

УДК 602.7:634.54

АНДРІЄВСЬКИЙ В.В.
ВРУБЛЕВСЬКИЙ А.Т.
ФІЛПОВА Л.М.
МАЦКЕВИЧ В.В.

Білоцерківський національний аграрний університет

МАЦКЕВИЧ О.В.

Національний університет біоресурсів і природокористування України

ПРОБЛЕМИ МІКРОКЛОНАЛЬНОГО РОЗМНОЖЕННЯ ФУНДУКА

Постановка проблеми. Фундук – цінна горіхоплідна культура, яка в економічному плані є досить прибутковою. Стримуючим чинником для масштабного вирощування фундука в Україні є малі коефіцієнти розмноження звичайними методами. Альтернативою для вирішення цієї проблеми може бути метод мікроклонального розмноження, який наразі активно впроваджують із комерційною метою. Складнощі МКР фундука є на кожному з етапів цієї технології: 1) введення в асептичні умови; 2) мультиплікація *in vitro*; 3) індукція ризогенезу; 4) постасептична адаптація.

Мета. У статті проаналізовано проблемні аспекти мікроклонального розмноження фундука та запропоновано шляхи їх вирішення на основі результатів власних досліджень. Зокрема, вивчено вплив фенолоутворення, поживного середовища, типу, концентрації та методу аплікації фітогормонів на коренеутворення та проліферацію мікропагонів.

Матеріал і методи дослідження. Дослідження проводили в стандартних лабораторних умовах. Об'єкт досліджень – рослини фундука сортів Трапезунд, Сірена, ліщина ведмежа. Встановлено, що процеси ризогенезу та проліферації індуються трофічними та гормональними детермінантами.

Результати дослідження та обговорення. Для оптимізації процесу мікроклонального розмноження фундука рекомендується використовувати поживне середовище DKW. Виявлено, що активоване вугілля та часте пересаджування експлантів на початкових етапах нейтралізує фенолоутворення. Для подолання проблем фенолоутворення встановлено ефективність ряду таких заходів як культивування маточних рослин за розсіяного світла в умовах депозитарію; введення рослин шляхом виділення меристем, пробуджених бруньок; додавання в живильне середовище біоциду PPM (Plant Preservative Mixture); додавання в живильне середовище ПВП (полівінілпіролідон). На етапі мультиплікації в живильне середовище додають 1,5 мг/л бензиламінопурину. Нами випробувано вплив різних концентрацій активованого вугілля на ризогенез на фоні 3 мг/л ауксину індолілмасляної кислоти. Активоване вугілля затінює живильне середовище, адсорбує токсини, тому ефективно впливає на кореневе утворення. Серед порівнюваних концентрацій оптимальною була 2,5 г/л середовища.

Висновки. Показано можливість використання вологої камери для постасептичної адаптації регенерантів. Обробка рослин та субстрату фунгіцидом Превікур Енерджи 840 sl в.р.к. покращує їх приживання та стимулює ріст.

Ключові слова: мікроклональне розмноження, деконтамінація, фенольне самоотруєння, фітогормони, індукція коренеутворення, постасептична адаптація.

doi: 10.33245/2310-9270-2019-146-1-74-84

Постановка проблеми. На сьогодні фундук переходить із малопоширеної нішевої культури в стратегічну культуру, з якою аграрний бізнес України виходить на міжнародні ринки. Однак стримуючим чинником для масштабного його вирощування є малі коефіцієнти розмноження звичайними методами [1]. Новітні методи мікроклонального розмноження (далі – МКР) фундука лише починають виходити за межі суто наукових лабораторій *in vitro*. Серед наукових установ України відомі праці науковців Національного дендрологічного парку «Софіївка» НАНУ [2, 3], Українського науково-дослідного інституту лісового господарства та агролісомеліорації ім. Г.М. Висоцького [4], БНАУ[5]. Водночас сучасний бізнес працює над розробкою технологій МКР, часом випереджаючи вітчизняну науку. В останні роки МКР фундука успішно займається ряд комерційних лабораторій, зокрема, ТОВ «НВЦ «Ін Вітро Плант» (Одеська обл.) під керівництвом к. б. н. Корні Т.М. [6], екоферма «Ковчег» (Дніпропетровська обл.) [7], ТОВ «Lucky PLANTS» (м. Київ) [8].

Проблемні ділянки МКР фундука є на кожному з етапів цієї технології: 1) введення в асептичні умови; 2) мультиплікація *in vitro*; 3) індукція ризогенезу; 4) постасептична адаптація.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. На першому етапі постає необхідність не просто ввести в асептичні умови, а й оздоровити рослинний матеріал. За проведеними Г.А. Тарасенко обстеженнями дослідних, виробничих та декоративних насаджень представників роду *Corylus* на території НДЦП «Софіївка» НАНУ, а також завдяки використаним автором методам досліджень встановлено, що найпоширенішими були віруси: вірус мозаїки яблуні (ВМЯ), вірус хло-

ротичної кільцевої плямистості, вірус некротичної кільцевої плямистості, а також змішана вірусна інфекція [9, 10]. Колчанова О. В., Обозний О. І., що високе ураження грибною інфекцією зародків та сім'ядоль фундука, тому як експланти використовували апікальні меристеми бруньок [4]. Також відомо, що не всі меристеми є вільними від вірусів [11, 12]. У частині донорних рослин меристеми бруньок фундука, окрім вірусів і грибів, можуть бути ушкоджені кліщем [13], який є переносником вказаних патогенів.

Про шкодочинність вірусів свідчить багато досліджень. Так, Agamburu J. і Rovira M., порівнюючи протягом чотирьох років урожай безвірусних рослин і рослин уражених вірусом яблучної мозаїки встановили, що урожай вільних від вірусів рослин був на 77 % вищим. Головним чином це пов'язано з утворенням більшої кількості горіхів, а не з різницею в масі горіха [14]. Також авторами було встановлено, що в Каталонії в середньому 15 % дерев у десятирічному віці містять цей вірус [15]. Часто більшість інфікованих клонів є безсимптомними. Підвищує ефективність оздоровлення фундука через меристему застосування теплової терапії заражених рослин на 21 або більше діб при температурах, що змінюються кожні 4 години між 30 та 38 °C [16]. Це свідчить про те, що не достатньо виділити певну кількість меристем, а й серед регенованих з них ліній необхідно за результатами методів тестування відібрати безвірусні.

Для фундука, як і для інших деревних культур, проблемним є отримання первинних експлантів (для подальшого культивування або ізоляції меристем), вільних від контамінуючої мікрофлори. Досягають цього шляхом випробувань різних методів: від обробки ультрафіолетовим промінням [17] до застосування біоцидів [5]. Зокрема, щоб звільнити ядро від *Aspergillus flavus* і *Aspergillus parasiticus* застосовували азотну плазму [18]. Перші ознаки контамінування найчастіше проявляються вже на 5–7 добу культивування. При відборі зразків на бактеріологічне забруднення швидкозростаючі бактерії проявлялися на тестових середовищах вже на 3 добу, а повільноростучі – на 7 добу культивування [21]. Забруднення не завжди видно на стадії створення культури; деякі ендогенні контамінанти стають очевидними в більш пізніх субкультурах, і їх важко усунути [19].

Меншу кількість контамінантів відмічено за вирощування донорів первинних експлантів в теплиці [20]. Біоцид PPM (Plant Preservative Mixture) [22] в останні роки успішно використовують як основний або додатковий деконтамінант при введенні фундука [5] та інших культур [23, 24, 25].

Рослини фундука в природних умовах містять багато фенолоподібних речовин [26]. Ці речовини виконують захисну функцію, вберігаючи рослини від патогенів. Зокрема Oliveira I. [27], в листях ліщини виявлено вісім фенольних сполук, які мали антимікробну здатність на грампозитивні (*Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*) та грамнегативні бактерії (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*) і гриби (*Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*).

Однак в умовах *in vitro* спостерігають ряд проблем. Зокрема, у фундука, як і більшості видів рослин, при переведенні з умов *in vivo* в *in vitro* відбувається фенольна інтоксикація експлантів [28]. Після введення в культуру експланти виділяють у середовище продукти вторинного обміну, які потім пригнічують їх ріст і розвиток. Це особливо актуально для таких деревних видів як дуб та горіх [29]. Фенольні сполуки є одними із найбільш поширених вторинних метаболітів у тканинах вищих рослин. Їх синтез зберігається й за культивування клітин і тканин в умовах *in vitro*. Встановлено, що зростання рівня диференціації клітин супроводжується збільшенням їх здатності до утворення поліфенолів. Так, у мікропагонах рослин-регенерантів, що знаходилися на стадії стійкої проліферації, вміст фенольних сполук вище, ніж в калюсних тканинах. У тканинах інтактних рослин та ініційованих з них рослин-регенерантів фенольні сполуки виявлено переважно в епідермі та зоні провідних пучків.

Дані окремих дослідників щодо впливу фенольних сполук на процеси ризогенезу неоднозначні. Одні [16] вважають, що під час ризогенезу фенольні речовини відіграють другорядну роль порівняно з фітогормонами, але вони здатні змінювати рівень ауксинів, виступаючи протекторами чи активаторами процесів їх окиснення. У модельних дослідах показано, що моногідроксильні феноли, руйнуючи ауксин, виступають коферментом ауксиноксидази і в такий спосіб гальмують ріст рослин. За даними ряду дослідників [30–32] дигідроксильні феноли, навпаки, виявляють інгібуючу дію на ауксиноксидазу і стимулюють ростові процеси.

Вплив фенолів та інших подібних речовин обумовлює зменшення регенераційного потенціалу за тривалого субкультивування [33–35]. Щоб нейтралізувати виділені феноли, рекомендують [34] додавати в середовище активоване вугілля (1–2 г/л), адсорбційні властивості якого сприяють рівномірному розподілу елементів живлення в середовищі та видаленню продуктів метаболізму.

Поширеним на практиці є часте пересаджування експлантів. Щодо горіха встановлено, що інтенсивне виділення фенольних речовин у живильне середовище спостерігали у 8–35 % експлантів, але часті пересадки (через 2–7 діб) дозволяли мінімізувати негативний вплив цього явища [29]. Тобто для кожного окремого виду рослин для усунення фенолоутворення експлантами застосовують різноманітні способи нейтралізації цих речовин, і тим самим запобігають негативному їх впливу на ріст і розвиток матеріалу *in vitro*.

Мета дослідження – проаналізувати проблемні аспекти мікроклонального розмноження фундука та запропонувати шляхи їх вирішення на основі результатів власних досліджень.

Завдання дослідження – на основі аналізу літературних даних визначити основні деконтамінанти при вирощуванні донорних рослин та на етапі введення в асептичні умови, проблему отруєння фенольним ексудатом; дослідити основні детермінанти на етапі мультиплікації, ризогенезу та постасептичної адаптації; за результатами досліджень надати практичні рекомендації щодо розмноження фундука.

Матеріал і методи дослідження. Об'єкт дослідження – рослини фундука сортів Трапезунд, Сірена, ліщина ведмежа. Дослідження проводили в стандартних лабораторних умовах [34]. В якості світлоносіїв використовували світлодіодні світильники Bellson 20W, розміщені паралельними рядами над рослинами, потужність одного світильника – 20 Вт, світловий потік – 1780 Лм (аналог ЛБ-36). Освітлення поступово протягом двох тижнів підвищували із 1500 до 3000 lux. Об'єм вибірки 60 рослин. Послідовність серії дослідів наступна: кращий варіант попереднього досліді приймали як контроль у наступному досліді.

Для вивчення впливу на фенолоутворення віку рослин-донорів нами випробувано експланти, ізольовані із рослин-донорів 2 і 18 років. Рослини *in vitro* культивували на таких штучних живильних середовищах: MS (Murashige and Skoog); QL (Quoirin & Lepoivre medium); DKW (Driver and Kuniyuki Walnut Medium); WPM (Woody Plant Medium); NRM (Nas and Read Medium) [34, 36, 37].

У досліді з вивчення ефективності речовин із гормональною активністю на етапі мультиплікації використовували:

Кінетин – належить до класу цитокінінів, рослинного гормону, який сприяє діленню клітин, індукції калюсогенезу (у поєднанні з ауксином) та регенерації тканин з калюса.

Бензиламінопурин – синтетичний аналог 6-амінопурина, використовують при формуванні калюсних культур.

Форхлорфенурон (ФХФУ, CPPU, KT-30) – рослинний фітогормон класу цитокінінів.

Тідіазурон – новий високоефективний цитокінін та дефоліант бавовника.

Щодо впливу активованого вугілля на ризогенез фундука досліджували концентрації 0,5–3,0 г/л. За вивчення впливу синтетичних ауксинів на ризогенез досліджували дію ІМК, НОК у концентраціях 0,5–3,0 мг/л.

Адаптацію проводили в умовах парника. Рослини висаджували в касети.

На етапі постасептичної адаптації для захисту від патогенної та сарофітної грибною інфекції досліджено вплив препаратів Амістар тріо 255 ЕС, Фалькон 460 ЕС, Імпакт 25SC, Агат 25К, Превікур Енерджі 8 40 sl в.р.к.

Результати дослідження та обговорення. Грецький горіх і фундук є складними культурами для введення *in vitro*, особливо внаслідок активного контамінування та самоотруєння фенолоподібними речовинами. Нами досліджено нові підходи до двох представників роду *Corylus* – ліщини ведмежої та двох сортів фундука – Трапезунд і Сірена, які, на нашу думку, можуть вирішити проблему введення в культуру фундука стебловими експлантами. Це заміна гіпохлориту натрію на РРМ^{MT} (Plant Preservative Mixture), часті субкультивування, підготовка донорних рослин. Зміна технології деконтамінації шляхом додавання 2,5 мл РРМ^{MT} у живильне середовище без попередньої обробки гіпохлоритом натрію мала методичні складнощі. Зокрема, на живильне середовище висаджували нестерильний матеріал, який може контактувати як із інструментами (пінцети, ланцети та ін.), так і культуральними ємностями.

Це спричинило появу контамінуючих агентів у пробірках, які не контактували із біоцидами. Тому відсоток стерильних експлантів від прояву контамінантів у цьому варіанті досліду, порівняно із тим, що передбачав обробку експлантів NaClO та додавання у середовище PPM^{MT}, зменшувався в сорту Трапезунд з 81 до 56, а в сорту Сірена – з 87 до 63. Водночас зменшувалася кількість експлантів із опіками поверхневих тканин із 79 до 5 % у сорту Сірена та з 67 до 9 % у сорту Трапезунд. Також випробувано обробку експлантів на шейкері 50 % розчином PPM^{MT}. Проте, зміна лише підходу в деконтамінації не вирішувала проблему в цілому.

Експланти, які не мали опіків, утворювали фенолоподібні речовини, що локалізувалися переважно в тканинах експлантів і менше виділялися у живильне середовище. Живці, які виглядали ззовні зеленими, при розтині мали коричневий забарвленням тканини внаслідок самоотруєння точки росту та листків, що прокривають меристемний купол (рис. 1).

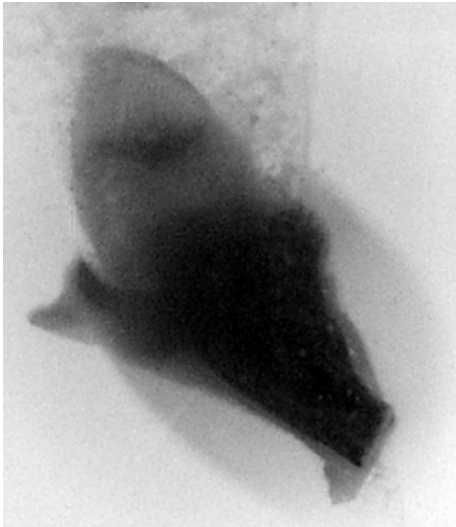


Рис. 1. Експлант з фенольними виділеннями.

Одним із поширених заходів попередження фенолоподібних утворень є застосування частих пересадок. Зокрема, це дозволяє отримати морфогенні експланти троянди та грецького горіха. Нами проведено пересадку експлантів із наступними інтервалами: 5, 10 та 15 діб. Встановлено, що часті пересадки уповільнюють відмирання експлантів, проте на 45 добу лише за умови частих пересадок (через 5 діб) вижило 5 % експлантів.

Отже, пересадками неможливо вирішити проблему самоотруєння культури *in vitro* фенолоподібними речовинами. Для вивчення впливу на фенолоутворення віку рослин-донорів нами випробувано експланти, ізольовані із рослин-донорів 2 і 18 років. Встановлено, що з 18-річних рослин, за умови їх пересадки через 5 діб, виживало: у фундука сорту Трапезунд – 4 %, фундука сорту Сірена – 3 % експлантів, а в ліщини ведмежої – жодного. У разі використання дворічних донорних рослин виживання експлантів, відповідно, зростало до 11, 7; 8,8 і 4,3 %.

У процесі дослідження також випробувували умови вирощування дворічних донорних рослин: а) у відкритому ґрунті; б) у теплиці. Експланти цих варіантів відрізнялися за приживанням, що, в першу чергу, залежало від самоотруєння фенолоподібним ексудатом. Перевага в усіх варіантах була при вирощуванні донорів у контрольованих умовах депозитарію. Наприклад, у сорту Трапезунд виживало 37,1 % (з яких контаміновано 16,5 % експлантів) ізольованих із маточних рослин, що росли у депозитарії. Із донорів, які росли у відкритому ґрунті, ці показники становили 12,9 та 11,6 % відповідно.

Отже, для виділення експлантів рослини-донори доцільно вирощувати у контрольованих умовах закритого ґрунту (депозитарії), що забезпечить підвищення відсотку деконтамінації та зменшення фенолоутворення.

Отримані результати для фундука підтверджено у процесі введення в асептичні умови горіха грецького. Первинні експланти формували повноцінні листки та бруньки. В базальній частині фенольний ексудат був майже відсутнім. Незважаючи на те, що ранева поверхня мала коричневий колір (рис. 2), під нею формувалася щільний зелений калюс.

Для грецького горіха та фундука, з метою подолання проблем фенолоутворення, пропонуємо наступні заходи: культивування маточних рослин за розсіяного світла в умовах депозитарію; використання антиоксиданта аскорбінової кислоти для замочування експлантів перед стерилізацією; введення рослин шляхом виділення меристем, пробуджених бруньок; додавання біоциду PPM (Plant



Рис. 2. Базальна частина первинного експланта грецького горіха.

Preservative Mixture) в живильне середовище; додавання в живильне середовище ПВП (полівінілпіролідон).

Найпопулярнішими середовищами для мультиплікації фундука є середовище WPM + PVP модифіковане за вмістом 6-BAР: для фундука – 1,0 мг/л, для горіха ведмежого – 0,1 мг/л [28].

У культурі ізольованих тканин і органів спостерігають різну поведінку рослин різних видів, що обумовлене, у першу чергу, генетичною детермінацією здатності їх до розмноження, як і будь-якої іншої ознаки. На практиці створити відповідні умови, необхідні для конкретного генотипу, які індують процеси регенерації або проліферації пагонів, не завжди вдається. До того ж, здатність до розмноження у рослин різних сортів у межах виду також варіює [4].

На перших етапах вирощування експланта важливим є успішне проходження процесів диференціації і вступу клітин у ембріональний стан, початок активних клітинних поділів, утворення калюсу, гісто- та органогенез. У цей час особливу увагу слід приділити оптимізації умов живлення. Для цього до складу живильного середовища додають, крім мінеральних солей і вуглеводів, амінокислоти, вітаміни, ауксини, цитокініни, гібереліни. У подальшому, для індукції росту стебла і формування кореня, склад живильного середовища спрощують [38].

На цьому етапі культивування як якісний, так і кількісний вміст елементів мінерального живлення детермінує інтенсивність того чи іншого напрямку росту і розвитку. В наших дослідженнях рослини *in vitro* культивували на таких штучних живильних середовищах: MS, QL, DKW, WPM, NRM.

Встановлено, що на вказаних середовищах регенеранти формували конгломерати мікропагонів з різною кількістю (рис. 3). Найбільше мікропагонів було на середовищі DKW 3,6 при 1,8 на QL та 2,1 на MS.

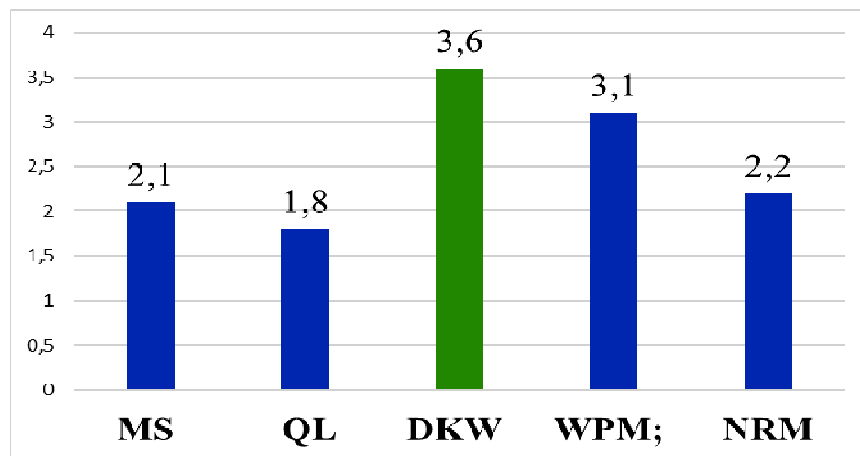


Рис. 3. Кількість мікропагонів в конгломераті *in vitro*.

Також живильне середовище впливало на розміри регенерантів. Зокрема, найменші регенеранти були на середовищі WPM (рис. 3), яке, на нашу думку, є непридатним для фундука.

Цитокініни беруть участь у багатьох фізіологічних процесах рослин, регулюють ділення клітин, морфогенез пагона і кореня, дозрівання хлоропластів лінійний ріст клітини, утворення додаткових бруньок і старіння. Співвідношення ауксинів та цитокінінів є ключовим чинником поділу клітин і диференціювання тканин рослини. У той час, як ефект цитокінінів на судинні рослини є плейотропним, цитокініни викликають зміни інтенсивності росту протонеми у мохів. Утворення бруньок можна вважати варіантом диференціювання клітин, і цей процес є специфічним ефектом цитокінінів. Цитокініни сприяють синтезу нової ДНК в клітині і контролюють S-фазу клітинного циклу у рослинних клітин [39].

За порівняння ефективності застосування синтетичних фітогормонів із цитокініновою активністю, встановлено різний вплив на кількість мікропагонів в конгломераті та їх висоту (табл. 1).

Кінетин за впливом на кількість мікропагонів і їх висоту не відрізнявся від контролю без цитокінінів. Найбільша кількість мікропагонів (5,3 при 3,5 на контролі) в конгломераті була за використання тидіазурону (0,015 мг/л), однак 42 % регенерантів були з ознаками гіпергідратації тканин. Також регенеранти за використання цього цитокініну мали найменші розміри.

Таблиця 1 – Вплив синтетичних цитокінінів на розвиток конгломерату пагонів фундука *in vitro* сорту Трапезунд

Цитокінін, оптимальна концентрація, мг/л	Кількість мікропагонів у конгломераті, шт.	Висота конгломерату, мм	Кількість вітрифікованих регенерантів, %
Без цитокінінів (контроль)	3,5±0,3	64±4	-
Кінетин 2,5	3,7±0,3	66±5	-
Бензиламінопурин (БАП) 1,5	4,8±0,3	51±6	2
Форхлорфенурон (ФХФУ), 0,2	4,1±0,4	55±4	18
Тідазурон, 0,015	5,3±	27±4	42

Дещо меншу кількість мікропагонів, але високі і з низьким відсотком вітрифікації – 2 %, отримано за додавання в середовище бензиламінопурину.

Щодо впливу концентрації активованого вугілля на ризогенез фундука встановили, що в асептичних умовах, так само як і проліферація, ризогенез детермінується трофічними та гормональними детермінантами. З трофічних детермінантів порівняно ризогенез на середовищах із повною та поливинними концентраціями мінеральних елементів. Це для багатьох культур стимулює ризогенез. Проте для фундука, який є досить важкою культурою за своїми фізіологічними і біологічними властивостями, такий метод виявився не доцільним. Регенеранти на середовищі із половинною концентрацією відставали від рослин, що виростили на стандартному середовищі.

Випробувано вплив різних концентрацій активованого вугілля на коренеутворення на фоні 3 мг/л ауксину індолілмасляної кислоти (табл. 2). Активоване вугілля затіює живильне середовище, адсорбує токсини, тому ефективно впливає на ризогенез. Серед порівнюваних оптимальною була концентрація в 2,5 г/л середовища. У цьому варіанті кількість коренів була найбільшою – 2,3 штуки на регенерант. Також за цієї концентрації коренева система (вимірювали по довжині найдовшого кореня) була 36 мм за 1 мм на контролі.

Таблиця 2 – Вплив різних концентрацій активованого вугілля на коренеутворення на 30-ту добу культивування фундука сорту Трапезунд

Концентрація, г/л	Кількість коренів, шт.	Довжина коренів, мм
0 (контроль)	0,3 ±0,1	1 ±2
0,5	0,5 ±0,2	1 ±1
1,5	1,0 ±0,3	12 ±2
2,0	1,1 ±0,2	13 ±4
2,5	2,3 ±0,4	36 ±4
3,0	0,8 ±0,5	5 ±3

Вищі концентрації були більш токсичними. В регенерантів формувалася менша кількість коренів. Вони були вкороченими без розгалужень.

Отже, оптимальною концентрацією активованого вугілля є 2,5 г/л середовища.

Також встановлено вплив походження живців на розвиток регенерантів. Найменші регенеранти виростили із живців з ізольованою базальною частиною пагона. А найбільші, із кращими показниками ризогенезу, пагони отримано з апікальних живців. На нашу думку, це пов'язано із природнім накопиченням ауксинів в апікальній частині пагона.

За вивчення впливу різних концентрацій синтетичних ауксинів на ризогенез (табл. 3) встановлено, що найбільша кількість коренів була за додавання ауксину індолілмасляної кислоти (далі ІМК) в кількості 3,0 мг/л.

Проте у цьому варіанті корені були короткими та аномально потовщеними, схожими на туберидії орхідних. Найбільша довжина коренів була за концентрації ІМК 3,0 мг/л – 9,3 мм. За кількістю коренів та їх довжиною нафтилоцтова кислота (НОК) не поступається контролю, проте дає гірші показники, ніж ІМК.

Отже, додавання в живильне середовище 3 мг/л ІМК збільшує кількість коренів із 0 на контролі до 2,5.

Для акліматизації мікропагонів (етап постасептичної адаптації), розмножених в культурі *in vitro*, застосовують дві основні стратегії, що базуються на зменшенні водного стресу при зміні умов культивування і стимулюванні фотоавтотрофного росту культури. Позбавити мікропагони

стресу дає можливість акліматизація з використанням аквакультури, що позитивно впливає на відсоток адаптованих рослин.

Таблиця 3 – Вплив різних концентрацій синтетичних ауксинів коренеутворення на 30-ту добу культивування фундука сорту Трапезунд

Ауксин, концентрація, мг/л	Кількість коренів, шт.	Довжина коренів, мм
Без ауксинів (контроль)	0	0
ІМК, 0,5	0	0
ІМК, 1,0	0,7 ± 0,3	0,2±0,1
ІМК, 2,0	1,1±0,4	0,4±0,2
ІМК, 3,0	2,5 ±0,7	9,3±0,5
НОК, 0,5	0	0
НОК, 1,0	0,8±0,3	0,1±0,1
НОК, 2,0	0,9±0,4	0,3±0,2
НОК, 3,0	1,6±0,5	6,0±0,2

Адаптацію проводили в умовах парника. Рослини висаджували в касети. Протягом 1,5–2,0 місяців регенеранти були придатними для висадки у відкритий ґрунт. На завершення літа – початок осені рослини мали здерев'яніле стебло, розвинуті корені та листки і були придатними для перезимівлі.

Найскладнішим періодом адаптації є перші 2–3 тижні. На цьому етапі рослини пригнічуються й можуть уражатися як патогенними, так і сапрофітними грибами. Встановлено неоднакову приживлюваність рослин в умовах вологої камери (табл. 4).

Таблиця 4 – Вплив одноразової обробки регенерантів фунгіцидами на їх приживання (45-та доба культивування)

Фунгіцид	Прижилося, %	Маса рослини, г
Обробка дистильованою водою (контроль)	31±4	16±3
Амістар тріо 255 ЕС	14±	11±3
Фалькон 460 ЕС	91±	18±2
Імпакт 25SC	33±	15±2
Агат 25К	36±	17±4
Превікур Енерджи 840 sl в.р.к	93	28±2

Фунгіцид Амістар тріо 255 ЕС зумовив порівняно із контролем зменшення відсотку приживання та зменшення ваги рослин. Найбільше рослин приживалося за обробки фунгіцидами Фалькон та Превікур Енерджи 840 sl в.р.к. Останній, окрім фунгіцидного захисту, стимулював ростові процеси, що проявилось в збільшенні маси рослини із 16 г на контролі до 28 г у цьому варіанті.

Висновки. 1. Культивування рослин проводять на середовищі DKW, що забезпечує формування найбільшої кількості мікропагонів – 3,6 шт. порівняно з 1,8 шт. на середовищах QL та 2,1 шт. на MS.

2. Для подолання проблем фенолоутворення пропонуємо ряд заходів: культивування маточних рослин за розсіяного світла в умовах депозитарію; використання антиоксиданта аскорбінової кислоти для замочування експлантатів перед стерилізацією; введення рослин шляхом виділення меристем, пробуджених бруньок; додавання в живильне середовище біоциду PPM (Plant Preservative Mixture); додавання в живильне середовище ПВП (полівінілпіролідон).

3. На етапі мультиплікації в живильне середовище додають 1,5 мг/л бензиламінопурину. Ця концентрація сприяла формуванню у середньому 4,8 шт. мікропагонів з високим темпом росту і з низьким відсотком вітрифікації 2 %.

4. Для успішного ризогенезу середовище модифікують додаванням 2,5 г активованого вугілля та ауксину індолілмасляної кислоти в кількості 3,0 мг/л. Додавання 2,5 г активованого вугілля забезпечує формування найбільшої кількості коренів – 2,3 шт. на 3 мг/л ІМК у складі живильного середовища і сприяє збільшенню кількості коренів із 0 на контролі до 2,5 шт.

5. На початку постасептичної адаптації рослини та субстрат обприскують фунгіцидом Превікур Енерджи 840 sl в.р.к., що забезпечує кращу приживлюваність рослин. Окрім фунгіцидного захисту, препарат стимулює ростові процеси, що проявляється у збільшенні маси рослин.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Балабак О. А., Балабак А. В. Удосконалення технології розмноження сортів фундука в умовах Правобережного Лісостепу України. Вестник Уманського національного університету садоводства. 2015. № 2. С. 44–47.
2. Рижук Т. О. Вивчення регенераційного потенціалу представників роду *Corylus* L. в умовах *in vivo*. Селекційно-генетична наука і освіта. 2017. 211 с.
3. Косенко І. С. Найважливіші досягнення у науковій роботі Національного дендрологічного парку «Софіївка» НАН України у 2010 році. Автохтонні та інтродуковані рослини. 2010.
4. Колчанова О. В., Обозний О. І. Особливості введення в культуру *in vitro* представників роду *Corylus*. Вісник Харківського національного аграрного університету. Серія: Біологія. 2015. № 3. С. 91–97.
5. Подгасцький А. А., Мацкевич В. В., Врублевський А. Т. Використання біоциду РРМ як додаткового деконтамінанта в процесі мікроклонального розмноження рослинних об'єктів. Вісник Сумського національного аграрного університету. Серія: Агрономія і біологія. 2016. № 9. С. 156–160.
6. Мазур Н. Зеленые клоны: на Пересыпи «штампуют» здоровые микросаженцы для плантаций киви и фундука под Одессой. URL: <http://dumskaya.net/news/klonirovanie-po-odesski-v-laboratorii-na-peresyp-073803/>
7. В Ковчеге выращивают саженцы фундука in-vitro. URL: <http://orehovod.com/articles/658-v-kovchege-vyraschivayut-sazhenцы-funduka-in-vitro.html>
8. Lucky PLANTS, ООО. URL: <https://lucky-plants.all.biz/>
9. Тарасенко Г. А. Використання імуноферментного аналізу (ІФА) в діагностиці вірусів представників роду *Corylus* L. Автохтонні та інтродуковані рослини. 2013. № 9. С. 137–141.
10. Тарасенко Г. А. Віруси та вірусні хвороби рослин роду *Corylus* L. в екологічних умовах НДП Софіївка НАНУ. Автохтонні та інтродуковані рослини. 2014. № 10. С. 168–174.
11. Мэтьюс Р. Вирусы растений. М.: Мир. 1973. 686 с.
12. Мацкевич В. В. Удосконалені методи оздоровлення картоплі від вірусів та використання отриманого матеріалу в первинному насінництві: автореферат на здобуття ступеня канд. с.- г. н. за спеціальністю 06.01.14 – насінництво. Київ, 2004. 153 с.
13. Burgess J. E., Thompson M. M. Shoot development and bud mite infestation in hazelnut (*Corylus avellana*). Annals of applied biology. 1985. Т. 107. № 3. С. 397–408.
14. Aramburu J., Rovira M. The effects of apple mosaic ilarvirus (ApMV) on hazelnut (*Corylus avellana* L.). The Journal of Horticultural Science and Biotechnology. 1998. Т. 73. № 1. С. 97–101.
15. Aramburu J., Rovira M. Incidence and natural spread of apple mosaic ilarvirus in hazel in north-east Spain. Plant Pathology. 2000. Т. 49. № 4. С. 423–427.
16. Postman J. D., Mehlenbacher S. A. Apple mosaic virus in hazelnut germplasm. III International Congress on Hazelnut 351. 1992. С. 601–610.
17. Stoops J. et al. Decontamination of powdery and granular foods using Continuous Wave UV radiation in a dynamic process. Journal of Food Engineering. 2013. Т. 119. №. 2. С. 254–259.
18. Dasan B. G., Boyacı I. H., Mutlu M. Nonthermal plasma treatment of *Aspergillus* spp. spores on hazelnuts in an atmospheric pressure fluidized bed plasma system: Impact of process parameters and surveillance of the residual viability of spores. Journal of Food Engineering. 2017. Т. 196. С. 139–149.
19. Reed B. M. et al. Internal bacterial contamination of micropropagated hazelnut: identification and antibiotic treatment. Pathogen and microbial contamination management in micropropagation. Springer, Dordrecht, 1997. С. 169–174.
20. Yu X., Reed B. M. A micropropagation system for hazelnuts (*Corylus* species). HortScience. 1995. Т. 30. № 1. С. 120–123.
21. Reed B. M. et al. Internal bacterial contamination of micropropagated hazelnut: identification and antibiotic treatment. Plant cell, Tissue and organ culture. 1998. Т. 52. № 1–2. С. 67–70.
22. Plant Preservative Mixture. URL: <https://www.plantcelltechnology.com/plant-preservative-mixture-ppm/>
23. Мацкевич О.В., Лісовий М.М. Особливості розмноження гібриду павловнії (*Paulownia*) *in vitro*. VI Міжнародна науково-практична конференція. «Біотехнологія: звершення та надії», присвячена до 120-річчя НУБіП України. 14-16 листопада 2017. м. Київ. С. 218–219.
24. Філіпова Л.М., Мацкевич В.В. Удосконалення елементів технології мікроклонального розмноження *Cornus Mas* L. VI Міжнародна науково-практична конференція. «Біотехнологія: звершення та надії», присвячена до 120-річчя НУБіП України. 14-16 листопада 2017. м. Київ. С. 90–91.
25. Rihan H. Z. et al. The effect of using PPM (plant preservative mixture) on the development of cauliflower microshoots and the quality of artificial seed produced. Scientia horticulturae. 2012. Т. 141. С. 47–52.
26. Schmitzer V. et al. Roasting affects phenolic composition and antioxidative activity of hazelnuts (*Corylus avellana* L.). Journal of food science. 2011. Т. 76. № 1.
27. Oliveira I. et al. Hazel (*Corylus avellana* L.) leaves as source of antimicrobial and antioxidative compounds. Food chemistry. 2007. Т. 105. № 3. С. 1018–1025.
28. Андрієвський В.В., Врублевський А.Т. Особливості введення грецького горіха *in vitro*. Тези VI міжнародної науково-практичної конференції "Біотехнологія: Звершення та надії". Національний університет біоресурсів і природокористування України, 2017. 1. С. 31–32.
29. Тітаренко Т.Є., Медведєва Т. В., Сатіна Г. М., Сатіна Л. Ф. Розмноження буковинських сортів горіха грецького (*Juglas regia* L.). Садівництво. 2009. Вип. 62. С. 58–64.
30. Кефели В.И. Природные ингибиторы роста. Физиология растений. 1997. Т. 44. № 3. С. 471–480.
31. Мороз П. А., Комиссаренко Н. Ф. Аллелопатическая активность некоторых фенольных соединений. Роль токсинов растительного и микробного происхождения в аллелопатии. Киев: Наук. думка. 1983. С. 118–122.

32. Скрипченко Н. В. Динаміка вмісту фенольних речовин в пагонах актинїдії та регенераційна здатність при розмноженні. Вісник харківського національного аграрного університету. Серія «Біологія». 2009. Вип. 1 (16). С. 63–67.
33. Калинин Ф.Л., Кушнир Г. П., Сарнацька В. В. Технология микрклонального размножения растений. Киев: Наук. думка, 1992. 232 с.
34. Кушнир Г. П., Сарнацька В. В. Микрклональне розмноження рослин. К.: Наукова думка, 2005. 271 с.
35. Улинець В.З. Вплив вірусної інфекції на спектральні характеристики фотосинтетичного апарату рослин родини Solanaceae: автореф. дис. канд. біол. наук: 03.00.06 «Ботаника». К., 2002. 22 с.
36. Shi Dongxue. Effects of culture media and plant growth regulators on micropropagation of willow (*Salix matsudana* 'Golden Spiral') and hazelnut (*Corylus colurna* 'Te Terra Red') (2014). Theses, Dissertations, and Student Research in Agronomy and Horticulture. 79. URL: <http://digitalcommons.unl.edu/agronhortdiss/79>.
37. Nas M.N. P.E. Read. 2004. A hypothesis for the development of a defined tissue culture medium of higher plants and micropropagation of hazelnuts. *Scientia Horticulturae*. 101. P. 189–200.
38. Мусяк М.М., Панюта О.О. Біотехнологія рослин: навчальний посібник. К.: Видавничо-поліграфічний центр «Київський університет», 2005. 114 с.
39. Веденичова Н.П., Косаківська І.В. Цитокініни як регулятори онтогенезу рослин за різних умов зростання. Київ: Наш формат, 2017. 200 с.

REFERENCES

1. Balabak, O. A., Balabak, A. V. (2015). Udoskonalennja tehnologii' rozmnozhennja sortiv funduka v umovah Pravoberezhnogo Lisostepu Ukraїny [Improvement of the technology of propagation of varieties of hazelnuts in the conditions of the Right Bank Forest-steppe of Ukraine]. *Vestnyk Umanskogo nacyonal'nogo unyversyteta sadovodstva* [Bulletin of Uman National University of Horticulture], no. 2, pp. 44–47.
2. Ryzhuk T. O. (2017). Vyvchennja regeneracijnogo potencialu predstavnykiv rodu *Corylus* L. v umovah in vivo [Investigation of regeneration potential of representatives of the genus *Corylus* L. in in vivo conditions]. *Selekcijno-genetychna nauka i osvita* [Selection-genetic science and education], 211 p.
3. Kosenko I. S. (2010). Najvazhlyvishi dosjagnennja u naukovij roboti Nacional'nogo dendrologichnogo parku «Sofii'vka» NAN Ukraїny u 2010 roci [Major achievements in the scientific work of the National Dendrology Park "Sofiyivka" of the National Academy of Sciences of Ukraine in 2010]. *Avtohtonni ta introdukovani roslyny* [Autochthonous and introduced plants].
4. Kolchanova, O. V., Oboznyj, O. I. (2015). Osoblyvosti vvedennja v kul'turu in vitro predstavnykiv rodu *Corylus* [Features of introduction into culture of in vitro representatives of the genus *Corylus*]. *Visnyk Harkiv'skogo nacional'nogo agrarnogo unyversytetu. Serija: Biologija* [Bulletin of Kharkiv National Agrarian University. Series: Biology], no. 3, pp. 91–97.
5. Podgajec'kyj, A. A., Mackevych, V. V., Vrublevs'kyj, A. T. (2016). Vykorystannja biocydu RRM jak dodatkovogo dekontaminanta v procesi mikroklonal'nogo rozmnozhennja roslynnyh ob'ektiv [Use of PPM biocide as an additional decontaminant in microclonal reproduction of plant objects]. *Visnyk Sums'kogo nacional'nogo agrarnogo unyversytetu. Serija: Agronomija i biologija* [Bulletin of the Sumy National Agrarian University. Series: Agronomy and Biology], no. 9, pp. 156–160.
6. Mazur, N. Zelenye klony: na Peresypі «shtampujut» zdorovyje mikrosazhency dlja plantacij kivi i funduka pod Odessoj [Green clones: healthy micro seedlings for Kiwi and hazelnut plantations near Odessa are "stamped" on Peresyp]. Available at: <http://dumskaya.net/news/klonirovanie-po-odesski-v-laboratorii-na-peresyp-073803/>
7. V Kovchege vyrashhivajut sazhency funduka in-vitro [In-vitro hazelnut seedlings are grown in the Ark]. Available at: <http://orehovod.com/articles/658-v-kovchege-vyrashchivayut-sazhency-funduka-in-vitro.html>
8. Lucky PLANTS, OOO. Available at: <https://lucky-plants.all.biz/>
9. Tarasenko, G. A. (2013). Vykorystannja imunofermentnogo analizu (IFA) v diagnostyci virusiv predstavnykiv rodu *Corylus* L [Use of immunoassay (ELISA) in the diagnosis of viruses of the genus *Corylus* L]. *Avtohtonni ta introdukovani roslyny* [Autochthonous and introduced plants], no. 9, pp. 137–141.
10. Tarasenko, G. A. (2014). Virusy ta virusni hvoroby roslyn rodu *Corylus* L. v ekologichnyh umovah NDP Sofii'vka NANU [Viruses and viral diseases of plants of the genus *Corylus* L. in the ecological conditions of the NDP Sofiyivka National Academy of Sciences]. *Avtohtonni ta introdukovani roslyny* [Autochthonous and introduced plants], no. 10, pp. 168–174.
11. Mjetjuz, R. (1973). *Virusy rastenij* [Plant viruses]. Moscow, World, 686 p.
12. Mackevych, V. V. (2004). Udoskonaleni metody ozdorovlennja kartopli vid virusiv ta vykorystannja otrymanogo materialu v pervynnomu nasinnnyctvi: avtoreferat na zdobuttja stupenja kand. s.- g. n. za special'nistju 06.01.14 – nasinnnyctvo [Improved methods of sanitation of potatoes from viruses and use of the obtained material in primary seeding: the author's abstract for the degree of candidate of agricultural sciences in the specialty 06.01.14 – seed production]. Kyiv, 153 p.
13. Burgess, J. E., Thompson, M. M. (1985). Shoot development and bud mite infestation in hazelnut (*Corylus avellana*). *Annals of applied biology*. Vol. 107, no. 3, pp. 397–408.
14. Aramburu J., Rovira, M. (1998). The effects of apple mosaic ilarvirus (ApMV) on hazelnut (*Corylus avellana* L.). *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*. Vol. 73, no. 1, pp. 97–101.
15. Aramburu, J., Rovira, M. (2000). Incidence and natural spread of apple mosaic ilarvirus in hazel in north-east Spain. *Plant Pathology*. Vol. 49, no. 4, pp. 423–427.
16. Postman, J. D., Mehlenbacher, S. A. (1992). Apple mosaic virus in hazelnut germplasm. III International Congress on Hazelnut 351. pp. 601–610.
17. Stoops, J. (2013). Decontamination of powdery and granular foods using Continuous Wave UV radiation in a dynamic process. *Journal of Food Engineering*. Vol. 119, no. 2, pp. 254–259.
18. Dasan, B. G., Boyaci, I. H., Mutlu, M. (2017). Nonthermal plasma treatment of *Aspergillus* spp. spores on hazelnuts in an atmospheric pressure fluidized bed plasma system: Impact of process parameters and surveillance of the residual viability of spores. *Journal of Food Engineering*. Vol. 196, pp. 139–149.

19. Reed, B. M. (1997). Internal bacterial contamination of micropropagated hazelnut: identification and antibiotic treatment. *Pathogen and microbial contamination management in micropropagation*. Springer, Dordrecht, pp. 169–174.
20. Yu, X., Reed, B. M. (1995). A micropropagation system for hazelnuts (*Corylus* species). *HortScience*. Vol. 30, no. 1, pp. 120–123.
21. Reed, B. M. (1998). Internal bacterial contamination of micropropagated hazelnut: identification and antibiotic treatment. *Plant cell, Tissue and organ culture*. Vol. 52, no. 1–2, pp. 67–70.
22. Plant Preservative Mixture. Available at: <https://www.plantcelltechnology.com/plant-preservative-mixture-ppm/>
23. Mackevych, O.V., Lisovyj, M.M. Osoblyvosti rozmnozhenja gibrydu pavlovnii' (Paulownia) in vitro [Peculiarities of breeding of the hybrid Paulownia (Paulownia) in vitro]. VI Mizhnarodna naukovo-praktychna konferencija. «Biotehnologija: zvershennja ta nadii», prysvjachena do 120-richchja NUBiP Ukraїny. 14–16 lystopada 2017 [VI International Scientific and Practical Conference. "Biotechnology: achievement and hope", devoted to the 120th anniversary of NUBiP of Ukraine. November 14–16, 2017]. Kyiv, pp. 218–219.
24. Filipova, L.M., Mackevych, V.V. Udoshkonalennja elementiv tehnologii' mikroklonal'nogo rozmnozhenja Cornus Mas L [Improvement of Cornus Mas L microclonal propagation technology elements]. VI Mizhnarodna naukovo-praktychna konferencija. «Biotehnologija: zvershennja ta nadii», prysvjachena do 120-richchja NUBiP Ukraїny. 14–16 lystopada 2017 [VI International Scientific and Practical Conference. "Biotechnology: achievement and hope", devoted to the 120th anniversary of NUBiP of Ukraine. November 14–16, 2017]. Kyiv, pp. 90–91.
25. Rihan, H. Z. (2012). The effect of using PPM (plant preservative mixture) on the development of cauliflower microshoots and the quality of artificial seed produced. *Scientia horticulturae*. Vol. 141, pp. 47–52.
26. Schmitzer, V. (2011). Roasting affects phenolic composition and antioxidative activity of hazelnuts (*Corylus avellana* L.). *Journal of food science*. Vol. 76, no. 1.
27. Oliveira, I. (2007). Hazel (*Corylus avellana* L.) leaves as source of antimicrobial and antioxidative compounds. *Food chemistry*. Vol. 105, no. 3, pp. 1018–1025.
28. Andrijevs'kyj, V.V., Vrublevs'kyj, A.T. (2017). Osoblyvosti vvedennja grec'kogo goriha in vitro [Features of the introduction of walnut in vitro]. Tezy VI mizhnarodnoi' naukovo-praktychnoi' konferencii' "Biotehnologija: Zvershennja ta nadii". Nacional'nyj universytet bioresursiv i pryrodokorystuvannja Ukraїny [Abstracts of the VI International Scientific and Practical Conference "Biotechnology: Achievements and Hope". National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine], no. 1, pp. 31–32.
29. Titarenko, T.Je., Medvedjeva, T. V., Satina, G. M., Satina, L. F. (2009). Rozmnozhenja bukovyns'kyh sortiv goriha grec'kogo (*Juglas regia* L.) [Reproduction of Bukovine grape varieties (*Juglas regia* L.)]. Sadivnyctvo [Gardening], Issue 62, pp. 58–64.
30. Kefeli, V.I. (1997). Prirodnye ingibitory rosta [Natural growth inhibitors]. *Fiziologija rastenij* [Plant physiology], Vol. 44, no. 3, pp. 471–480.
31. Moroz, P. A., Komissarenko, N. F. (1983). Allelopaticeskaja aktivnost' nekotoryh fenol'nyh soedinenij [Allelopathic activity of some phenolic compounds]. Rol' toksinov rastitel'nogo i mikrobnogo proishozhdenija v allelopatii [The role of toxins of plant and microbial origin in allelopathy]. Kyiv, Scientific thought, pp. 118–122.
32. Skrypchenko, N. V. (2009). Dynamika vmistu fenol'nyh rečovyn v pagonah aktynidii' ta regeneracijna zdatnist' pry rozmnozhenji [Dynamics of the content of phenolic substances in actinide shoots and regenerative ability at reproduction]. *Visnyk harkivs'kogo nacional'nogo agrarnogo universytetu. Serija «Biologija»* [Bulletin of Kharkiv National Agrarian University. Biology series], Issue 1 (16), pp. 63–67.
33. Kalinin, F.L., Kushnir, G. P., Sarnac'ka, V. V. (1992). Tehnologija mikroklonal'nogo rozmnozenja rastenij [Technology of microclonal propagation of plants]. Kyiv, Scientific thought, 232 p.
34. Kushnir, G. P., Sarnac'ka, V. V. (2005). Mikroklonal'ne rozmnozhenja roslyn [Microclone propagation of plants]. Kyiv, Scientific thought, 271 p.
35. Ulyneč, V.Z. (2002). Vplyv virusnoi' infekcii' na spektral'ni harakterystyky fotosyntetychnogo aparatu roslyn rodyny Solanaceae: avtoref. dys. kand. biol. nauk: 03.00.06 «Botanika» [Influence of virus infection on the spectral characteristics of the photosynthetic apparatus of plants of the family Solanaceae: the dissertation author's abstract of the candidate of biological sciences: 03.00.06 "Botanika"]. Kyiv, 22 p.
36. Shi, Dongxue. (2014). Effects of culture media and plant growth regulators on micropropagation of willow (*Salix matsudana* 'Golden Spiral') and hazelnut (*Corylus colurna* 'Te Terra Red'). Theses, Dissertations, and Student Research in Agronomy and Horticulture. 79. Available at: <http://digitalcommons.unl.edu/agronhortdiss/79>.
37. Nas, M.N., Read, P.E. (2004). A hypothesis for the development of a defined tissue culture medium of higher plants and micropropagation of hazelnuts. *Scientia Horticulturae*. 101. pp. 189–200.
38. Musijenko, M.M., Panjuta, O.O. (2005). Biotehnologija roslyn [Biotechnology of plants]. Kyiv, Publishing and Printing Center "Kyiv University", 114 p.
39. Vedenychova, N.P., Kosakivs'ka, I.V. (2017). Cytokininy jak reguljatory ontogenezu roslyn za riznyh umov zrostannja [Cytokinins as regulators of ontogenesis of plants under different growth conditions]. Kyiv, Our format, 200 p.

Проблемы микроклонального размножения фундука

Андрієвський В. В., Врублевський А. Т., Філіппова Л. Н., Мацкевич В. В., Мацкевич О. В.

Постановка проблеми. Фундук – ценная орехоплодная культура, в экономическом плане достаточно прибыльная. Сдерживающим фактором для масштабного выращивания фундука в Украине являются малые коэффициенты размножения обычными методами. Альтернативой для решения этой проблемы может быть метод микроклонального размножения, который сейчас активно внедряют в коммерческих целях. Сложности МКР фундука есть на каждом из этапов этой технологии: 1) введение в асептические условия; 2) мультипликация in vitro; 3) индукция ризогенеза; 4) постасептическая адаптация.

Цель. В статье проанализировано проблемные аспекты микроклонального размножения фундука и предложено пути их решения на основе результатов собственных исследований. В частности, изучено влияние фенолообразования, питательной среды, типа, концентрации и метода аппликации фитогормонов на корнеобразование и пролиферацию микропобегов.

Материал и методы исследования. Исследования проводили в стандартных лабораторных условиях. Объект исследований – растения фундука сортов Трапезунд, Сирена, лещина медвежонок. Установлено, что процессы ризогенеза и пролифераций индуцируются трофическими и гормональными детерминантами.

Результаты исследования и обсуждение. Для оптимизации процесса микроклонального размножения фундука рекомендуется использовать питательную среду DKW. Выявлено, что активированный уголь и частые пересадки эксплантов на начальных этапах нейтрализуют фенолообразование. Для преодоления проблем фенолообразования установлено также эффективность ряда таких мероприятий как культивирования маточных растений по рассеянному свету в условиях депозитария; введение растений путем выделения меристем, пробудившихся почек; добавление в питательную среду биоцида PPM (Plant Preservative Mixture); добавление в питательную среду ПВП (поливинилпирролидон). На этапе мультипликации в питательную среду добавляют 1,5 мг/л бензиламинопурина. Нами проверено влияние различных концентраций активированного угля на ризогенез на фоне 3 мг/л ауксина индолилмасляной кислоты. Активированный уголь затеняет питательную среду, адсорбирует токсины, поэтому эффективно влияет на корнеобразование. Среди сравниваемых концентраций оптимальной была 2,5 г/л среды.

Выводы. Показано возможность использования влажной камеры для постасептической адаптации регенерантов. Обработка растений и субстрата фунгицидом Превикур Энерджи 840 сл в.р.к. улучшает их приживаемость и стимулирует рост.

Ключевые слова: микроклональное размножение, деконтаминация, фенольное самоотравление, фитогормоны, индукция корнеобразования, постасептическая адаптация.

The problems of hazelnut microclonal propagation

Andriievsky V., Vrublevsky A., Filipova L., Matskevych V., Matskevych O.

The problem statement. Hazelnut is a valuable nut culture, which is quite profitable in economic way.

A deterrent to an extensive cultivation of hazelnut in Ukraine is a low ratio of breeding in a conventional methods.

The alternative to solving this problem may be the method of microclonal propagation, which is actively implemented in commercial purposes.

The difficulties of hazelnut microclonal propagation exist on every stage of this technology: 1) introduction to aseptic conditions; 2) multiplication *in vitro*; 3) rhizogenesis induction; 4) postaseptic adaptation.

The aim of the research. The article deals with problem aspects of hazelnut microclonal propagation and analyzes the ways of solving these problems based on the own research results. In particular, the influence of phenol emergence, culture medium, type, concentration and method of phytohormones application on root formation and proliferation are examined.

Materials and methods. The research was held in a standart laboratory conditions.

The object of research are hazelnut plants variaties such as *Corylus Trapezund*, *Corylus avellana* Syrena, *Corylus colurna*.

It is established that rhizogenesis and proliferation processes are induced by trophic and hormone determinants.

Results and discussion. Using the DKW culture medium is recommended to optimize the hazelnut micriclonal propagation process.

I was found out that the use of activated carbon and explants transplantation on the early stages neutralizes phenol emergence.

In order to resolve the difficulties of the phenol emergence the effectiveness of such points as cultivation of mother plans in the presence of diffused light in depositary condition, introduction of plant though by meristemas separation, buds awakening, the addition of PPM Plant Preservative Mixture biocide and polyvinylpyrrolidone into the culture medium were established.

At the multiplication stage 1.5 mg/l of benzylaminopurine is added into the culture medium.

The influence of different concnentrations of activated carbon on rhizogenesis on the background of 3 mg/l of auxin indolebutyric acid was stidued.

The activated carbon obscures the culture medium, adsorbes toxines, therefore it has an effective impact on root formation.

Among the comparative concentration the optimal one is 2.5g/l of the medium.

The possibility of using the greenhouse for postaseptic regenerants adaptation is shown.

Conclusions. Processing plants and substrate with Previcur Energi improves their establishment and stimulates the growth.

Key words: microclonal propagation, decontamination, phenol self-poisoning, phytohormones, rhizogenesis induction, postaseptic adaptation.

Надійшла 24.04.2019 р.