



С. А. Адаменко, В. П. Шлапак, С. С. Курка, М. І. Парубок, О. П. Тисячний

Уманський національний університет садівництва, м. Умань, Україна

ОСОБЛИВОСТІ ВВЕДЕННЯ *PINUS STROBUS* L. У КУЛЬТУРУ *IN VITRO*

Досліджено особливості клонального мікророзмноження рослин *P. strobus* у культурі *in vitro*. Наведено результати досліджень з підбору реагентів, їх концентрації та експозиції з метою отримання стерильних експлантів, для подальшого їх культивування. Вважають, що найбільше ураження рослинного матеріалу відбувається в літній період, а найменше – у зимовий. У ролі експлантів використано апекси верхівкових бруньок, що заготовляли у другій половині грудня та насіння поточного року. Для стерилізації відібрано зразки, які почергово занурювали в дезінфікувальні розчини гіпохлориту натрію, перекису водню та етилового спирту з різною експозицією. Встановлено, що для успішного введення *P. strobus* у культуру *in vitro* найкраще використовувати 2,5 % гіпохлорит натрію з експозицією 6–10 хвилин. Виконано підбір оптимального середовища для розмноження рослинного матеріалу та підвищення частоти регенерування – частки експлантів, які утворили адвентивні мікропагони та кількості нових мікропагонів на експлант. Бруньки у ролі експлантів не використовували, оскільки після проведення стерилізації їх заражуваність інфекцією була вищою, а відсоток життєздатності нижчий, ніж у насіння. Виявлено, що на середовищі Ллойда-Мак-Коуна та Шенка-Хільдебранта експланти розвивались, але бічні пагони утворювались слабо і майже не росли. На середовищі Гамборга материнські експланти взагалі не розвивались і з часом почали гинути. Найсприятливішим для культивування експлантів виявилось середовище Мурасіге-Скуга, тому подальші дослідження виконували на його основі. Для цього новоутворені експланти, отримані після першого культивування, пересаджували на це середовище, модифіковане додаванням регуляторів росту – індолілоцтової (ІОК) та нафтілоцтової кислот (НОК) з концентрацією 0,5 мг/л та бензиламінопурину (БАП) з концентрацією від 0,5 до 1,5 мг/л. Усього було дев'ять варіантів дослідів. Встановлено, що найефективнішим був варіант, у якому в середовище додавали 0,5 мг/л НОК і 1 мг/л БАП.

Ключові слова: стерилізатор; експозиція; живильне середовище; мікропагони.

Вступ. Підвищення продуктивності лісів, покращення їх видового та якісного складу є головними завданнями розвитку лісової галузі багатьох країн світу. В умовах інтенсивного ведення господарства, для прискорення отримання товарної деревини доброї якості, постало питання використання швидкорослих інтродукованих і добре пристосованих до нових умов середовища видів. Одним із них є *P. strobus* – дерево заввишки до 50–60 м і діаметром близько 1,5 м з пірамідальною кроною і гладкою сірою корою [14, 20].

Природний ареал поширення *P. strobus* простягається у східній частині Північної Америки, приблизно між 40° пн.ш. на півдні до 51° пн.ш. на півночі [5, 8]. Вона є важливою лісовою породою південно-східної частини Канади, а також східної та південно-східної частини США [21].

В Європу (Англія) *P. strobus* вперше було інтроду-

ковано у 1705 р. Відтоді вона значно поширилась в лісових культурах та парках інших країн Європи, а також у європейській частині Російської Федерації, Білорусі, Литві та Латвії.

На територію України *P. strobus* було завезено вперше в 1796 р. [15]. Ця відносно тіньовитривала і морозостійка, але чутлива до посухи, деревна порода швидко набула важливого значення в лісовому господарстві та, як декоративна порода, в зеленому будівництві.

Зазвичай *P. strobus* розмножується насіннєвим способом, який має низку переваг, а саме: менші витрати на створення та догляд, простіше отримання садивного матеріалу, більша генотипна різноманітність вирощених сіянців, вища біологічна стійкість і довговічність насінних дерев. Водночас, є і недоліки: пізніше настання термінів дозрівання насіння, нижча генетична цінність отриманих сіянців.

Інформація про авторів:

Адаменко Світлана Анатоліївна, канд. біол. наук, викладач, кафедра лісового господарства. Email: svitlanka0613@ukr.net;

<https://orcid.org/0000-0003-4656-1180>

Шлапак Володимир Петрович, д-р с.-г. наук, професор, завідувач кафедри лісового господарства. Email: shlapakwp@gmail.com

Курка Світлана Сергіївна, канд. біол. наук, доцент, кафедра лісового господарства. Email: svetlana9075@ukr.net

Парубок Маргарита Іванівна, канд. біол. наук, доцент, кафедра біології. Email: m.parubok69@gmail.com

Тисячний Олег Петрович, канд. с.-г. наук, ст. викладач, кафедра садово-паркового господарства. Email: spguman@gmail.com.ua

Цитування за ДСТУ: Адаменко С. А., Шлапак В. П., Курка С. С., Парубок М. І., Тисячний О. П. Особливості введення *Pinus strobus* L. у культуру *in vitro*. Науковий вісник НЛТУ України. 2020, т. 30, № 2. С. 9–13.

Citation APA: Adamenko, S. A., Shlapak, V. P., Kurka, S. S., Parubok, M. I., & Tysyachnyy, O. P. (2020). The peculiarities of micropropagation of *Pinus strobus* L. into the *in vitro* culture. *Scientific Bulletin of UNFU*, 30(2), 9–13. <https://doi.org/10.36930/40300201>

Аналіз літературних джерел. Хвойні рослини є одними з найскладніших об'єктів для культивування *in vitro*. Це пов'язано з великою кількістю вторинних сполук у їхніх тканинах, які пригнічують поділ і ріст клітин, призводячи до загибелі первинного експланта або до зменшення регенераційної здатності тканин з віком. Проте є дані про вдалі спроби розмноження *P. strobus* у культурі *in vitro* [10, 11, 21]. Використання методу розмноження елітних генотипів і форм, підвищення стійкості рослин методами генної інженерії, а також для отримання здорового, позбавленого вірусної і бактеріальної інфекції матеріалу [3, 19]. За цього способу найпоширенішим є розмноження апікальною частиною пагона, тому що це дає змогу отримати найбільшу кількість клонів. Рослини мають високу генетичну стабільність і низьку вірогідність соматичної варіації порівняно з рослинами, утвореними органогенезом [22].

Об'єкт дослідження – процес деконтамінації та індукції морфогенезу в рослин *P. strobus*.

Предмет дослідження – методи та засоби процесу деконтамінації та індукції морфогенезу в рослин *P. strobus*, які дадуть змогу отримати стерильні рослини, а також здійснити підбір оптимального живильного середовища для індукції морфогенезу.

Мета дослідження полягала в опрацюванні методик і виконанні експериментальних робіт зі знезараження експлантів *P. strobus*, для отримання стерильних рослин, а також у подальшому підборі оптимального живильного середовища для індукції морфогенезу.

Для досягнення зазначеної мети потрібно виконати такі завдання дослідження:

- з'ясувати, чому під час введення *P. strobus* у культуру *in vitro* як первинні експланти можна використовувати достигле насіння в стані спокою;
- встановити, що краще використовувати у ролі стерилізатора для бруньок та для насіння;
- дослідити найпридатніші живильні середовища для розмноження *P. nigra* в умовах *in vitro* і встановити коефіцієнт їх розмноження.

Наукова новизна результатів дослідження полягає в тому, що вперше підібрано оптимальну концентрацію реагенту та тривалість стерилізації експлантів. А також підібрано середовище з оптимальною концентрацією фітогормонів, для подальшого культивування.

Практична значущість отриманих результатів полягає в тому, що у разі введення *P. strobus* у культуру *in vitro* як первинні експланти можна використовувати достигле насіння в стані спокою, а бруньки краще не використовувати, оскільки їх заражуваність інфекцією є вищою, а частка життєздатності – нижча.

Матеріали і методи дослідження. Вважають, що найбільше ураження рослинного матеріалу відбувається в літній період, а найменше – в зимовий [4]. У ролі експлантів використовували апекси верхівкових бруньок, що заготовляли у другій половині грудня та насіння поточного року. На першому етапі стерилізації бруньки та насіння промивали у воді з додаванням мийного засобу, потім почергово занурювали їх в дезінфікуювальні розчини гіпохлориту натрію, перекису водню та етилового спирту з різною експозицією. Після завершення стерилізації експланти 6 разів промивали дистильованою водою. Дослідження проводили у трьох повтореннях. У кожному варіанті було по 25 насінин і по 25 бруньок (табл. 1).

Табл. 1. Способи стерилізації експлантів *P. strobus*

Варіант дослідження	Експлант	Застосований реагент					
		H ₂ O ₂		C ₂ H ₅ OH		NaClO	
		Конц., %	Час, хв	Конц., %	Час, хв	Конц., %	Час, хв
1	Насіння	5	20	95	1	0,5	6
2			35		2		10
3			50		5		15
4		20	20	70	1	2,5	6
5			35		2		10
6			50		5		15
7	Бруньки	5	20	95	1	0,5	6
8			35		2		10
9			50		5		15
10		20	20	70	1	2,5	6
11			35		2		10
12			50		5		15

Наступний етап досліджень полягав у підборі оптимального середовища для розмноження рослинного матеріалу та підвищення частоти регенерування – частки експлантів, які утворили адвентивні мікропагони та кількості нових мікропагонів на експлант.

Для цього, спочатку насіння пророщувалося на базовому живильному середовищі Мурасіге-Скуга (MS). Після 14–16 діб культивування для вивчення росту і розвитку експлантів залежно від мінеральної основи живильних середовищ, у пророщеного насіння відділяли апікальну меристему і разом з сім'ядолями висаджували на такі види живильного середовища: Мурасіге-Скуга (MS), Ллойда-Мак-Коуна (WPM), Шенка-Хільдебранта (SH) та Гамборга (B₅). Культивування відбувалося в кімнаті з кондиційованим повітрям на скляних стелажах за температури 25^{±1} °C, відносної вологості повітря 70–75 %, фотоперіоду 16 год і штучного освітлення інтенсивністю 3–5 тис. люкс.

Результати дослідження та їх обговорення. Під час стерилізації виявилось, що в разі використання реагентів із високою концентрацією та довшої експозиції ознак зараження експлантів не було. Проте спостерігалось почорніння бруньок, внаслідок чого вони втрачали свою життєздатність, а насіння погано проростало. І навпаки, за низької концентрації, за коротшого часу стерилізації, кількість життєздатних бруньок була високою, однак упродовж семи діб вони уражувались інфекцією і не розвивалися. У разі зниження тривалості експозиції та за високої концентрації кількість стерильних експлантів зменшувалась, однак майже всі вони виявились життєздатними (табл. 2).

Найменша кількість стерильних бруньок (7,1 шт.) та насіння (8,8 шт.) виявлено у варіантах № 4 і 10, де як стерилізатор використовували 70 % етиловий спирт за експозиції 1 хв. Водночас, Д. Вебб рекомендує дезінфікувати насіння 95 % етанолом упродовж хвилини [21], однак, за результатами наших досліджень, у разі використання 95 % етанолу в такій самій експозиції (варіанти № 1 та 7), спостерігалась незначна кількість стерильних експлантів. Загалом використання цього стерилізатора показало найменшу ефективність у всіх досліджуваних варіантах відносно кількості стерильних і життєздатних експлантів.

У разі застосування перекису водню кількість стерильних експлантів була дещо більшою. Найбільшу їх кількість виявили у варіантах № 6 та 12 – відповідно 23 та 15,4 шт. Однак майже всі вони в подальшому виявились нежиттєздатними. Найменша кількість сте-

рильних та відповідно, життєздатних експлантів, за використання цього реагента, була у варіантів № 1 та 7. Оптимальним варіантом для насіння була концентрація 20 % та експозиція 20 хв (№ 4). При цьому 62 % експлантів були життєздатними. Для бруньок найкращим був варіант № 9, коли за концентрації 5 % і за експозиції 50 хв життєздатними виявились 36,8 %.

Табл. 2. Ефективність стерилізації експлантів *P. strobilus* залежно від виду стерилізатора

Варіант дослід- ду	Експлант	Застосований реагент					
		H ₂ O ₂		C ₂ H ₅ OH		NaClO	
		Середня кількість експлантів, шт					
		стериль- них	життєз- датних	сте- риль- них	життєз- датних	сте- риль- них	життєз- датних
1	Насіння	8,3	7,7	12,6	9,2	9,2	5,9
2		10,2	9,4	12,1	7,3	13,4	9,2
3		15,4	10,7	12,7	0	17,8	14,6
4		16,7	15,5	8,8	6,9	19,6	16,7
5		17,3	5,4	9,7	5,1	21,4	17,9
6		23	2	11,1	1	22,8	0
HP ₀₉₅		2,2	2,4	2,9	2,8	3,0	2,6
7	Бруньки	8,4	4,3	9,1	77,1	7,7	4,4
8		9,3	4,7	9,3	4,1	11,4	9,7
9		10,9	9,2	10,1	0	14,3	10,2
10		11,2	9,1	7,1	5,9	18,3	12,4
11		12,2	3,1	9,3	4,3	18,6	5,1
12		15,4	0	9,7	1	17,9	0
HP ₀₉₅		2,5	2,2	2,7	3,1	2,8	2,6

Проте кращі результати отримали внаслідок стерилізації експлантів гіпохлоритом натрію. Використовуючи цей реагент, співвідношення стерильних та життєздатних насіння і бруньок було вищим у всіх варіантах. Найоптимальнішою виявилась експозиція 6 хв для бруньок (варіант № 10) та 10 хв для насіння (варіант № 5). Тоді життєздатними виявилися 71,6 % насіння і 49,6 % бруньок. Тому цей стерилізатор ми використовували в подальших експериментах.

Далі, дослідження полягали у підборі оптимального середовища для розмноження рослинного матеріалу [7, 9]. Для культивування деревних рослин *in vitro* розроблено живильні середовища з різною кількістю макро- і мікроелементів, амінокислот, вітамінів, вуглеводів та регуляторів росту, які сприяють диференціації пагонів, утворенню меристем або розвитку кореневої системи [6, 10, 11]. Однак даних про успішне клональне мікророзмноження *P. strobilus* з подальшим укоріненням у літературі знайдено мало [12, 13, 17].

Для введення у стерильні умови використовували насіння, попередньо промите у мильному розчині та простерилізоване 2,5 % гіпохлоритом натрію впродовж 10 хв. Бруньки у ролі експлантів не використовували, оскільки після проведення досліджень зі стерилізації, їх заражуваність інфекцією була вищою, а частка життєздатності нижча.

Варто зазначити, що загалом процес клонального мікророзмноження та утворення додаткових мікропагонів у *P. strobilus* відбувається дещо гірше, ніж у інших видів сосен, які ми досліджували раніше [1, 2, 18].

Згідно із даними табл. 3, найсприятливішим для культивування експлантів виявилось середовище Мурасіге-Скуга.

Табл. 3. Морфоцінка експлантів *P. strobilus* залежно від мінерального складу живильного середовища

Середовище	Візуальна оцінка стану експлантів	Кількість новоутворених мікропагонів, шт.	Загальна довжина експлантів, см
MS	Стан відмінний, колір зелений, спостерігається активне утворення та ріст бічних мікропагонів	3,9 ^{±0,3}	4,2 ^{±0,5}
WPM	Стан добрий, колір темно-зелений, спостерігається активний ріст експланта, однак бічні пагони майже не утворюються	1,1 ^{±0,4}	4,3 ^{±0,2}
SH	Стан відмінний, колір зелений, спостерігається поодинокі утворення бічних мікропагонів та слабкий їх ріст	1,1 ^{±0,1}	3,0 ^{±0,4}
B ₅	Стан задовільний, колір блідо-зелений, ріст експланта майже не відбувається, бічні пагони не утворюються	0	1,8 ^{±0,2}

У цьому варіанті (MS) спостерігався активний ріст і утворення нових мікропагонів у середній кількості 3,9 шт. загальною довжиною 4,2 см (рис. 1).

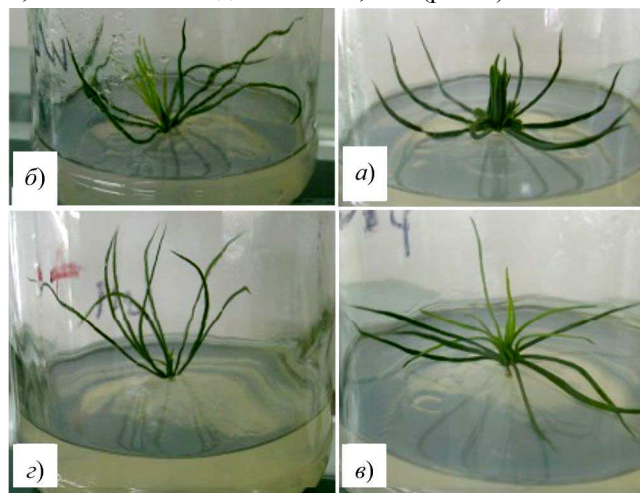


Рис. 1. Утворення та розвиток мікропагонів *P. strobilus* залежно від типу живильного середовища: а) Мурасіге-Скуга; б) Ллойда-Мак-Коуна; в) Шенка-Хільдебранта; г) Гамборга

На середовищі Ллойда-Мак-Коуна експланти розвивались, але бічні пагони утворювались тільки в окремих випадках і майже не росли, на відміну від материнського експланта, який активно видовжувався. Середня кількість новоутворених пагонів тут становила 1,1 шт. загальною довжиною 4,3 см. На середовищі Шенка-Хільдебранта материнські експланти розвивались слабше (3,0 см), а бічні пагони майже не утворювались. Хоча в літературі трапляються дані про успішне використання цього середовища для культивування *P. strobilus* [16, 21]. На середовищі Гамборга материнські експланти взагалі не розвивались і з часом почали гинути.

Оскільки Мурасіге-Скуга виявилось найоптимальнішим середовищем, подальші дослідження здійснювали на його основі. Для цього новоутворені експланти, отримані після першого культивування, пересаджували на це середовище, модифіковане додаванням регуляторів росту – індолілоцтової (ІОК) та нафтилоцтової кислот (НОК) з концентрацією 0,5 мг/л [22] та бензиламінопурину (БАП) з концентрацією від 0,5 до 1,5 мг/л. Усього було дев'ять варіантів дослідів (табл. 4).

Табл. 4. Варіанти концентрації фітогормонів для індукції морфогенезу та коефіцієнти розмноження експлантів *P. strobus*

Середовище	Фітогормони			Коефіцієнт розмноження
	БАП	НОК	ІОК	
	Концентрація, мг/л			
MS-1	0,5	-	-	0
MS-2	0,5	0,5	-	2,1
MS-3	0,5	-	0,5	1,2
MS-4	1	-	-	2,9
MS-5	1	0,5	-	5,9
MS-6	1	-	0,5	4,0
MS-7	1,5	-	-	1,4
MS-8	1,5	0,5	-	2,2
MS-9	1,5	-	0,5	1,1

Після 14 діб культивування виявилось, що за певних комбінацій фітогормонів спостерігається прямий морфогенез, за якого внаслідок активації меристемних тканин почали формуватися від одного до шести нових мікропагонів, які характеризувались активним ростом.

На середовищі без додавання ауксинів, за концентрації БАП 0,5 мг/л мікропагони не утворювалися взагалі. За концентрації БАП 1 мг/л та 1,5 мг/л на середовищі MS-4 і MS-7 коефіцієнт розмноження становив відповідно 2,9 та 1,4. У варіантах з використанням БАП з різними концентраціями та ІОК коефіцієнт розмноження змінювався від 1,1 до 4,0. Найефективнішим був варіант, у якому в середовище додавали 0,5 мг/л НОК і 1 мг/л БАП (рис. 2).



Рис. 2. Морфогенез експлантів *P. strobus* на середовищі Мурасіге-Скуга

У цьому випадку коефіцієнт розмноження становив 5,9. У процесі культивування після двох-трьох пасажів спостерігалось наростання коефіцієнта розмноження. У шостому пасажі коефіцієнт розмноження досягав своєї максимальної величини. Надалі (після шести пасажів) спостерігається зменшення здатності експлантів до проліферації.

Висновки:

1. У разі введення *P. strobus* у культуру *in vitro* як первинні експланти можна використовувати достигле насіння в стані спокою. Бруньки краще не використовувати, оскільки після проведення досліджень зі стерилізації, їх заражуваність інфекцією була вищою, а частка життєздатності нижча.
2. У ролі стерилізатора краще використовувати 2,5 % гіпохлорит натрію з експозицією 6 хв для бруньок та 10 хв для насіння.
3. Найпридатнішим живильним середовищем для розмноження *P. nigra* в умовах *in vitro* є середовище Мурасіге-Скуга з додаванням 0,5 мг/л НОК і 1 мг/л БАП. У цьому випадку коефіцієнт розмноження становив 5,9.

References

1. Adamenko, S. A. (2013). Podbor pitatelnoi sredy dlia razmnozheniia Pinus nigra Arn. v usloviakh in vitro. *Estestvenno-gumantarnye issledovaniia: mezhdunarodnyi zhurnal*, 2, 17–21.
2. Adamenko, S. A. (2013). Sposoby sterylizatsii eksplantiv Pinus nigra Arn. pered vvedenniam yikh u kulturu in vitro. *Scientific Bulletin of UNFU*, 23(6), 104–108. Retrieved from: https://nv.nltu.edu.ua/Archive/2013/23_6/21.pdf. [In Ukrainian].
3. Aeshina, E. N., & Velichko, N. A. (2008). Regeneratsiia Juniperus sibirica v in vitro. *Khvoynye borealnoi zony*, XXV(3–4), 333–336. [In Russian].
4. Alaudinova, E. V., Simkina, S. Iu., & Mironov, P. V. (2007). Sezonnnye izmeneniia sodержaniia vody v meristematicheskikh tkaniakh pochek Picea obovata L. i Pinus sylvestris L. i ee raspredelenie v kletkakh. *Khvoynye borealnoi zony*, 4–5, 487–491.
5. Beliaev, A. B. (2005). Ekologicheskie faktory rosta sosny veimutovoi pri ee introduktsii. *Lesovedenie*, 3, 46–52. [In Russian].
6. Biotekhnologiya. (1989). Biotekhnologiya rastenii: kultura kletok. (V. I. Negruka Trans. from English, R. G. Butenko with a Foreword). Moscow: Agropromizdat, 280 p. [In Russian].
7. Diego, N. De, Montalbán, I. A., & Moncaleán, P. (2010). In vitro regeneration of adult Pinus sylvestris L. *Trees South African Journal of Botany*, 76, 158–162. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2009.09.007>
8. Eizenreich, Kh. (1959). Bystrorastushhie drevesnye porody. Moscow: Izd-vo inost. lit-ry, 508 p. [In Russian].
9. Francisco de Oliveira et al. (2011). Micropropagation of Pinus taeda L. via axillary buds. *BMC Proceedings*, 5 (Suppl 7), 144–147. <https://doi.org/10.1186/1753-6561-5-S7-P144>
10. Gilman, E. F., & Watson, D. G. (1998). Pinus strobus: Eastern White Pine. UF/IFAS Extension publications. Retrieved from: <https://edis.ifas.ufl.edu/st473>.
11. Hasegawa, M., Higuchi, T., & Ishikawa, H. (1960). Formation of lignin in tissue culture of Pinus strobus. *Plant and Cell Physiology*, 1(3), 173–182.
12. Kaul, K. (1990). Factors influencing in vitro micropropagation of Pinus strobus L. *Biologia Plantarum*, 32, 266–272.
13. Kolevska-Pletkapić, B., Jelaska, S. J., & Vidaković, M. (1983). Bud and shoot formation in juvenile tissue culture of Pinus nigra. *Silvae Genetica*, 32/3–4, 115–119.
14. Lapin, P. I., Kalutckii, K. K., & Kalutckaia, P. I. (1979). Introduktsiia lesnykh porod. Moscow: Lesn. prom-st, 224 p.
15. Lypa, A. L. (1978). Introduktsiia i akklimatizatsiia drevesnykh rastenii na Ukraine. Kiev: Vyshha shkola, 112 p. [In Russian].
16. Messier, C., Parent, S., Chengaou, M., & Beaulieu, J. (1999). Juvenile growth and crown morphological plasticity of eastern white pines (Pinus strobus L.) planted along a natural light gradient: results after six years. *The Forestry Chronicle*, 75(2), 275–279.
17. Özkurt, Z., Yildirim, T., Önde, S., & Kaya, Z. (2008). Induction of embryogenic tissue from immature zygotic embryos in Pinus nigra J. F. Arnold subsp. nigra var. caramanica (Loudon) Bussinsky. *Turk. J. Bot.*, 32, 179–183.
18. Shlapak, V. V., & Nebykov, M. V. (2011). Osoblyvosti nasimivoho rozmnozheniia Pinus sylvestris L. v umovakh in vitro. *Scientific Bulletin of UNFU*, 21(14), 43–48. Retrieved from: https://nv.nltu.edu.ua/Archive/2011/21_14/43_Szla.pdf. [In Ukrainian].
19. Sommer, H. E., & Brown C. L. (1974). Plantlet formation in pine tissue cultures. *Amer. J. Bot. Suppl.*, 61, 11–14.
20. Stasiuk, O. A. (2012). Osoblyvosti rostu sosny veimutovoi (Pinus strobus L.) v umovakh Podillia. *Scientific Bulletin of UNFU*, 22(1), 37–42. Retrieved from: https://nv.nltu.edu.ua/Archive/2012/22_1/37_Sta.pdf. [In Ukrainian].
21. Webb, D. T., Flinn, B. S., & Georgis, W. (1988). Micropropagation of eastern white pine (Pinus strobus L.). *Canadian Journal of Forest Research*, 18(12), 1570–1580. <https://doi.org/10.1139/x88-240>
22. Zanella, L. B., et al. (2018). Micropropagation of Pinus tecunumanii. *Ciência Florestal, Santa Maria*, 28(2), 651–660. <https://doi.org/10.5902/1980509832058>

THE PECULIARITIES OF MICROPROPAGATION OF *PINUS STROBUS* L. INTO THE *IN VITRO* CULTURE

Peculiarities of clonal micropropagation of *P. strobus* plants *in vitro* were investigated. The results of research on the selection of reagents, their concentration and exposure to obtain sterile explants, for their further cultivation are presented. It is considered that the greatest damage of plant material occurs in the summer, and the least – in the winter. As explants used apical buds that harvested in the second half of December and seeds of the current year. For sterilization, the selected samples were immersed alternately in disinfectant solutions of sodium hypochlorite, hydrogen peroxide and ethyl alcohol with different exposures. It was found that for successful introduction of *P. strobus* into the *in vitro* culture, it is best to use 2.5 % sodium hypochlorite with an exposure of 6-10 minutes. It was conducted the selection of the optimal medium for plant material propagation and increase of the regeneration frequency – the proportion of explants that formed adventitious shoots and the number of new microshoots per explant. The buds were not used as extants, because after sterilization, their infectivity was higher and the percentage of viability was lower than that of the seeds. It was found that explants developed on Lloyd-McCone and Schenck-Hildebrandt plant medium, but lateral shoots formed poorly and almost did not grow. In the Hamburg plant medium, maternal explants did not develop at all and eventually died. The most favorable for the cultivation of explants was the Murasige-Skuga, so further research was carried out on its basis. For this purpose, the newly formed explants obtained after the first cultivation were transplanted into this medium, modified by the addition of growth regulators – indolylacetic acid (IOC) and naphthylacetic acid (NOC) with a concentration of 0.5 mg/l and benzylaminopurine (BAP) with a concentration of 0.5 to 1,5 mg/l. There were nine variants of the experiment. It was found that the most effective option was in which 0.5 mg/l NOC and 1 mg/l BAP were added to the medium.

Keywords: sterilizer; exposition; nutrient medium; micro shoots.