

and therapeutic implications. Pharmacology & therapeutics, vol. 89 (2), 2001.p.187-206.

3. Giaccia A. J., Simon M. C. and Johnson R. The biology of hypoxia: the role of oxygen sensing in development, normal function, and disease. Genes&Development. 2004 18: p.2183- 2194.

4. Bruder E. D., Raff H. Cardiac and plasma lipid profiles in response to acute hypoxia in neonatal and young adult rats. Lipids in Health and Disease. 9(1):3. January 2010. - p.1 – 6.

5. Мекенбаева Р.Т., Фаттахов А. Р. Изменения в миокарде при гипоксии умерших новорожденных. Медицинский журнал Узбекистана. 2012. № 5. -С. 7-9.

6. Шамиров А.К., Курбанов С.Д., Азимова Э.И. Морфологическая характеристика плацент женщин, страдающих хроническим пиелонефритом // Педиатрия спец выпуск 1999. - С. 79-81.

7. Чарный А.М. Патофизиология гипоксических состояний. – М.: Медгиз, 1961. - С. – 343.

8. Меерсон Ф.З., Пшеничкова М.Г. Адаптация к стрессовым ситуациям и

физиологическим нагрузкам. - М.: Медицина, 1988. - С. – 256 - 74–107.

9. Harman D. A biologic clock: the mitochondria // J. Am. Geriatrics Soc. – 1972. – Vol. 20. – p.145– 147.

10. Silachev D.N. The Mitochondrion as a Key Regulator of Ischaemic Tolerance and Injury. Heart Lung Circ. – 2014. – Vol. 23 – p. 897- 904.

11. Бергельсон Л. Д., Дятловицкая Э. В., Молотковский Ю. Г. и др. Препаративная биохимия липидов. отв. ред. Бергельсон Л. Д. - Москва: Наука, 1981. –С. 259.

12. Реброва Т.Ю., Афанасьев С.А., Перчаткин В.А., Максимов И.В., Марков В.А. Экспер. клин.фармакол., (2004). 67 (2).-С.27-30.

13. Wang W, Toran P.T, Sabol R.J, Brown T.J. Epigenetics and Sphingolipid Metabolism Health and Disease. Int J Biopharm Sci. 2018 an;l(2):105 -p.2-4

14. Zheng, W., Kollmeyer J., Symolon H., Momin A., Munter E., Wang E., Kelly S., Allegood J. C., Liu Y., Peng Q. et al. 2006. Ceramides and other bioactive sphingolipid backbones in health and disease: lipidomic analysis, metabolism and roles in membrane structure, dynamics, signaling and autophagy. Biochim. Biophys. Acta. 1758:-p.1864–1884.

УДК 581.143:635.21:631.531

¹*Podhaietskyi Anatolii Adamovich.*

Doctor of Agricultural Science

²*Matskevych Vyacheslav Viktorovich,*

Candidate of Agricultural Science

²*Filipova Larisa Mykolayivna,*

Candidate of Agricultural Science

¹*Kravchenko Nataliya Volodimirivna.*

Candidata of Agricultural Science

¹*Hnitetskyi Maksim Olehovich,*

PhD

ADAPTIVITY OF PLANTS IN STAGE IN VITRO-EX VITRO

¹*Подгаєцький Анатолій Адамович,*
д. с.-г. н., професор

²*Мацькевич В'ячеслав Вікторович,*
к. с.-г. н., доцент

²*Філіпова Лариса Миколаївна,*
к. с.-г. н., доцент

¹*Кравченко Наталія Володимирівна,*
к. с.-г. н., доцент

¹*Гнітецький Максим Олегович,*
аспірант

¹*Сумський національний аграрний університет,*
Україна, м. Суми, вул. Г. Кондратьєва 160, 40021

²*Білоцерківський національний аграрний університет, м. Біла Церква, Україна*

АДАПТИВНІСТЬ РОСЛИН НА ЕТАПІ IN VITRO-EX VITRO

Abstract. The results of studies on generalization of ways to improve the adaptation of test tubes in vitro-ex vitro are presented. The causes of stressful situations that cause changes in metabolism, anatomically-morphological, and restructuring of the whole organism in the process of growing under in vitro conditions are described, which ultimately influences the postseptic healing of plants. Taking into account the biological characteristics of the studied cultures, different approaches have been tested to reduce material loss in the in vitro-ex vitro. The possibility of using to increase the adaptability of test tubes to the state of their dormancy has been proved, which will allow the regenerating plants to "prepare" for stress. This was confirmed in experiments with

potatoes, hostas, raspberries, blueberries and other crops. Considering that the success in plant engraftment in the postaseptic period is largely due to the presence of a well-developed root system, plants *in vitro* should successfully shape it. For this purpose cultivation on depleted mineral nutrient solutions is used, depending on the needs to adjust the concentration of phyto-alexins and to select those that would contribute to the greatest effect. In working with individual cultures, positive results are obtained by adding activated carbon to the culture medium. Often the better engraftment of test tube plants is facilitated by the use of mycorrhizal fungi, although this technology is often complicated. The use of antiseptic chemicals also has a positive effect on reducing losses in the process of engraftment of test tubes.

Анотація. Наведені результати досліджень з узагальнення способів поліпшити адаптації пробіркових рослин на етапі *in vitro-ex vitro*. Описані причини стресових ситуацій, які обумовлюють зміни метаболізму, анатомо-морфологічні, перебудови всього організму у процесі вирощування в умовах *in vitro*, що в кінцевому результаті впливає на постасептичне приживлення рослин. З урахуванням біологічних особливостей досліджуваних культур випробовувались різні підходи для зниження втрат матеріалу на етапі *in vitro-ex vitro*. Доведена можливість використання для підвищення адаптивності пробіркових рослин стану їх спокою, що дозволить рослинам-регенерантам «підготувитись» до стресу. Викладене підтвердилось у експериментах з картоплею, хостою, малиною, лохиною та іншими культурами. Зважаючи, що успіхи в приживленні рослин у постасептичний період великою мірою обумовлені наявністю добре розвиненої кореневої системи, рослини *in vitro* повинні успішно формувати її. Для цього використовується культивування на збіднених мінеральних поживних розчинах, залежно від потреб коригувати концентрацію фіто алексинів та підбирати такі, які б сприяли найбільшому ефекту. У роботі з окремими культурами позитивні результати отримують, додаючи в живильне середовище активоване вугілля. Часто кращому приживленні пробіркових рослин сприяє використання мікоризних грибів, хоча ця технологія нерідко буває складною. Використання хімічних препаратів-антисептиків також позитивно впливає на зменшенні втрат у процесі приживлення пробіркових рослин.

Keywords: *in vitro, ex vitro, adaptation, dormancy, plants, phyto-alexins, nutrient composition, chemicals.*

Keywords: *in vitro, ex vitro, адаптація, стан спокою, рослини, фіто алексини, склад живильного середовища, хімічні препарати.*

Постановка проблеми. Незважаючи на пошуки раціональних шляхів виконання досліджень з мікроклонального розмноження рослин і до нинішнього часу існує чимало високо затратних процесів, пов'язаних з ним, не вирішено шляхи оптимізації окремих з них. Навіть, порівнюючи із введенням в культуру *in vitro* досліджуваного матеріалу, адаптивність рослин-регенерантів до умов *ex vitro* більш складна проблема застосування методу [1, 2]. Біологічні особливості культур не дозволяють повною мірою використовувати розробки стосовно збереження рослин на етапі *in vitro – ex vitro* (нестерильні умови), а тому численні дослідники відмічають великі втрати матеріалу саме в цей період [3, 4].

Аналіз останніх досліджень та публікацій. До нинішнього часу запропоновано чимало способів підвищення адаптації рослин в період *in vitro – ex vitro* [5, 6]. За їх використання робиться спроба врахувати фізіолого-анатомічні особливості пробіркових рослин [7], стан їх розвитку, проведення підготовчих процесів до пересадження *ex vitro*.

Ціль дослідження. Використовуючи різні підходи, підвищити адаптивність пробіркових рослин на етапі *in vitro-ex vitro*.

Результати дослідження та обговорення. Основи пристосувального метаболізму, анатомічних, морфологічних змін окремих органів, організму, у цілому, закладаються в апікальних меристемах. Вони, в свою чергу, є результатом процесів, що індукуються умовами культивування. На нашу думку, саме ці особливості стану меристем і швидкість зміни в них впливають на

пристосування за двох типів адаптації: 1 - ведення меристем з нативних умов в пробіркові; 2 – постасептична адаптація. Якщо в першому випадку біотехнологам доводиться вирішувати проблему з невеликою частиною матеріалу, то в останньому ефективність адаптації впливає на комерціалізацію садивного матеріалу. Технологічно активність меристем (баланс гормонів, анатомо-морфологічні особливості, тощо) необхідно «перезавантажити». У природі відомі аналоги такого процесу. Це входження рослин у стан спокою, що дозволяє їм подолати несприятливі умови і почати життєвий цикл з початку у вигляді нового організму: насінини, чи органу вегетативного розмноження. Пошук методів використання спокою рослин-регенерантів, які б дозволили покращити постасептичну адаптацію, часто є актуальною метою досліджень для комерційних технологій мікроклонального розмноження.

Проростання насінини, або бульби, починаючи з першого етапу органогенезу, і впродовж життєвого циклу, у рослин відбувається адаптація до умов навколишнього середовища. Ще в минулому столітті Ф.М. Куперман [8] встановила, що навколишні умови під час онтогенезу визначають особливості формування органів і тканин організму, в яких у свою чергу, закладаються пристосування до них. Таким чином, дочірній організм: насіння, чи орган вегетативного розмноження готується до дії факторів навколишнього середовища ще в генеративному періоді материнської рослини.

Зокрема, нами раніше було успішно використано введення рослин у стан спокою, як

спосіб адаптації рослин *in vitro*, для картоплі та хости [9]. За висаджування в закритий ґрунт розсади та мікробульб виявлено відмінності в рості рослин картоплі. Розсаду висаджували в закритий ґрунт вже із сформованою (пагін з листками) надземною частиною, а для мікробульб необхідно було 18 днів для появи перших сходів. У висаджених регенерантів встановлено різну кількість головних стебел у рослині та неоднакову глибину закладання столонів. Насадженням, сформованим із розсади, властиве одне стебло і не глибоке закладання столонів (1,5 см), а рослини картоплі, що вирости з мікробульб, мали два і більше пагонів.

Менша кількість столонів у насінневого матеріалу з розсади також пов'язана із можливими постасептичного пристосування рослин. Так, розсаді необхідний певний період для приживання, під час якого знижується тургор, що є сильним стресовим чинником. Як відомо, стрес стримує ріст і, відповідно, гальмує утворення більшої кількості вегетативних органів (в т.ч. і фотоасимілюючих, від яких залежить продуктивність), а також скорочує вегетацію, що в свою чергу позначається на продуктивності рослин. У нашому досліді в обох сортів картоплі в закритому ґрунті утворилось більше мінібульб у рослин, що вирости з мікробульб, ніж з розсади. Отже, введення картоплі *in vitro* в спокій (утворення мікробульб) покращує постасептичну адаптацію.

Іншим ботанічним видом, на якому досліджували вплив введення рослин *in vitro* в стан спокою, були регенеранти двох сортів хости. Найбільша кількість рослин, які прижились *ex vitro* була у варіанті, де вони пройшли стан спокою. За 60 днів культивування в цьому випадку сформувалась найбільша кількість пагонів, маса рослин, незважаючи на те, що в перші дні росту у них були лише невеликі та згорнуті пластинки. Проте, рослини обох сортів цього варіанту за розмірами і масою переважали інші варіанти в декілька разів. Зокрема рослини, вирощені з матеріалу, що не пройшов стан спокою, мали в середньому масу у сорту "Патріот" 0,5 г (розсада

без кореня) і 0,9 (розсада з коренем), проти 3,6 грам у рослин, що пройшли стан спокою.

Поряд із морфогенезом пагонів та коренів основним показником постасептичної адаптації є приживлення рослин. Якщо в картоплі між розсадою і мікробульбами не відмічалось чіткої різниці в приживленні асептичного матеріалу, а виявлена різниця лише за розвитком, то в хости приживлення рослин *in vitro* дуже відрізнялось за варіантами з індукцією і без індукції кореневої системи ауксинами. Зокрема, в сорту "Паульс Глорі" з розсади без кореня прижилося 37,8 % рослин, а з корінням – 56,6 %. Найбільший відсоток приживання становив у варіанті з рослинами, які пройшли стан спокою – 87,2. Подібна закономірність встановлена і в сорту "Патріот".

Таким чином, у дослідях з рослинами картоплі та хости встановлено, що введення *in vitro* регенерантів у спокій покращує їхнє постасептичне культивування, тобто, за таких умов краще відбувається адаптація [9].

Отримані результати підтверджені на рослинах *ex vitro* малини (сорт "Брусвяна", "Octavia", "Maravilla", температура +2-4°C), лохини (сорт "Patriot", "Bluecrop", температура +6-8°C), фундука (сорт Барселонський, +4-6°C). Пагони рослин дерев'яніли, бруньки збільшувалися в розмірах та вкривалися захисними криючими лусками, листя старіло й опадало. За підвищення температури відмічалось пробудження бруньок та спостерігався вирівняний ріст рослин після стану спокою.

Гапоненко М.Б. та Р.В. Іванніков [10] постасептичну адаптацію сіянців *Anacamptismorio* з родини орхідейних (*Orchidaceae*) розпочинали з того, що колби з регенерантами, які росли на живильному середовищі, переносили в прохолодне місце, імітуючи умови переходу до періоду спокою та з метою їхнього загартування.

В даний час нами в умовах ФГ "Беррі Фарм Юкрейн" вирощується садивний матеріал павловнії з використанням нетривалого дорожчування *ex vitro* та введення його в стан спокою (рис. 1). Умови зберігання рослин в стані спокою: температура +8 °C; вологість 45-55%.



Волога камера для постасептичної адаптації



Регенерант павловнії через тиждень після адаптації у вологій камері



Відростання бруньок в базальній частині (регенеранти павловнії після трьохтижневої адаптації та проходження спокою)

Рис. 1. Постасептична адаптація павловнії

Перед введенням в спокій рослини дорощувались на перлітовому субстраті. Це дозволило уникнути ураження їх комплексом хвороб, зокрема фузаріозом [11]. За висадки на перлітовий субстрат з подальшим введенням в спокій встановлені такі особливості: в регенерантів, які перед перенесенням в стан спокою дорощувались лише три тижні, відмирала

вся надземна частина. Пробудження відбувалось з відростання бруньок з базальної частини пагона. В регенерантів, що дорощувались чотири тижні – відмирало третина-половина частин пагона. Повноцінні мікродерева вдалось отримати за введення в стан спокою регенерантів дорощених *ex vitro* (рис. 2).



Відростання після спокою регенерантів, що проходили адаптацію впродовж трьох тижнів.

«Мікродерева», які утворюються під час спокою з рослин, що проходили два місяці адаптації.

Рис. 2. Стан рослин після проходження стану спокою залежно від періоду адаптації

На основі адаптації із введенням в стан спокою мікророслин у ТОВ «НВІЦ Ін Вітро Планта» (Україна, м. Одеса) зареєстрували власну торгову марку «MicroTrees», або «Мікродерева». За інформацією розробників [12] це «...продукція нового покоління, яка представляє собою нову окрему категорію посадкового матеріалу, що значно спрощує етапи його дорожництва, зберігання та контролю. В циклі виробництва рослин відсутній контакт із навколишнім середовищем. Виробництво даної категорії матеріалу відбувається без використання теплиць, однак продукція повністю готова до вирощування в умовах навколишнього середовища».

Якщо з різних технологічних чи організаційних причин, коли не вдається «перезавантажити» програму онтогенезу рослин *ex vitro*, підбирають умови, за яких такі зміни відбуваються без входження рослин в спокій.

Ефективність постасептичної адаптації значною мірою залежить від показників ризогенезу регенерантів. У більшості протоколів технологій МКР індуція коренеутворення є окремим етапом і рідше поєднується з мультиплікацією або відбувається під час адаптації. Рослини *in vitro* не мають потреби формувати розвинену кореневу систему внаслідок розміщення коріння у штучних живильних середовищах, забезпечених легкодоступними вологою та елементами живлення [13].

Індуція ризогенезу може бути: спонтанною, під час етапу мультиплікації, за останнього живцювання в умовах *in vitro* на змінених живильних середовищах – цитокінінауксиновий

індекс та розпочинатись з вирощування вихідних для живцювання рослин на середовищах, що індукують утворення кореневої системи, або мають малий вміст цитокінінів, що забезпечує ризогенез під час адаптації та постасептичного живцювання.

Зокрема, нами в дослідженнях з асептичною культурою хости [14, 15] встановлено індукуючий вплив умов вирощування рослин-донорів експлантів на ризогенез регенерантів під час культивування на середовищах з високим умістом ауксинів. Регенеранти з експлантів ізольованих із донорів, вирощених за довгого фотоперіоду, швидше розпочинали коренеутворення. Так, стосовно сорту Патріот різниця становила 7,1 днів, а сорту Паульс Глорі – 5,8 днів. Цей чинник також впливав на кількість та довжину коренів. У регенерантів сорту Патріот перша зростала з 1,2 до 3,7 штук на рослину, а довжина збільшувалась з 4,3 до 8,9 мм.

Умови безпосереднього вирощування самих регенерантів обумовлювали ще більший вплив на ризогенез. За довгого фотоперіоду регенеранти швидше утворювали корені та більшу їх кількість. Між рослинами сорту Патріот різниця за початком утворення коренів становила 8,3 днів, а в сорту Паульс Глорі – 9,1 днів. Відмінності в розвитку кореневої системи, залежно від умов освітлення, була більшою, ніж між іншими варіантами.

Згідно з правилом Скуга-Міллера, на живильному середовищі коренеутворення відбувається за переважання ауксинів над цитокінінами. Ботанічні види, навіть класи, мають свої вимоги до ауксинів або їх синтетичних аналогів. Зокрема, за нашими спостереженнями,

більшість однодольних рослин, порівняно з дводольними, потребують ауксинів більше. Також виявлені вимоги до виду ауксину. Наприклад, у процесі МКР хости індолілоцтова кислота, порівняно із індолілмасляною кислотою (далі ІМК), виявилась мало ефективною для коренеутворення в обох сортів [15].

Порівнюючи ауксини ІОК, НОК та ІМК, як індуктори ризогенезу у різних концентраціях встановили, що кращим варіантом було додавання 1,5-2,0 мг/л ІМК. За цих умов довжина кореневої системи на 30 день культивування становила 64-171 мм. Додавання в такій кількості НОК стимулювало інтенсивне калусоутворення в базальній частині пагона. Додавання ІОК в концентрації 1,5 і 2,0 мг/л викликало утворення коренів, однак, перші з довжиною 3-5 мм відмічено на 22-30 день за порівняно повільного розвитку регенерантів.

Для багатьох культур чинником, обмежуючим ризогенез, є зменшення концентрації елементів мінерального живлення в середовищі [16]. Нами це підтверджено в процесі культивування хости. Середовище із половинним вмістом мінеральної (MS) основи, порівняно з контролем, стимулювало ріст кореневої системи. На цьому середовищі дія ауксинів (ІМК) проявлялась, як з високою (3 мг/л) так і з низькою концентрацією (1 мг/л). Регенеранти на середовищі з вищою концентрацією ауксинів за кількістю коренів поступались рослинам, що виростили на середовищі з 1 мг/л ІМК але переважали за довжиною коренів.

За МКР сливи порівнювали дію індукторів коренеутворення (ІМК, НОК, ІОК). Встановлена висока ефективність ІОК, але у великих концентраціях – 6,0 мг/л [17]. Для іншої кісточкової культури – вишні кращим індуктором утворення коренів був ауксин НОК. Проте, за його додавання на базальній ділянці відбувалось інтенсивне розростання калусу, що ускладнювало перенесення регенерантів в умови *ex vitro* [18]. На регенерантах павловнії НОК також спричиняв утворення гіпертрофованих коренів, а за високих концентрацій вони формували лише кореневу систему без утворення пагонів.

Про детермінуючий вплив на ризогенез зменшення концентрацій мінеральних солей (MS_{1/2}) свідчить утворення коріння, навіть, за зниженого вмісту ауксинів, що не відбувалось за повної мінеральної основи. Однак, відсутність ауксинів (ІМК) у середовищі з половинною концентрацією мінеральних речовин, спричиняло в регенерантів пригнічення росту і розвитку, в тому числі й ризогенезу.

Окрім відомих детермінантів ризогенезу використовують додавання в середовище активованого вугілля. Припускають, що це пов'язано із зв'язуванням ним інгібіторів гормонів, затіненням та додатковою аерацією середовища [19]. Для павловнії оптимальною була кількість активованого вугілля в живильному середовищі 2,0-2,5 г/л. Варіанти з меншою концентрацією

поступались цьому, як за початком утворення коренів, так і довжиною їх та кількістю. За збільшення концентрації активованого вугілля до 3,0 г/л помітні ознаки фітотоксичного впливу на загальний стан регенерантів, в т. ч. висоту пагону, швидкість росту та коренеутворення.

Коренева система, сформована *in vitro*, часто характеризується відсутністю корневих волосків та коренів другого порядку. Як наслідок, корені мають невелику площу контакту з живильним середовищем й слабку поглинальну здатність, що також негативно проявляється на етапі їх адаптації до нових умов росту. Водночас, відновлюється ряд зв'язків, які рослини набули впродовж еволюції.

Функцію корневих волосків в ценозі виконує мікориза. Саме завдяки їй відбувається надходження поживних речовин із субстрату, що обумовлюється асоціацією коріння вищих рослин і непатогенного гриба. За таких взаємовідносин гриб допомагає рослині у засвоєнні води і важкодоступних речовин ґрунту. Також своєю ферментативною діяльністю гриб, сприяє обміну вуглеводів, активізує діяльність ферментних систем вищих рослин [20]. Мікоризні та інші ризосферні мікроорганізми часто, виступаючи конкурентами патогенів, вберігають рослини від загибелі.

Нерідко після пересадки рослин у ґрунт відбуваються їх втрати, пов'язані із неспроможністю коріння повністю виконувати асиміляційні функції. Тому, доцільно на третьому чи четвертому етапах клонального мікророзмноження застосовувати штучну мікоризацію рослин (для мікотрофних), враховуючи її позитивну роль у постачанні рослин мінеральних та органічних елементів живлення, водою, біологічно активними речовинами, а також у захисті рослин від патогенів. Мікориза допомагає не лише в асиміляції але й зменшує стрес, пов'язаний із пересадкою, підвищуючи, таким чином, приживлюваність рослин.

Останнім часом накопичена значна інформація про мікоризацію ряду рослин за МКР. Гречаник Р. М. та ін. [21] для кращого приживлення рослин використовували інокуляцію мікоризними грибами, хоча цей спосіб досить трудомісткий. Автори довели можливість сумісного культивування мікро саджанців гібридної форми осики в умовах *in vitro* з виділеною чистою культурою вищих грибів та вирощування інокулюму гриба-симбіонта за методом Marx et al. Така мікоризація в умовах *in vitro* виявилась досить ефективною технологією, хоча і складною, що для практичного застосування є досить проблематичним. Цей метод найбільше підходить для лабораторних фізіологічних та біотехнологічних досліджень, тому актуальним залишається пошук комерційних технологій мікоризації на етапі постасептичної адаптації.

Вдалося досягти підвищення приживлення пробіркових рослин на етапі *ex vitro*, використовуючи обробку їх коріння мікоризний

інокулянт MycoApply Super Concentrata в концентрації 2,6 % (на 6,2 %), або розчин нітрофоски – 50 г/л (на 6,8 %), хоча сумісне їх використання не привело до покращення приживлення пробіркових рослин у теплиці [14].

Важливим для адаптації рослин *ex vitro* є швидке відновлення в рослин водообміну. У скляній тарі, за стабільних волого-температурних умов рослини формують легко уразливі невеликі листки, в яких постійно відкриті продихи, тонкі стебла та слабозвинену кореневу систему [14, 22]. Водний стрес призводить до зневоднення тканин і руйнування мембран. Вважають, що розвиток механізму закривання продихів запускається при зниженні вологості до 65% [23]. Але за такої вологості більшість рослин *in vitro* гине, а за високої вологості, особливо в поєднанні з високою температурою та наявністю травмованих ділянок тканин, відбувається швидке пошкодження рослин сапрофітними та шкодочинними мікроорганізмами. Тому, більшість технологій передбачає створення впродовж перших днів вологості в межах 95-99 % з наступним зниженням до 50-60 % [13, 14]. У окремих випадках застосовують антитранспіранти. Наприклад, для запобігання водному стресу та пошкоджень грибами рослин *ex vitro* актинідії нами вони обприскувались розчином прилипала Ліпосам та фунгіцидом Превікур Енерджі 840 SL. [14, 24]. Зеленьяньська Н. М. встановила [25], що 0,3 і 0,5 % концентрації Vapor Gard та 0,4 % концентрації препарату ЕПАА сприяли зниженню транспірації та покращенню адаптації рослин винограду *in vitro*.

Під час адаптації для ряду культур, зокрема, картоплі, павловнії, малини та ін. завдяки ювенільності рослин *ex vitro* успішно можна проводити постасептичні живцювання [11, 14, 26]. Наприклад, у рослин павловнії після *in vitro* ювенілізації продовжувалась кілька поколінь за постасептичного живцювання. Після висадки регенерантів, вирощених «на агарі», їх можна ще 2-3 рази живцювати. Після 4-5 живцювань втрачається ювенільність, а отже, і регенераційні властивості, в т.ч. утворення адвентивних коренів.

1. За другого-третього постасептичного живцюванням саджанцям властиві перші порівняно великі листки. Такі регенеранти мають кращі адаптаційні властивості і меншу собівартість, порівняно з рослинами висадженими відразу з умов *in vitro* [11].

Більш досконалим методом постасептичної адаптації та прискореного розмноження є фотоавтотрофне МКР. У основі цього методу покладено інтенсивне накопичення регенерантами пластичних речовин за рахунок інтенсифікації фотосинтезу, а саме, збільшення в рази світлової енергії та вмісту CO₂ [14, 27]. За таких умов регенеранти надзвичайно швидко накопичують речовини, які значною мірою використовуються, як будівельний матеріал. За нашими спостереженнями, застосування методу дозволяє в два рази пришвидшити ріст, ніж *in vitro* [14]. Також

рослини стають повністю адаптовані до автотрофного живлення. Застосовуючи цей метод, нам вдалося вкорінити живці фундука [14, 28], які за звичайного вегетативного розмноження дуже складно вкорінювались.

Для кращої адаптації рослин *in vitro* створюють контрольовані умови з підвищеною температурою та високою вологістю повітря. Такі умови водночас є сприятливими і для інтенсивного розвитку мікрофлори, зокрема й мікроскопічних сапрофітних грибів, що поселяються на ослаблених під час адаптаційного стресу рослинах. За нашими спостереженнями, ці організми мацеруючи тканини знищують рослини за 1-2 тижні [14]. У випадку пошкодження павловнії і наявності спорогітів регенеранти гинули за 1-2 доби.

З метою захисту від згаданого явища застосовують біологічні та хімічні методи. З біологічних вдалим прикладом є обприскування рослин розчином мікробіологічних препаратів, на основі корисних бактерій [29].

Хімічні методи передбачають як обробку тепличних субстратів, так і обробку самих рослин. На рослинах хости нами порівняно ефективність обробки субстратів (на основі торфу) двома речовинами: фундазол (д.р. беноміл) та ризолекс (толклофос-метил) та обробку розсади нітратом срібла, Максим Форте 050 FS т.к.с. – Syngenta і Превікур Енерджі 840 SL, в.р.к. – Bayer Garden [14, 15]. Найбільше рослин (89,47 %) прижилося у варіанті із замочуванням їх перед висадкою в Превікур Енерджі 840 SL, порівняно з 35,61 % в контролі [15].

Аналізуючи склад мікрофлори, яка заселяла регенеранти ожини в умовах *ex vitro*, встановили, що контамінанти віднесені переважно до цвілевих грибів, зокрема представникам роду *Aspergillus*. Деконтамінуюча активність фунгіцидів стосовно згаданих мікроорганізмів залежала від вологості повітря, препарату та способу його використання. Відмічено, що в контролі без застосування фунгіцидів ураження рослин з подальшою їх загибеллю становила 86 % за низької вологості повітря, а в умовах високої вологості загинули всі рослини. У варіанті із застосуванням контактного фунгіциду фундазолу втрати рослин за обох рівнів вологості повітря були близькими до контролю. Застосування фунгіциду Топсін М, порівняно з контролем, дозволило знизити втрати, залежно від способу застосування, на 17-24 %. За 100 % вологості у варіанті із згаданим фунгіцидом живими залишалися 5-7 % рослин. У цих варіантах також відмічено пригнічення росту рослин, зокрема менші біометричні розміри пагона. Найбільш ефективним виявилось застосування препарату Превікур Енерджі у дозі 1,5 г/л за обприскування впродовж культивування через п'ять днів, оскільки в цьому варіанті приживання регенерантів становило майже 98% за низької вологості повітря, та 79-85% – за високої [14].

2. Ще більш радикальним методом захисту рослин від небажаної мікрофлори є створення

умов, за яких ці об'єкти не можуть рости. Наприклад, на торфосубстраті випробувано обробку фунгіцидами з метою захисту від комплексу хвороб. Однак, лише частково вдалось стримувати поширення грибів, знижуючи вологість

субстрату та обробляючи його кожні 5 днів Превікур Енерджі 840 slv.p.k 2-3 мл на літр води. Застосування як субстрату агроперліту (рис. 3), дозволило уникнути вище згаданих проблем [11].



Рис. 3. Стан регенерантів павловнії на різних субстратах

Висновки.

Зважаючи на біологічні особливості рослин, з якими проводиться МКР, високу ефективність на етапі *in vitro-ex vitro* мало введення рослин у стан спокою, застосування ауксинів, спеціального фотоперіоду, концентрації мінеральної основи середовища, CO₂, додавання в нього активованого вугілля, застосування мікоризи, хімічних препаратів, а також субстрату, на якому відбувається приживлення пробіркових рослин.

Список використаної літератури

1. Застосування біотехнологічних методів для розмноження гібриду осики і тополі чорної та мікоризації садивного матеріалу / Р. М. Гречаник, О. Ф. Базюк, З. В. Бондаренко та ін. // Науковий вісник Українського державного лісотехнічного університету. – Львів: УкрДЛТУ, 2003. Вип. 13.3. С. 210-221.
2. Ковалевський С. Б., Білоус С. Ю., Ліханогв А. Ф. Культура *Populus tremula* L. – Київ: НУБіП України, 2014. – 189 с.
3. Білоус С. Ю. Біотехнологічні аспекти адаптації рослин-регенерантів *Populus tremula* L. до умов закритого та відкритого ґрунту // Ukrainian Journal of Forest and Wood Science, 2015, №219, С. 198-205.
4. Подгаєцький А.А., Кришталь В. І., Киричок В. О., Подгаєцька Ю. А. Способи поліпшення приживлення пробіркових рослин картоплі // Вісник Сумського національного аграрного університету. Серія «Агрономія і біологія», 2016, Вип. 9(32), С. 149-156.

5. Иванова М. А., Баландина И. М. Влияние размера посадочного материала на выращивание микроклональных растений осины в условиях *ex vitro* // Труды Белорусского государственного технологического университета. 2009, Вып. 17, серия 1, Лесное хозяйство. С. 161-164.

6. Иванова М. А., Богинская Л. А., Беландина И. М. и др. Морфологические параметры микроклонального размножения растений осины и березы при выращивании в условиях закрытого грунта // Труды Белорусского государственного технологического университета. 2010, Вып. 18, серия 1, Лесное хозяйство. С. 235-238.

7. Реуцкий В.Г., Банадысев С. А., Родионов П. А., Коновалова Г. И. Жизнеспособность пробирочных микроклонов картофеля и перспективы повышения их качества // Актуальные проблемы защиты картофеля, плодовых и овощных культур от болезней, вредителей и сорняков: Междунар. научно-практ. конф., посвященная 100-летию со дня рождения Н.А. Дорожкина (Самохваловичи, 9-12 августа 2005 г.). – Минск. – 2005. – С. 27–32.

8. Куперман Ф.М. Морфофизиология растений. Морфофизиологический анализ этапов органогенеза различных жизненных форм покрытосеменных растений /Ф. М. Куперман.– М., «Высш. школа».– 1973. – 256 с.

9. 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.

10. Гапоненко А. Б., Іванніков Р. В. Перспективи культивування *Anacamptismorio* (L.) R. M. Bateman, Pridgeonetm W. Chase (Orchidaceae) з метою збереження виду в Україні // Український ботанічний журнал, 2013, Т. 50, № 5, С. 635-641.
11. Павловія: науково-практичний посібник / О.В. Мацкевич, Л.М. Філіпова, В.В. Мацкевич, В.В. Андрієвський. – Біла Церква: БНАУ, 2019. 80 с.
12. <https://www.hazelnutinvitro.com/microtrees>
13. Деменко В.И., Лебедева В.А. Адаптация растений, полученных in vitro, к нестерильным условиям // Известия ТСХА, 2011, Выпуск 1, С. 60-70
14. Подгаєцький А.А., Мацкевич В. В., Подгаєцький А. Ан. Особливості мікроклонального розмноження видів рослин. Біла Церква : БНАУ, 2018. 209 с.
15. Стадник А. П., Філіпова Л. М., мацкевич В. В. Екологічні особливості трофічної та гормональної детермінації ризогенезу in vitro регенерантів хости // Агроєкологічний журнал, 2014, N 3, С. 75-80.
16. МАЦКЕВИЧ В.В., РОГОВСКИЙ С. В., ВЛАСЕНКО М. Ю., ЧЕРНЯК В. М. ОСНОВИ БІОТЕХНОЛОГІЇ РОСЛИН: НАВЧАЛЬНИЙ ПОСІБНИК – БІЛА ЦЕРКВА: БНАУ, 2010. – 156 С.
17. Корнацкий С. А. Особенности клонального микроразмножения сливы в системе оздоровленного посадочного материала: Автореф. дис. ... канд. сельскохозяйственных наук. М., 1991. С. 24.
18. Олешко Е. В. Особенности клонального микроразмножения подвоев и сортов вишни: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 1985. С. 15.
19. Черевченко Т. М., Лаврентьева А. Н., Иваников Р. В. Биотехнология тропических и субтропических растений in vitro. Київ: Наукова думка, 2008. 559 с.
20. Мусієнко М.М. Фізіологія рослин – К: Либідь, 2005. – 808 с.
21. Гречаник Р. М., Базюк О. Ф., Бондаренко З. Д. та ін. Застосування біотехнологічних методів для розмноження гібриду осики і тополі чорної та мікоризації садивного матеріалу. // Науковий вісник Українського державного лісотехнічного університету. Львів: УкрДЛТУ, 2003. Вип. 13.3. С. 210–221.
22. Веденичова Н.П., Косаківська І.В. Косаківська Цитокиніни як регулятори рослин за різних умов зростання. – Київ: Наш формат, 2017. – 200 с.
23. Kim K. Wet al. Effect of ABA and agarin preventing verticillium of carnation plantlets cultured in vitro // J. of Korean Soc. for Hort. Sci., 1988. Vol. 29. № 3. P. 208-215.
24. Н.В.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.
25. Зеленианська Н. М. Антитранспіранти для успішної адаптації мікроклонів винограду // Наукові доповіді НУБіП, 2013, 3 (38). С. 34-41.
26. МАЦКЕВИЧ В. В., ПОДГАЄЦЬКИЙ А. А., ФІЛІПОВА Л. М. МІКРОКЛОНАЛЬНЕ РОЗМНОЖЕННЯ ОКРЕМИХ ВИДІВ РОСЛИН (ПРОТОКОЛИ ТЕХНОЛОГІЙ): НАУКОВО-ПРАКТИЧНИЙ ПОСІБНИК. БІЛА ЦЕРКВА: БНАУ, 2019. 85 С.
27. Kozai T., Afreeen F., Zobayed S.M.A. Photoautotrophic (sugar-free medium) Micropropagation as a New Micropropagation and Transplant Production System. 2005. 316 p.
28. Андрієвський В. В., Врублевський А. Т., Філіпова Л. М., Мацкевич В. В., Мацкевич О. В. Проблеми мікроклонального розмноження фундука // Агробіологія, 1'2019. С.37-43.
29. Лященко С.А. Відтворення садивного матеріалу картоплі, отриманого в культурі меристем in vitro, із застосуванням мікробіологічних препаратів :автореф. дис. ... канд. с.-г. наук : 06.01.05. Київ. 2013. - 20 с.