченко Н.В., Мацкевич В.В., Філіпова Л.М., Кибенко І.І. Особливості мікроклонального розмноження представників роду *Actinidia*. *Інтродукція рослин: Міжнародний науковий журнал*. 2017. N 1. С. 88-96. (особистий внесок 35%)
23. Андрієвський В.В., Врублевський А.Т., Філіпова Л.М., Мацкевич В.В., Мацкевич О.В. Проблеми мікроклонального розмноження фундука. *Агробіологія*. 1'2019. С. 74-84. (особистий внесок 35%)
24. Мацкевич В. В. Особливості детермінації онтогенезу павловнії *in vitro* синтетичними гормонами. *Науковий журнал Вісник Сумського національного аграрного університету. Агронія і біологія*. 2018. Вип. 9(36). С. 76-82.
25. Мацкевич В. В. Оптимізація введення в культуру *in vitro* кизилю. *Науковий журнал Вісник Сумського національного аграрного університету. Агронія і біологія*. 2018. Вип. 3(35). С. 113-118.

#### Статті у міжнародних фахових виданнях

26. Ищук Л.П., Мацкевич В.В. Размножение энергетических видов *Salix L. in vitro*. *Биотехнология и общество в XXI веке : сборник статей*. Барнаул : Изд-во унта, 2015. С. 352-356. (особистий внесок 50%)
27. Filipova L.M., Matskevych V.V., Karpuk L.M., Stadnyk A.P., Andriievsky V.V., Vrublevsky A.T., Krupa N.M., Pavlichenko A.A. Features of Rooting Paulownia *in vitro*. *Egypt.J.Chem.* 2019. 72nd. P.57-63. Журнал індексований у метричній базі Scopus. (особистий внесок 35%)
28. Мацкевич В.В., Таран О.П. Развитие туи западной (*Thuia occidentalis L.*) в асептической культуре и усовершенствование культуры *ex vitro*. «Биотехнология как инструмент сохранения биоразнообразия ратительного мира». Волгоград. 2010. С.235-240. (особистий внесок 70 %)
29. Подгаєцький А.А., Мацкевич В.В., Філіпова Л.М., Кравченко Н. В., Гнітецький М.О. Адаптивність рослин на етапі *in vitro-ex vitro*. *East European Science Journal*. 2020. 4 (56). Part 2. P. 25-33. (особистий внесок 45%)
30. Podhaietskiy A. A., Matskevych V. V., Filipova L. M., Skripchenko N. V., Kravchenko N. V. Trophic and hormonal determinants of ontogenesis *Actinia chenensis var. deliciosa (A. Chev.) in vitro* at the cultivation stage: *East European Science Journal*. 2020 #10(62). P. 17-24. (особистий внесок 35%)
31. Podhaietskiy A. A., Matskevych V. V., Filipova L. M., Kravchenko N. V. Exogenous determinants of growth of *Pavlovnia* regenerant *in vitro*. *The scientific heritage*. 2020. Vol. 2. No. 53 (53). P. 5-15. (особистий внесок 35%)

### Праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації

1. Васильківський С.П., Мацкевич В.В. Перспективи створення та функціонування фітобіотехнологічних лабораторій. Аграрна наука – виробництву. *Матеріали тез VI Державної науково-практичної конференції* 14-15 листопада 2007 року. Частина 1. м. Біла Церква. С. 17-18.
2. Власенко М.Ю., Мацкевич В.В., Дульнєв П.Г., Козак А.Л., Детермінація онтогенезу рослин картоплі в умовах *in vitro* синтетичними фітогормонами класу цитокінінів. *“Інноваційні агротехнології в умовах глобального потепління. Матеріали тез міжнародної науково-практичної конференції.* 4-6 червня. 2009 р. Мелітополь-Кирилівка. Вип. 1., с.24-25.
3. Таран О.П., Мищенко Л.Т., Мацкевич В.В. Использование новых синтетических фитогормонов и их аналогов в культуре картофеля *in vitro* и *ex vitro*. . *Инновационные фундаментальные и прикладные исследования в области химии сельскохозяйственному производству: Материалы III Международной Интернет-конференции.* Орел: Изд-во Орел ГАУ, 2010. С.36-41
4. Філіпова Л.М., Мацкевич В.В., Вплив екзогенної сахарози на формування асимілюючих органів в рослин картоплі *in vitro*. *Новітні технології в рослинництві. Тези доповідей державної науково-практичної конференції* 8-9 листопада 2012 року. м. Біла Церква. С. 3.
5. Мацкевич В.В., Філіпова Л.М. Введення регенерантів *in vitro* у стан спокою як шлях постасептичної адаптації. Тези доповідей міжнародної науково-практичної конференції молодих учених, аспірантів і докторантів “Наукові пошуки молоді у третьому тисячолітті” 16-17 травня 2013 р. м. Біла Церква. С. 7.
6. Мацкевич В.В. Дибба Р.Д., Філіпова Л.М. Особливості введення *in vitro* *Agarantus umbellatus*. *Новітні технології в рослинництві. Тези доповідей державної науково-практичної конференції* Біла Церква, 2013. С. 4.
7. Мацкевич В.В., Філіпова Л.М., Сінельник О.О. Сумісне використання гіберелінів та цитокінінів у культурі тканин. *Актуальні проблеми озеленення населених місць: освіта, наука, виробництво, мистецтво формування ландшафту. Матеріали II Міжнародної наукової конференції* 4-6 червня 2014 р. м. Біла Церква. С. 69-70.
8. Filipova L, Matskevych V, Karpuk L, Andriievsky V, Vrublevsky A, Pavlichenko A Features of paulownia plants post-septic adaptation. *Abstract is a part of Multidisciplinary Conference for Young Researchers held in Bila Tserkva on 22nd November 2019 within the framework of the project Support of young university capacity in education and research and science activities in Ukraine (2019), financed by Czech Republic Development Cooperation.* P. 50-53.
9. Мацкевич В.В., Філіпова Л.М. Деконтамінація експлантів агапантусу. *“Аграрна наука — виробництву» «Новітні технології у рослинництві” Тези доповідей Державної науково-практичної конференції:* листопад 2014 р. м. Біла Церква. С. 10.

10. Мацкевич В.В., Філіпова Л.М. Застосування цитокінінів за мікроклонального розмноження ягідних культур. *Новітні технології в рослинництві. Тези доповідей державної науково-практичної конференції молодих вчених, аспірантів та докторантів* 14-15 травня 2015 (БНАУ, м. Біла Церква). С. 8-9.

11. Мацкевич В.В., Філіпова Л.М. Андрієвський В.В. Фотоавтотрофний метод мікроклонального розмноження ожини. *Сучасні агробіотехнології та землеустрій в Україні. Тези доповідей Державної науково-практичної конференції* 19 листопада 2015 р. (м. Біла Церква). С. 8-9.

12. Мацкевич В.В., Філіпова Л.М. Гіпергідратація *in vitro* та її чинники. *Наукові пошуки молоді в третьому тисячолітті. Тези доповідей Міжнародної науково-практичної конференції молодих вчених, аспірантів і докторантів* БНАУ, Біла Церква, 19–20 травня 2016 року. С. 31.

13. Мацкевич В.В., Філіпова Л.М. Вплив заліза на гіпергідратацію *in vitro* регенерантів ягідних культур. *Досягнення та перспективи генетики, селекції і рослинництва зернових культур. Миронівський інститут пшениці ім. В.М. Ремесла НААН*. 14-15 червня 2016. С. 121-122

14. Мацкевич В.В., Филиппова Л.Н. Особенности микроклонального размножения представителей рода *Actinidia*. *Технология органических веществ : Тезисы докладов 81-ой научно-технической конференции профессорско-преподавательского состава научных сотрудников и аспирантов (с международным участием)*, 1-12 февраля 2017 г. Белорусский государственный технологический университет. Минск: БГТУ, 2017. С.34-35.

15. V. Andriyevskyy, V. Matskevych, L. Filipova Plant processing *in vitro* with lowered positive temperatures as a way of post-aseptic adaptation. *Тези доповідей: «Наукові пошуки молоді у третьому тисячолітті: матеріали міжнародної науково-практичної конференції молодих учених, аспірантів і докторантів»*. м. Біла Церква, 18 та 23 травня 2017 р. Біла Церква, 2017. Ч. 1. С. 23-24

16. Філіпова Л.М., Мацкевич В.В. Протокол мікроклонального розмноження аличі, сливи, персика та підщепи персика. *«Актуальні проблеми озеленення населених місць: освіта, наука, виробництво, мистецтво формування ландшафту» Тези доповідей учасників III Міжнародної науково-практичної конференції*. Біла Церква. 2017/5. С. 141-142.

17. Врублевський А.Т., Філіпова Л.М., Мацкевич В.В. Особливості боротьби із фенолоутворенням за введення ліщини *in vitro*. *«Аграрна наука – виробництву» Тези доповідей державної науково-практичної конференції*. М. Біла Церква, 17 листопада 2016 року. Біла Церква, 2016. Ч. 2. С. 65-67.

18. Мацкевич В.В., Філіпова Л.М., Мацкевич О.В. Удосконалення технології мікроклонального розмноження *Prúnus pérsica* на етапі введення в асептичну культуру. *Сучасні агробіотехнології та землеустрій в Україні. Матеріали державної науково-практичної конференції*. 23 листопада 2017 року. Біла Церква. 2017. С. 21-23.

19. Мацкевич В.В., Філіпова Л.М. Розробка технології одержання кореневласних саджанців вітчизняних сортів персика *Сучасні проблеми ведення сільського господарства та підготовки фахівців аграрного профілю. Тези Міжнародної науково-практичної конференції* 15 лютого 2018, Біла Церква, БНАУ. С. 16-17.

20. Філіпова Л.М., Мацкевич В. В., Мацкевич О. В. Ризогенез павловнії *in vitro*. «Аграрна освіта та наука: досягнення, роль, фактори росту. Інноваційні технології в агрономії, агрохімії та екології. Землеустрій та кадастри у сучасних умовах: проблеми та вирішення». *Матеріали Міжнародної науково-практичної конференції*. 27-28 вересня 2018 року. – Біла Церква, 2018. – С. 19-20.

21. Подгаєцький А. А., Мацкевич В. В., Філіпова Л. М., Кравченко Н. В. «Проблеми постасептичної адаптації рослин». *VII Международная научно-практическая конференция “Dynamics of the development of word Science»*. 18-20 марта 2020. Wankuwer, Kanada. С. 662-675.

22. Мацкевич В. В. Мікроклональне розмноження рослин: введення в культуру. *Гончарівські читання. Матеріали міжнародної науково-практичної конференції* 25-26 травня 2020 р., Суми, Сумський національний аграрний університет. 2020. С. 31-32.

## АНОТАЦІЯ

**Мацкевич В. В. Мікроклональне розмноження видів рослин *in vitro* та їх постасептична адаптація. Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису**

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора сільськогосподарських наук за спеціальністю 06.01.05 – «селекція і насінництво. Сумський національний аграрний університет МОН України, Суми, 2020.

На підставі багаторічних досліджень у дисертації наведено теоретичне узагальнення та нове вирішення актуальної проблеми сільськогосподарського виробництва – використання мікроклонального розмноження видів рослин *in vitro* для звільнення від різного виду інфекції: бактеріальної, грибною та вірусної, збереження рослин у стані ювенілізації з урахуванням специфічного прояву їх біологічних особливостей та постасептична адаптація.

Доведено вплив різних частин організмів, їх онтогенетичної різноякісності, втрати інтегральних та кореляційних зв'язків за введення рослин у асептичну культуру. На прикладі шипшини, троянди виявлено оптимальне приживлення експлантів, виділених із «зеленого конусу» і не отримано жодного позитивного результату з використанням рослин, які знаходились у глибокому спокою. В актинідії такою виявилась апікальна частина пагона, туї західної – пагін проростка.

Залежно від місця знаходження інфекції, її типу, біологічних особливостей експлантів для деконтамінації слід використовувати різні речовини: Білизну (1:1) у поєднання з перманганатом калію, антибіотики (левоміцетин 125 мг/л + гентаміцин сульфат 80 мг/л), фунгіциди (Превікур Енерджі 840 SL, МАКСИМ ФОРТЕ, Фундазол (концентрації 3 мл/л), біоцид РММ (2 мл/л).

Розроблено модель запобігання утворення регенерантами фенолоподібних речовин. Доведено можливість соматоклональної мінливості в культурі *in vitro*, що дало змогу виділити клон павловнії 112-3.

Виявлено особливий прояв ювенілізації *in vitro* туї західної, картоплі. У павловнії, картоплі, хризантеми, гвоздики, хости мала місце онтогенетична різноякісність рослин *in vitro* залежно від походження живців. Виявлені способи зняття апікального домінування на період культивування і збільшення коефіцієнта розмноження у трьох сортів хости.

Встановлено детермінацію онтогенезу *in vitro* в картоплі під впливом зміни складу живильного середовища, низьких температур, режимів та спектра освітлення.

Доведено можливість нівелювання апікального домінування за використання цитокинінів: БАП (0,5 мг/л) на фоні ІМК (0,25 мг/л). Фітотоксичність БАП можна знизити, використовуючи гібереліни.

Розроблено заходи, які дали змогу мінімізувати гіпергідратацію пробіркових рослин. Виявлено вплив цитокинінів на бульбоутворення картоплі *in vitro*. Культивування картоплі на середовищі з картопляним крохмалем або екстрактом бульб, замість сахарози та агару, позитивно вплинуло на розвиток кореневої системи, столонів, зменшило період від живцювання до бульбоутворення. У картоплі, ожини кращий ріст і розвиток рослин *in vitro* спостерігався після заміни халатної форми заліза в середовищі Мурасіге і Скуга на добриво Ferrileme 4.8 Orto-Orto.

Доведено позитивний вплив на ризогенез хости *in vitro* збільшення фотоперіоду з 8 до 16 годин на добу, а також заміна ІОК (1–5 мг/л) на ІМК (1–5 мг/л). Не виявлено істотної різниці в прояві показників коренеутворення у сорту хости Патріот після заміни активованого вугілля (1,5 г/л) на деревне (2,5 г/л).

Виявлено, що для приживлення живців під час постасептичної адаптації регенерантів сорту картоплі Подолянка кращими субстратами були гідрогелі та перліт.

**Ключові слова:** трав'янисті культури, чагарники, деревні, онтогенез *in vitro*, експлант, апікальні, медіальні, базальні частини пагона, деконтамінація, стерилізуючі речовини, склад живильного середовища, фенолоподібні речовини, соматоклональна мінливість, ювенілізація, апікальне домінування, субкультивування, детермінація органогенезу, інтенсивність освітлення, температура, фітогормони, мікробульби, форми заліза, модифіковані середовища, кислотність середовища, фотоперіод, активоване та деревне вугілля, субстрати.

## АННОТАЦІЯ

**Мацкевич В. В. Микроклональное размножение видов растений *in vitro* и их постасептическая адаптация. Квалификационный научный труд на правах рукописи**

Диссертация на соискание ученой степени доктора сельскохозяйственных наук по специальности 06.01.05 селекция и семеноводство. Сумской национальной аграрный университет МОН Украины, Сумы, 2020.

На основании многолетних исследований в диссертации приведено теоретическое обобщение и новое решение актуальной проблемы сельскохозяйственного производства – использование микрклонального размножения видов растений *in vitro* для освобождения от различного вида инфекции: бактериальной, грибковой и вирусной, сохранение растений в состоянии ювенилизации с учетом специфического проявления их биологических особенностей и постасептическая адаптация.

Доказано влияние различных частей организмов, их онтогенетической разнокачественности, потери интегральных и корреляционных связей при введении растений в асептическую культуру. На примере шиповника, розы обнаружено оптимальное приживание эксплантов, выделенных из «зеленого конуса» и не получено ни одного положительного результата с использованием растений, которые находились в глубоком покое. В актинидии такой оказалась апикальная часть побега, туи западной – побег проростка.

В зависимости от места нахождения инфекции, ее типа, биологических особенностей эксплантов для деконтаминации следует использовать различные вещества: Белизна (1: 1) в сочетании с перманганатом калия, антибиотики (левомицетин 125 мг / л + гентамицин сульфат 80 мг / л), фунгициды (Превикур Енерджи 840 SL, МАКСИМ ФОРТЕ, Фундазол (в концентрации 3 мл / л), биоцид РММ (2 мл / л).

Разработано модель предотвращения образования регенерантами фенолоподобных веществ. Доказано возможность соматклональной изменчивости в культуре *in vitro*, что позволило выделить клон павловнии 112-3.

Обнаружено особое проявление ювенилизации *in vitro* туи западной, картофеля. В павловнии, картофеля, хризантемы, гвоздики, хосты выявлена онтогенетическую разнокачественность растений *in vitro* в зависимости от происхождения черенков. Выделены способы снятия апикального доминирования на период культивирования и увеличения коэффициента размножения в трех сортов хосты.

Установлено детерминацию онтогенеза *in vitro* в картофеле под влиянием изменения состава питательной среды, действия низких температур, режимов и спектра освещения.

Доказано возможность нивелирования апикального доминирования за счет использование цитокининов: БАП (0,5 мг / л) на фоне ИМК (0,25 мг / л). Фитотоксичность БАП можно снизить, используя гиббереллины.

Разработано мероприятия, которые позволили минимизировать гипергидратацию пробирочных растений. Выявлено влияние кинетинов на клубнеобразование картофеля *in vitro*. Культивирование картофеля на среде с картофельным крахмалом или экстрактом клубней, вместо сахарозы и агара положительно повлияло на развитие корневой системы, столонов, уменьшило период от черенкования к клубнеобразованию. В картофеля, ежевики способствовало



более интенсивному росту и развитию растений *in vitro* замена халатной формы железа в среде Мурасиге и Скуга на удобрение Ferrileme 4.8 Orto-Orto.

Доказано положительное влияние на ризогенез хосты *in vitro* увеличение фотопериода с 8 до 16 часов в сутки, а также замена ИОК (1–5 мг / л) в ИМК (1–5 мг/л). Не выявлено существенной разницы в проявлении показателей корнеобразования у сорта хосты Патриот после замены активированного угля (1,5 г/л) на дересное (2,5 г/л).

Выявлено, что для приживания черенков во время постсептической адаптации регенерантов сорта картофеля Подольнка лучшими субстратами были гидрогели и перлит.

**Ключевые слова:** травянистые культуры, кустарники, древесные, онтогенез *in vitro*, экспланты, апикальные, медиальные, базальные части побега, деконтаминация, стерилизующие вещества, состав питательной среды, фенолоподобные вещества, соматоклональная изменчивость, ювенилизация, апикальное доминирование, субкультивирование, детерминация органогенеза, интенсивность освещения, температура, фитогормоны, микроклубни, формы железа, модифицированные среды, кислотность среды, фотопериод, активированный и древесный уголь, субстраты.

## ANNOTATION

**Matskevich V.V. Microclonal propagation of plant species in vitro and their post-septic adaptation. Qualifying scientific work on the rights of the manuscript**

The dissertation on competition of a scientific degree of the doctor of agricultural sciences on a specialty 06.01.05 - breeding and seed-growing". Sumy national agrarian university of the Ministry of Education and Science of Ukraine, Sumy, 2020.

Based on many years of research, the dissertation provides a theoretical generalization and a new solution to the current problem of agricultural production - the use of microclonal propagation of plant species in vitro to rid various infections: bacterial, fungal and viral, preservation in the state of juvenile taking into account the specific manifestation of their biological characteristics. adaptation.

The influence of different parts of organisms, their ontogenetic diversity, loss of integral and correlation connections during the introduction of plants into aseptic culture is proved. The example of dog rose and rose revealed the optimal engraftment of explants isolated from the "green cone" and no positive results were obtained using plants that were in deep dormancy. In actinidia, this was the apical part of the shoot, the western one - the shoot of the seedling.

Depending on the location of the infection, its type, biological characteristics of explants for decontamination should use different substances: "Linen" (1: 1) in combination with potassium permanganate, antibiotics (chloramphenicol 125 mg / l + gentamicin sulfate 80 mg / l), fungicides (Previcur Energy 840 SL, Maxim forte, Fundvzol at a concentration of 3 ml / l), PPM biocide (2 ml / l).

A model for preventing the formation of phenol-like substances by regenerants has been developed. The possibility of somaclonal variability in in vitro culture was proved, which allowed to isolate a clone of Paulownia 112-3.

A special manifestation of in vitro juvenile thuja of western thuja was revealed. In paulownia, potatoes, chrysanthemums, carnations, hosts, ontogenetic diversity of plants in vitro depending on the origin of cuttings was revealed. Methods for removing apical dominance for the cultivation period and increasing the reproduction rate in three host varieties have been identified.

Determination of in vitro ontogenesis in potatoes under the influence of changes in the composition of the nutrient medium, the action of low temperatures, modes and light spectrum.

The possibility of leveling apical dominance with the use of cytokinins has been proved: BAP (0.5 mg / l) against the background of IBA (0.25 mg / l). The phytotoxicity of BAP can be reduced by using gibberellins.

Measures have been developed to minimize the hyperhydration of test tubes. The effect of kinetins on potato tuber formation in vitro was revealed. When cultivating potatoes, on a medium with potato starch or tuber extract, instead of sucrose and agar, it had a positive effect on the development of the root system, stolons, reduced the period from grafting to tuber formation. In potatoes, blackberries had a positive effect on plant growth and development in vitro replacement of the negligent form of iron in Murasige and Skuga by Ferrileme 4.8 Orto-Orto.

Proven positive effect on rhizogenesis of hosts in vitro increase in the photoperiod from 8 to 16 hours. per day, as well as the replacement of IAA (1-5 mg / l) with IBA (1-5 mg / l). There was no significant difference in the manifestation of rooting in the host variety Patriot after the replacement of activated carbon (1.5 g / l) with wood (2.5 g / l).

It was found that hydrogels and perlite were the best substrates for engraftment of cuttings during postseptic adaptation of Podolyanka potato regenerators.

**Key words:** herbaceous crops, shrubs, trees, in vitro ontogenesis, explant, apical, medial, basal parts of the shoot, decontamination, sterilizing substances, Nutrient composition, phenol-like substances, somaclonal variability, juveniletion, apicaltermino dominance, light intensity, temperature, phytohormones, microbulbs, forms of iron, modified media, acidity of the environment, photoperiod, activated and ethereal coal, substrates.

Підписано до друку 01.12.2020.  
Формат 60\*84<sup>1</sup>/<sub>16</sub>. Ум. друк. арк. 1,6. Тираж 100. Зам. 7065.  
РВІКВ, Сектор оперативної поліграфії БНАУ  
09117, Біла Церква, Соборна пл., 8, тел. 33-11-01.