

Лісовий М. М., д.с.-г.н., професор, Копій Л. І., д.с.-г.н., професор (Національний лісотехнічний університет України, м. Львів, kopiy@nltu.edu.ua; m.lisovyj@nltu.edu.ua), **Клименко О. М., д.с.-г.н., професор** (Національний університет водного господарства та природокористування, м. Рівне, o.m.klymenko@nuwm.edu.ua), **Фізик І. В., к.с.-г.н., доцент, Гончар В. М., к.с.-г.н., доцент** (Надслучанський інститут НУВГП, м. Березне, i.v.fizyk@nuwm.edu.ua; v.m.honchar@nuwm.edu.ua), **Копій С. Л., к.с.-г.н., доцент, Хоєцький П. Б., д.с.-г.н., професор, Копій М. Л., к.с.-г.н., доцент, Агій В. О., аспірант** (Національний лісотехнічний університет України, м. Львів, s.kopiy@nltu.edu.ua; hpb@ua.fm; marykop16@ukr.net; agijvasyl@gmail.com), **Гожан М. Я., к.с.-г.н., директор** (ТзОВ «Форест-Експерт», gozanmukola@gmail.com)

ВПЛИВ РЕЧОВИН-СТЕРИЛЯНТІВ НА ДЕКОНТАМІНАЦІЮ ЕКСПЛАНТІВ *PINUS SYLVESTRIS* L. В КУЛЬТУРІ *IN VITRO*

Проведено аналіз та узагальнення літературних даних, як вітчизняних, так і іноземних вчених, які стосуються досягнень у сфері мікроклонального розмноження в культурі *in vitro* рослин *Pinus sylvestris* L., зокрема процесу деконтамінації вихідних експлантів. Виконано дослідження впливу концентрації хімічних агентів-стериліантів, а також тривалості обробітку (експозиції) ними на стерилізацію вихідних експлантів досліджуваного виду. Детально охарактеризовано використану методику проведення експериментальних досліджень по отриманню асептичної культури експлантів *Pinus sylvestris* L. для подальшого розмноження їх *in vitro*. Проведено тестування ступінчастої схеми деконтамінації рослинного матеріалу, яка проходила у два основні етапи: первинна та модифікована стерилізація. Перший етап полягав у обробітку експлантів наступним чином: протічна вода із відповідним детергентом («Твін 80»), пероксид водню (H_2O_2) (1; 2; 3% та 3; 5; 10 хвилин), етиловий спирт (C_2H_5OH) (50; 70; 96% та 5; 10; 15 секунд) у наведених концентраціях та експозиціях. Модифікацію первинної схеми деконтамінації експлантів виконували із використанням таких основних хімічних речовин: $NaClO$ (10; 20; 30% та 3; 5;

7 хвилин), AgNO_3 (0,1; 0,2; 0,3% та 5; 10; 15 хвилин) та HgCl_2 (1; 2; 3% та 5; 10; 15 хвилин). Щоб запобігти розвитку внутрішніх інфекцій, застосовували 0,1% антибіотик «Іманін». Виконано дослідження конкретного окремого впливу основних хімічних агентів-стериліантів на ефективність стерилізації та життєздатність експлантів *Pinus sylvestris* L.

Експериментально встановлено оптимальну ступінчасту схему деконтамінації експлантів досліджуваного виду, яка забезпечила ефективність стерилізації $94,33 \pm 1,41\%$ та життєздатність експлантів $91,7 \pm 1,34\%$ і полягала у почерговому обробітку рослинного матеріалу наступним чином: $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ (96%; 10 с) + H_2O з детергентом (6 год) + H_2O_2 (3%; 10 хвилин) + $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ (70%; 10 с) + AgNO_3 (0,2%; 5 хвилин) + NaClO (30%; 5 хвилин).

Ключові слова: деконтамінація; експозиція; концентрація; ефективність стерилізації; життєздатність експлантів.

Постановка проблеми. Досліджуваний вид (*Pinus sylvestris* L.) є хвойним деревом першої величини, яке здатне рости до 20–40 м заввишки та до 80–150 см за діаметром [1; 2]. Сосна звичайна – оліготроф, ксерофіт, морозостійкий і світлолюбний вид, який становить близько 35% від усього державного лісового фонду нашої країни. Вона здатна формувати деревостани у борах, суборах і сугрудках. Деревина досліджуваного виду широко застосовується у якості будівельного матеріалу та сировини у паперово-целюлозній промисловості, з живиці виготовляють скипидар і каніфоль, а у фармакології застосовується пилок, бруньки, кора та хвоя, оскільки вони містять значну кількість аскорбінової кислоти [1].

Окремим пунктом слід відзначити широкий генетичний поліморфізм сосни звичайної (екологічні та морфологічні відміни), який робить її дуже перспективним видом для використання у озелененні населених пунктів [3–5].

Така господарська цінність *Pinus sylvestris* L. і формує потребу у освоєнні нових, сучасних та ефективних способів розмноження, та промислового виробництва селекційно цінного садивного матеріалу. До таких способів належить мікроклонування. Основними перевагами розмноження рослинних організмів *in vitro* є проходження ними у процесі оздоровлення, а також перспектива отримати необхідну кількість одиниць садивного матеріалу із невеликої кількості вихідних

експлантів завдяки можливості їх намноження. Особливою важливою перевагою також є абсолютне збереження усіх спадкових особливостей материнських особин та отримання генетично-ідентичних клонів [6–8].

В цілому, увесь технологічний процес мікроклонального розмноження рослин складають наступні ключові етапи: деконтамінація (стерилізація), ініціації (стимулювання росту експланта), мультиплікація (намноження пагонів), ризогенез (укорінення експлантів) та адаптація (акліматизація до зовнішніх умов). Отримання асептичної культури експлантів є першим важливим завданням при виконанні мікроклонування рослин, який створює передумови для подальшого успішного проходження інших етапів. Основне на у процесі деконтамінації є вивільнення піддослідного рослинного матеріалу (експлантів) від шкідливих патогенів. Для цього використовують відповідні хімічні реагенти (хіміотерапія). Важливим аспектом досліджуваного процесу є збереження максимальної кількості життєздатних експлантів, для чого потрібно виключити їх пошкодження застосованими хімічними стерилізантами [5; 9–12].

Аналіз останніх досліджень та публікацій. Потрібно зазначити, що у літературних даних немає описаної однозначної методики розмноження досліджуваного виду мікроклонуванням. Так, у праці Шлапака В. В. та Небикова М. В. (2011) описано перспективи розмноження в умовах *in vitro* рослин сосни звичайної із використанням як експланти насіння молодих особин (25–30 років). Найкращі показники деконтамінації такого рослинного матеріалу забезпечував його обробіток 0,1% водним розчином дихлориду ртуті протягом 1 хвилини, із подальшим культивуванням на живильному середовищі за рецептом Мурасіге – Скуга (MS), до якого додавали 6-БАП (2,0 мг/л) [13]. Дослідження, проведені Andersone U. та Levinsh G. (2002), стосувались впливу періоду заготівлі і зберігання бруньок як матеріалу для формування вихідних експлантів на проходження морфогенезу в умовах *in vitro*. Крім цього, вказані вчені (2008) досліджували вплив рН живильного середовища на мікроклонування досліджуваного виду. В результаті було встановлено, що під час культивування експлантів сосни звичайної вони окислюють поживне середовище, а тому потрібно знижувати вихідний рівень рН для успішного культивування [14; 15]. Авторами Niemi K. та ін. (2002) встановлено вплив екзогенних діамінів на взаємодії між

ектомікоризними грибами та процесами утворення адвентивних коренів у клонів досліджуваного виду *in vitro*. У цих дослідженнях як експланти було використано насіння, яке піддавали попередній стерилізації 2% гіпохлоридом кальцію протягом 20 хвилин із наступним промиванням дистильованою водою [16].

Загалом, потрібно зазначити доцільність та актуальність дослідження впливу концентрації та експозиції агентів стериліантів на деконтамінацію вихідних експлантів *Pinus sylvestris* L. в умовах *in vitro*, оскільки такі узагальненні дані у літературі відсутні.

Мета та методи дослідження. Наведена інформація дає можливість зробити висновок про доцільність виконання експериментальних досліджень зі встановлення впливу основних хімічних агентів-стериліантів на процес деконтамінації експлантів *Pinus sylvestris* L. при розмноженні *in vitro*.

Об'єкт дослідження – асептичні експланти *Pinus sylvestris* L.

Предмет дослідження – деконтамінація вихідних експлантів *Pinus sylvestris* L. для подальшого їх розмноження *in vitro*.

Мета дослідження – встановити вплив концентрації та тривалості обробітку (експозиції) хімічних реагентів-стериліантів на процес деконтамінації експлантів *Pinus sylvestris* L. в умовах *in vitro* та розробити оптимальний протокол їх стерилізації.

Дослідження успішності по деконтамінації експлантів *Pinus sylvestris* L. проводили у лабораторії культури тканин кафедри лісових культур і лісової селекції НЛТУ України, за загальноприйнятими методиками, а також у власних їх модифікаціях [10; 17; 18]. У якості вихідних експлантів використовувались бічні та верхівкові вегетативні бруньки досліджуваного виду. Усі роботи виконували у асептичних умовах.

Окремі дослідники стверджують про ефективність проведення стерилізації вихідних експлантів із використанням одного хімічного агента. Вважаємо це не до кінця ефективним, оскільки певні патогени можуть мати резистентність до окремого стериліанта, або бути не стійким до іншого. У нашій роботі була застосована ступінчаста схема стерилізації, яка передбачала почерговий обробіток експлантів досліджуваного виду низкою агентів у різних концентраціях та комбінаціях (табл. 1).

Таблиця 1

Використані речовини для деконтамінації вихідних експлантів

№ з/п	Стерилізуючий агент	Концентрація	Експозиція
1	протічна H ₂ O + детергент + «Твін 80»	10 + 5 г/л	2, 4, 6 годин
2	H ₂ O ₂	1; 2; 3%	3; 5; 10 хвилин
3	C ₂ H ₅ OH*	50; 70; 96%	5; 10; 15 секунд
4	NaClO	10; 20; 30%	3; 5; 7 хвилин
5	AgNO ₃	0,1; 0,2; 0,3%	5; 10; 15 хвилин
6	HgCl ₂	1; 2; 3%	5; 10; 15 хвилин

* Примітка: усі варіанти досліду були проведені із першочерговим обробітком експлантів етанолом, з метою видалення смоляного нальоту.

Речовини 1–3 (табл. 1) було використано як «первинна стерилізація» у всіх можливих комбінаціях. Вплив речовин під номером 4–6 («модифікована стерилізація») на процес деконтамінації експлантів, досліджувався окремо. Подолання внутрішньої інфекції у всіх варіантах досліджень виконували обробітком 0,1% водним розчином антибіотику «Іманін».

Простерилізований рослинний матеріал пасажували на живильне середовище MS (Murashige and Skoog) без стимуляторів росту та спостерігали протягом 10–15 діб. На основі отриманих результатів визначали наступні показники стерилізації:

- Ефективність стерилізації (ЕС), за формулою:

$$EC = (nC / N) \times 100\%, \quad (1)$$

де nC – кількість отриманих асептичних експлантів, шт.;

N – загальна кількість простерилізованих експлантів, шт.

- Життєздатність експлантів (ЖЕ), за формулою:

$$JE = (nJ / N) \times 100\%, \quad (2)$$

де nJ – кількість отриманих живих експлантів (без некротичних та інфікованих), шт.

Результати дослідження та їх обговорення. Основна мета первинної стерилізації полягала у забезпеченні максимальної кількості асептичних експлантів, а також виключення варіантів із утворенням некротичного матеріалу, оскільки у подальшому проводили модифікацію процесу деконтамінації вказаними основними стерилізантами.

Попередньо дослідженням було встановлено оптимальну первинну стерилізацію, яка забезпечила 44,8% асептичних

життєздатних експлантів, а саме: $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ (96%; 10 секунд) + H_2O з детергентом (6 годин) + H_2O_2 (3%; 10 хвилин) + $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ (70%; 10 секунд).

Подальше визначення оптимальної концентрації, експозиції ті типу основних реагентів (AgNO_3 , NaClO та HgCl_2) було можливе завдяки дискретному аналізу їх впливу на ефективність стерилізації та життєздатність експлантів досліджуваного виду. Треба зазначити, що ефективність стерилізації експлантів досліджуваного виду варіювала у межах 53,3–100% за їх життєздатності 36,7–100%.

За обробки експлантів досліджуваного виду AgNO_3 встановлено, що експозиція має порівняно менший вплив на ефективність стерилізації, відносно концентрації цієї речовини (рис. 1, а).

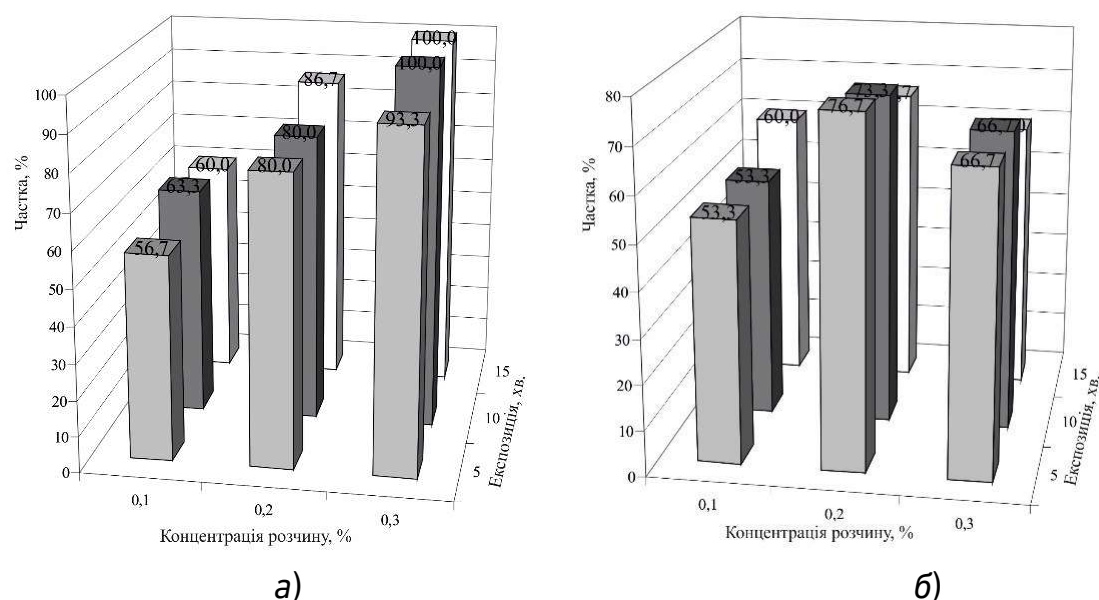


Рис. 1. Вплив концентрації та експозиції AgNO_3 на: а) ефективність стерилізації; б) життєздатність експлантів

Найбільшу кількість стерильних експлантів (100%), фіксували при максимальній концентрації агенту (0,3%) та експозицією 10 і 15 хв. Також порівняно високі показники спостерігали за вмісту AgNO_3 0,2%, де при експозиціях 5 та 10 хв ефективність була на рівні 80,0%, а при 15 хв – аж 86,7%.

Інші результати спостерігали під час дослідження показника життєздатності експлантів досліджуваного виду (рис. 1, б). Максимальну кількість життєздатних експлантів відмічали при вмісті AgNO_3 у розчині 0,2%, де при експозиції 5 хв вона становила 76,7%. Із зростанням експозиції спостерігалось зниження цього показника,

оскільки з'являвся некротичний рослинний матеріал. При концентрації 0,1% AgNO_3 відмічено найнижчий показник життєздатності – 53,3–60,0%, який зростав із збільшенням експозиції. При максимальній концентрації AgNO_3 вихід живих експлантів при експозиціях 5 та 10 хв становив по 66,7% та трохи менше за обробітку протягом 15 хв.

Подібна тенденція відмічалась при обробці експлантів сосни звичайної NaClO (рис. 2).

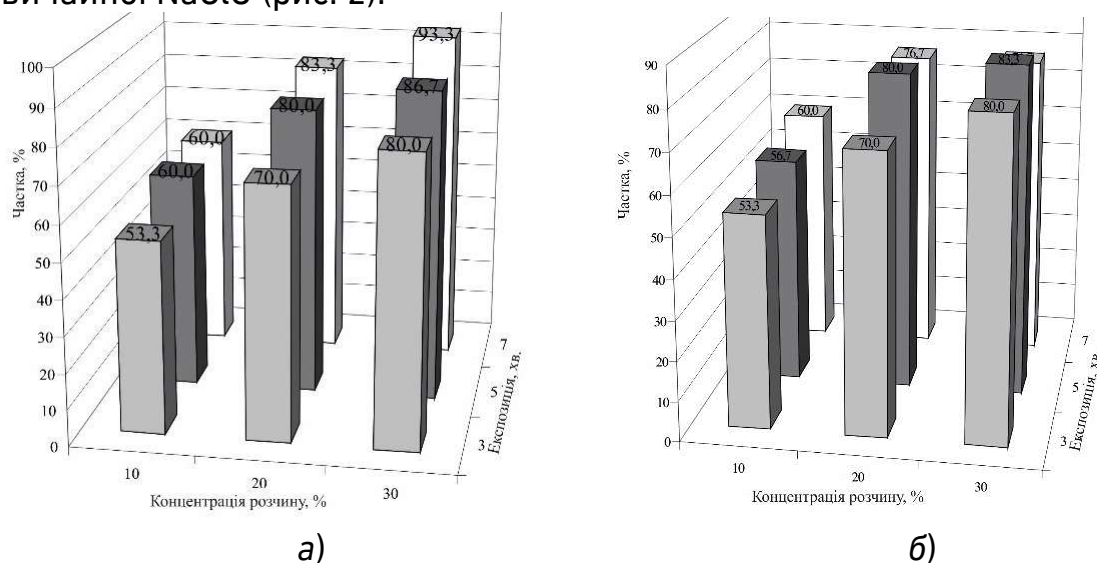


Рис. 2. Вплив концентрації та експозиції NaClO на: а) ефективність стерилізації; б) життєздатність експлантів

Зростанням і вмісту NaClO , і експозиції обробітку експлантів досліджуваного забезпечувало збільшення кількості стерильного рослинного матеріалу. Але у розрізі досліджуваних концентрацій варіювання було дещо вищим. Зокрема, з 53,3 до 80,0% зростала ефективність стерилізації із зміною концентрації NaClO з 10 до 30% за мінімальної експозиції. До порівняння, ефективність при мінімальній концентрації, із збільшенням експозиції від 3 до 7 хв, зростає лише із 53,3 до 60,0%. Саме такі ж закономірності відзначали у всіх варіантах досліджень.

Отже, найбільшу кількість простерилізованих експлантів сосни звичайної спостерігали при концентрації NaClO 30% та експозиції 7 хв, а саме 93,3%. Цікавим є те, що цей реагент у жодному варіанті не забезпечив 100% результативності.

Треба зазначити, що життєздатність експлантів, при мінімальній концентрації NaClO , була майже ідентичною до показника

ефективності і змінювалася у подібних межах (53,3–60,0%) при зростанні експозиції. Але збільшення вмісту діючої речовини різко змінювали ці закономірності.

Отже, найвищий показник життєздатності експлантів сосни звичайної відмічено за експозиції 5 хв, що можна пояснити появою некротичного рослинного матеріалу із її зростанням. Так, максимальну кількість (83,3%) було отримано за цієї ж експозиції у розчині NaClO на рівні 30%. Також досить значний вихід живих експлантів (по 80%) відмічено при концентрації цього агента 30% і експозиціях 3 хв та 20% і 5 хв відповідно, що доводить важливість врахування обох параметрів стерилізуючої речовини.

Досить інші дані від попередніх досліджуваних показників стерилізації експлантів сосни звичайної стериліантів спостерігали при використанні як стерилізуючого реактиву HgCl_2 , зокрема, що стосувалось встановлення життєздатності (рис. 3).

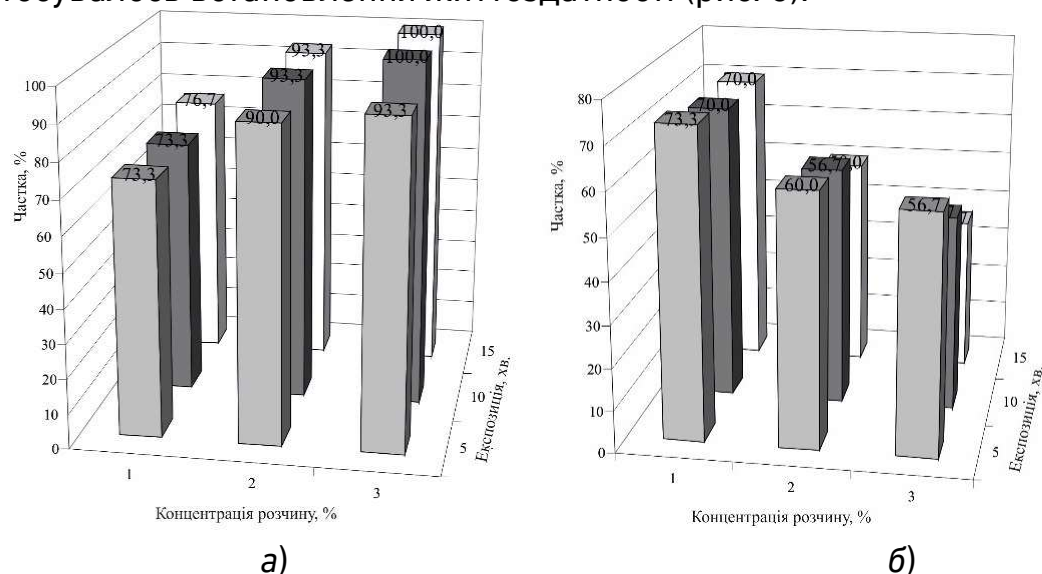


Рис. 3. Вплив концентрації та експозиції HgCl_2 на: а) ефективність стерилізації; б) життєздатність експлантів

Цей хімічний агент майже у всіх варіантах досліджень забезпечив порівняно високий вихід стерильних експлантів досліджуваного виду (73,3–100,0%). Зростання як концентрації, так і експозиції HgCl_2 забезпечувало збільшення досліджуваного показника стерилізації. Окрім цього, цікавим є те, що вміст діючої речовини впливав більшою мірою на ефективність стерилізації експлантів порівняно із експозицією. Так, при обробці експлантів

експозицією 5 хв, при збільшенні концентрації HgCl_2 з 1 до 3%, ефективність зростала від 73,3 до 93,3% (на 20%), а збільшення експозиції з 5 до 15 хв (1%) забезпечило зростання кількості стерильних експлантів лише 3,4% (з 73,3 до 76,7%).

Відповідно, максимальна результативність (100% ефективності) була досягнута при максимальних параметрах агенту HgCl_2 (концентрації 3%; експозиції 10 та 15 хв).

Щодо кількості життєздатних експлантів досліджуваного виду при використанні HgCl_2 , було відмічено абсолютно протилежну тенденцію до ефективності стерилізації. Тобто, зростання і експозиції, і концентрації діючої речовини забезпечувало зменшення кількості живих експлантів, на нашу думку, внаслідок токсичності стериліанта. Максимальну кількість життєздатних експлантів (73,3%) було отримано при мінімальній експозиції та концентрації агента (1% та 5 хв відповідно).

Провівши аналіз сумісного впливу дії концентрації стерилізуючого агента та тривалості обробки на досліджувані показники деконтамінації, було визначено оптимальні характеристики кожного із стериліантів (табл. 2).

Таблиця 2

Максимальні показники стерилізації по окремих хімічних агентах

№ з/п	Концентрація та експозиція реагента	*ЕС, %	*ЖЕ, %
1	AgNO_3 (0,2 %; 10 хв)	80,0	76,7
2	NaClO (20 %; 5 хв)	86,7	83,3
3	HgCl_2 (1 %; 10 хв)	73,3	73,3

*Примітки: ЕС – ефективність стерилізації; ЖЕ – життєздатність експлантів.

Наведені концентрації та експозиції застосованих агентів (табл. 1) стали підосною для подальшої модифікації ступеневої схеми деконтамінації експлантів, яка полягала у використанні їх разом, а також почерговому виключенні.

Провівши відповідні дослідження було отримано максимальні показники ефективності стерилізації ($94,33 \pm 1,41\%$) і життєздатності експлантів ($91,7 \pm 1,34\%$) для досліджуваного виду при використанні наступної схеми деконтамінації: $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ (96%; 10 с) + H_2O з детергентом (6 год) + H_2O_2 (3%; 10 хв) + $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ (70%; 10 с) + AgNO_3 (0,2%; 5 хв) + NaClO (30%; 5 хв).

Висновки. Виконавши низку експериментальних досліджень було встановлено, що і концентрації, і тривалість обробітку застосованими основними стерилізантами (AgNO_3 , NaClO та HgCl_2) мають значний вплив на показник ефективності стерилізації і життєздатність експлантів сосни звичайної. Встановлено, що зростання концентрації AgNO_3 спричиняє збільшення показника ефективності стерилізації, а зростання тривалості обробітку спричиняє відносно незначне підвищення цього показника, але здатне знижувати життєздатність експлантів.

Збільшення вмісту діючої речовини NaClO та експозиції обробітку експлантів спричиняє зростання показника ефективності стерилізації, проте у розрізі концентрацій варіювання було дещо вищим. Найбільша кількість стерильних експлантів сосни звичайної забезпечувалась концентрацією NaClO 30% та експозиції 7 хв і становила 93,3%.

Агент HgCl_2 практично у всіх досліджуваних варіантах забезпечував високий вихід стерильних експлантів сосни звичайної (73,3–100,0%). Тут вміст діючої речовини більше впливав на ефективність стерилізації ніж експозиція. Треба зазначити, що зростання експозиції та концентрації HgCl_2 спричиняло зниження життєздатності експлантів. Отже, максимальна кількість життєздатних експлантів (73,3%) була забезпечена мінімальною експозицією та концентрацією цього реагента (1% та 5 хв відповідно).

1. Заячук В. Я. Дендрологія. Львів : Апріорі, 2008. 656 с.
2. Калініченко О. А. Декоративна дендрологія. Київ : Вища школа, 2003. 199 с.
3. Лісовий М. М. Гетеровегетативне розмноження декоративних форм *Pinus sylvestris* L. Збереження та відтворення біорізноманіття природо-заповідних територій : матер. Міжнар. наук.-практ. конф., присвяч. 15-річчю створення природного парку «Сколівські Бескиди». Львів : ЗУКЦ, 2014. С. 121–125.
4. Лісовий М. М. Особливості поліморфізму, використання у озелененні та щеплення декоративних форм *Pinus sylvestris* L. Науковий вісник НЛТУ України. 2013. Вип. 23(18). С. 17–22.
5. Лісовий М. М. Особливості розмноження *Pinus sylvestris* L. в умовах *in vitro*. Науковий вісник НЛТУ України. 2016. Вип. 26.8. С. 123–129.
6. Лісовий М. М. Мікроклональне розмноження цінних генотипів *Taxus baccata* L. Науковий вісник НЛТУ України. 2016. Вип. 26.1. С. 29–35.
7. Лісовий М. М. Особливості автовегетативного розмноження декоративних форм *Thuja occidentalis* L. Науковий вісник НЛТУ України. 2015. Вип. 25.9. С. 57–63.
8. Лісовий М. М. Особливості отримання асептичної культури *Thuja occidentalis* L. в умовах *in vitro*. Науковий вісник НЛТУ України. 2017. Вип. 27.9. С. 27–29.
9. Лісовий М. М. Особливості отримання

асептичної культури *Larix decidua* Mill. в умовах *in vitro*. *Науковий вісник НЛТУ України*. 2017. Вип. 27.4. С. 52–55. **10.** Мельничук М. Д., Новак Т. В., Кунах В. А. Біотехнологія рослин. Київ : ПоліграфКонсалтинг, 2003. 520 с. **11.** Методичні рекомендації для мікроклонального розмноження деревних та трав'янистих рослин. Київ : НАУ, 2003. 40 с. **12.** Мусієнко М. М. Фізіологія рослин. Київ : Либідь, 2005. С. 541–546. **13.** Шлапак В. В., Небиков М. В. Особливості насіннєвого розмноження *Pinus sylvestris* L. в умовах *in vitro*. *Науковий вісник НЛТУ України*. 2011. Вип. 21(14). С. 43–48. **14.** in Mature *Pinus sylvestris* L. Buds *in vitro*. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4240419/>. (дата звернення: 12.03.2025). **15.** Andersone U. Medium pH affects regeneration capacity and oxidative enzyme activity of *Pinus sylvestris* in tissue culture. URL: <http://eeb.lu.lv/EEB/2008/Andersone.pdf>. (дата звернення: 12.03.2025). **16.** Niemi K., Haggman H., Sarjala T. Effects of exogenous diamines on the interaction between ectomycorrhizal fungi and adventitious root formation in Scots pine *in vitro*. URL: <https://academic.oup.com/treephys/article/22/6/373/1695186/Effects-of-exogenous-diamines-on-the-interaction>. (дата звернення: 12.03.2025). **17.** Мельничук М. Д., Григорюк І. П., Новак Т. В., Кляченко О. Л., Коломієць Ю. В., Спиридонов В. Г., Ключащенко А. А., Антіпов І. О., Оверченко В. В., Облап Р. В., Новак Н. Б. Біотехнологія рослин. Київ : Видавничий центр НУБіП України, 2011. 216 с. **18.** Мусієнко М. М., Панюта О. О. Біотехнологія рослин. Київ : ВПЦ «Київський університет», 2005. 114 с.

REFERENCES:

1. Zaiachuk V. Ya. Dendrolohiia. Lviv : Apriori, 2008. 656 s. **2.** Kalinichenko O. A. Dekorativna dendrolohiia. Kyiv : Vyshcha shkola, 2003. 199 s. **3.** Lisovyi M. M. Heterovehetatyvne rozmnozhennia dekorativnykh form *Pinus sylvestris* L. Zberezhennia ta vidtvorennia bioriznomanittia pryrodo-zapovidnykh terytorii : mater. Mizhnar. nauk.-prakt. konf., prysviach. 15-richchiu stvorennia pryrodnoho parku «Skolivski Beskydy». Lviv : ZUKTs, 2014. S. 121–125. **4.** Lisovyi M. M. Osoblyvosti polimorfizmu, vykorystannia u ozelenenni ta shcheplennia dekorativnykh form *Pinus sylvestris* L. *Naukovyi visnyk NLTU Ukrainy*. 2013. Vyp. 23(18). S. 17–22. **5.** Lisovyi M. M. Osoblyvosti rozmnozhennia *Pinus sylvestris* L. v umovakh *in vitro*. *Naukovyi visnyk NLTU Ukrainy*. 2016. Vyp. 26.8. S. 123–129. **6.** Lisovyi M. M. Mikroklonalne rozmnozhennia tsinnykh henotypiv *Taxus baccata* L. *Naukovyi visnyk NLTU Ukrainy*. 2016. Vyp. 26.1. S. 29–35. **7.** Lisovyi M. M. Osoblyvosti avtovehetatyvnogo rozmnozhennia dekorativnykh form *Thuja occidentalis* L. *Naukovyi visnyk NLTU Ukrainy*. 2015. Vyp. 25.9. S. 57–63. **8.** Lisovyi M. M. Osoblyvosti otrymannia aseptychnoi kultury *Thuja occidentalis* L. v umovakh *in vitro*. *Naukovyi visnyk NLTU Ukrainy*. 2017.

Vyp. 27.9. S. 27–29. **9.** Lisovyi M. M. Osoblyvosti otrymannia aseptychnoi kultury *Larix decidua* Mill. v umovakh *in vitro*. *Naukovyi visnyk NLTU Ukrainy*. 2017. Vyp. 27.4. S. 52–55. **10.** Melnychuk M. D., Novak T. V., Kunakh V. A. Biotekhnolohiia roslyn. Kyiv : PolihrafKonsal'tynh, 2003. 520 s. **11.** Metodychni rekomendatsii dlia mikroklonalnoho rozmnozhennia derevnykh ta travianystrykh roslyn. Kyiv : NAU, 2003. 40 s. **12.** Musiienko M. M. Fiziolohiia roslyn. Kyiv : Lybid, 2005. S. 541–546. **13.** Shlapak V. V., Nebykov M. V. Osoblyvosti nasinnievoho rozmnozhennia *Pinus sylvestris* L. v umovakh *in vitro*. *Naukovyi visnyk NLTU Ukrainy*. 2011. Vyp. 21(14). S. 43–48. **14.** in Mature *Pinus sylvestris* L. Buds *in vitro*. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4240419/>. (data zvernennia: 12.03.2025). **15.** Andersone U. Medium pH affects regeneration capacity and oxidative enzyme activity of *Pinus sylvestris* in tissue culture. URL: <http://eeb.lu.lv/EEB/2008/Andersone.pdf>. (data zvernennia: 12.03.2025). **16.** Niemi K., Haggman H., Sarjala T. Effects of exogenous diamines on the interaction between ectomycorrhizal fungi and adventitious root formation in Scots pine *in vitro*. URL: <https://academic.oup.com/treephys/article/22/6/373/1695186/Effects-of-exogenous-diamines-on-the-interaction>. (data zvernennia: 12.03.2025). **17.** Melnychuk M. D., Hryhoriuk I. P., Novak T. V., Kliachenko O. L., Kolomiiets Yu. V., Spyrydonov V. H., Kliuvadenko A. A., Antipov I. O., Overchenko V. V., Oblap R. V., Novak N. B. Biotekhnolohiia roslyn. Kyiv : Vydavnychiy tsentr NUBiP Ukrainy, 2011. 216 s. **18.** Musiienko M. M., Paniuta O. O. Biotekhnolohiia roslyn. Kyiv : VPTs «Kyivskyi universytet», 2005. 114 s.

Lisovyi M. M., Doctor of Agricultural Sciences, Professor, Kopii L. I., Doctor of Agricultural Sciences, Professor (National Forestry University of Ukraine, Lviv), **Klymenko O. M., Doctor of Agricultural Sciences, Professor** (National University of Water and Environmental Engineering, Rivne), **Fyzik I. V., Candidate of Agricultural Sciences (Ph.D.), Associate Professor, Honchar V. M., Candidate of Agricultural Sciences (Ph.D.), Associate Professor** (Nadsluchansky Institute NUWM, Berezne), **Kopii S. L., Candidate of Agricultural Sciences (Ph.D.), Associate Professor, Khoietskyi P. B., Doctor of Agricultural Sciences, Professor, Kopii M. L., Candidate of Agricultural Sciences (Ph.D.), Associate Professor, Ahii V. O., Post-graduate Student** (National Forestry University of Ukraine, Lviv), **Hozhan M. Ya., Candidate of Agricultural Sciences (Ph.D.), Director** (TzOV «Forest-Expert»)

INFLUENCE OF STERILANT SUBSTANCES ON THE DECONTAMINATION OF *PINUS SYLVESTRIS* L. EXPLANTS IN CULTURE *IN VITRO*

An analysis and generalization of a number of literary data, both domestic and foreign scientists, concerning achievements in the field of microclonal propagation in *in vitro* culture of *Pinus sylvestris* L. plants, in particular the process of decontamination of initial explants, was carried out. A study was carried out on the influence of the concentration of chemical sterilant agents, as well as the duration of treatment (exposure) with them on the sterilization of initial explants of the studied species. The used methodology for conducting experimental studies on obtaining an aseptic culture of *Pinus sylvestris* L. explants for their further propagation *in vitro* was described in detail. A stepwise scheme of decontamination of plant material was tested, which took place in two main stages: primary and modified sterilization. The first stage consisted of treating the explants as follows: running water with an appropriate detergent («Tween 80»), hydrogen peroxide (H_2O_2) (1; 2; 3% and 3; 5; 10 minutes), ethyl alcohol (C_2H_5OH) (50; 70; 96% and 5; 10; 15 seconds) in the indicated concentrations and exposures. Modification of the primary scheme of decontamination of explants was performed using the following basic chemicals: $NaClO$ (10; 20; 30% and 3; 5; 7 minutes), $AgNO_3$ (0.1; 0.2; 0.3 % and 5; 10; 15 minutes) and $HgCl_2$ (1; 2; 3% and 5; 10; 15 minutes). To prevent the development of internal infections, 0.1% antibiotic «Imanin» was used. A study was conducted

of the specific individual effect of the main chemical sterilants on the sterilization efficiency and viability of *Pinus sylvestris* L. explants.

The optimal stepwise decontamination scheme for explants of the studied species was experimentally established, which provided sterilization efficiency of $94.33 \pm 1.41\%$ and explant viability of $91.7 \pm 1.34\%$ and consisted of alternate treatment of plant material as follows: C_2H_5OH (96%; 10 seconds) + H_2O with detergent (6 h) + H_2O_2 (3%; 10 minutes) + C_2H_5OH (70 %; 10 s) + $AgNO_3$ (0.2%; 5 minutes) + $NaClO$ (30%; 5 minutes).

***Keywords:* decontamination; exposure; concentration; sterilization efficiency; explant viability.**