



М. М. Лісовий, А. П. Іванюк, Т. І. Харачко

Національний лісотехнічний університет України, м. Львів, Україна

ВПЛИВ РЕЧОВИН-СТЕРИЛЯНТІВ НА ДЕКОНТАМІНАЦІЮ ЕКСПЛАНТІВ *THUJA OCCIDENTALIS* L. В КУЛЬТУРІ *IN VITRO*

Проаналізовано літературні дані вітчизняних та іноземних учених стосовно стерилізації вихідних експлантів хвойних видів за розмноження їх у культурі *in vitro*, зокрема і *Thuja occidentalis* L. Досліджено вплив різної концентрації стериліантів та їх експозиції на деконтамінацію вихідних експлантів досліджуваного виду. Наведено методику виконання експериментальних досліджень із отримання асептичної культури *Thuja occidentalis* L. для подальшого мікроклонування. Застосовано ступінчасту схему деконтамінації, яка складалась із двох основних етапів: первинної та модифікованої стерилізації. На першому етапі експланти обробляли проточною водою із детергентом ("Твін 80"), пероксидом водню (H_2O_2) (1; 2; 3 % та 3; 5; 10 хв), етиловим спиртом (C_2H_5OH) (50; 70; 96 % та 5; 10; 15 с) у зазначених концентраціях і поєднаннях. Здійснено модифікацію первинної схеми стерилізації такими основними хімічними агентами $NaClO$ (10; 20; 30 % та 3; 5; 7 хв), $AgNO_3$ (0,1; 0,2; 0,3 % та 5; 10; 15 хв) та $HgCl_2$ (1; 2; 3 % та 5; 10; 15 хв). Для запобігання внутрішнім інфекціям використано 0,1 %-й антибіотик "Іманін". Досліджено індивідуальний вплив трьох основних хімічних реагентів на ефективність стерилізації (ЕС) та життєздатність експлантів (ЖЕ) *Thuja occidentalis* L. Встановлено, що найвища ЖЕ (76,6 %) спостерігається за середніх параметрів концентрації та експозиції $AgNO_3$ ЕС (0,2 %; 10 хв). Із збільшенням концентрації та експозиції $AgNO_3$ ЕС зростає від 53,3 до 90,0 %. Концентрація $NaClO$ істотно впливає на ЕС порівняно із експозицією (життєвість експлантів становить 90 % за тривалості обробки 3 та 5 хв), а за 7 хв експозиції 93 % за максимальної концентрації (30 %). Найвищу ЖЕ (70,0 %) забезпечила мінімальна концентрація реагента (10 %) за максимальної експозиції (7 хв), де отримано ту концентрацію 20 % і експозицію у 5 хв, які забезпечили 73,3 % живих експлантів. Досліджено, що ЕС із використанням реагента $HgCl_2$ значно зростала із збільшенням його досліджуваних параметрів (понад 76,7 %), але максимальна концентрація (3 %) та експозиція (15 хв.) забезпечувала найвищу ЕС. Найвища ЖЕ спостерігалась за мінімальної концентрації (1 %) – від 73,3 до 83,3 % із найвищим показником за експозиції 10 хв. Встановлено оптимальну комбінацію первинної стерилізації та модифікованої деконтамінації, що дає змогу забезпечувати ЕС на рівні $89,3^{+0,83}$ % та ЖЕ – $87,7^{+1,00}$ %.

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

Вступ / Introduction

Туя західна (*Thuja occidentalis* L.) є вічнозеленою деревною або кущовою рослиною, яку на сьогодні широко використовують у ландшафтній архітектурі для озеленення різноманітних територій. Це, насамперед, зумовлено значною стійкістю цієї рослини до урбанізованих умов навколишнього середовища та наявністю генетичного поліморфізму, що дає змогу створювати із формового різноманіття *Thuja occidentalis* L., в поєднанні з іншими представниками дендрофлори естетичні рослинні композиції [8, 11]. Масове використання *Thuja occidentalis* L. в озелененні диктує необхідність освоєння ефективних способів її масового розмноження, а саме насіннєве та вегетативне. Серед наявних способів масового розмноження недостатньо вивченим є мікроклonale розмноження в культурі *in vitro*.

Перевагами розмноження рослин в умовах культури *in vitro* є їх оздоровлення та можливість отримання великої кількості садивного матеріалу із одного вихідного експланта (намноження), повне збереження спадкових особливостей материнської особини тощо [7, 9, 12].

Загалом мікроклonale розмноження рослин складається із кількох основних етапів, а саме: деконтамінації, ініціації, намноження, ризогенезу та адаптації. Треба зазначити, що отримання стерильної культури є першочерговим завданням за проведення мікроклонування рослинних організмів, оскільки від цього залежатиме успіх перебігу наступних етапів. Основним завданням деконтамінації є очищення вихідного рослинного матеріалу, із використанням певних хімічних реагентів (хіміотерапія), від патогенної мікрофлори, оскільки вона в створених штучних умовах розвиватиметься значно швидше порівняно із експлантами, що спричинить їх

Інформація про авторів:

Лісовий Микола Миколайович, д-р с.-г. наук, доцент, кафедра лісових культур і лісової селекції.

Email: m.lisoviy@nltu.edu.ua; <https://orcid.org/0000-0001-7624-1052>

Іванюк Андрій Петрович, канд. с.-г. наук, доцент, кафедра лісових культур і лісової селекції.

Email: ivanyukandr@ukr.net; <https://orcid.org/0000-0002-1489-4733>

Харачко Тарас Іванович, канд. с.-г. наук, доцент, кафедра лісових культур і лісової селекції.

Email: tarashkharachko@nltu.edu.ua; <https://orcid.org/0000-0002-3901-5854>

Цитування за ДСТУ: Лісовий М. М., Іванюк А. П., Харачко Т. І. Вплив речовин-стериліантів на деконтамінацію експлантів *Thuja occidentalis* L. в культурі *in vitro*. Науковий вісник НЛТУ України. 2023, т. 33, № 1. С. 34–38.

Citation APA: Lisoviy, M. M., Ivaniuk, A. P., & Kharachko, T. I. (2023). The influence of sterilant substances on the decontamination of *Thuja occidentalis* L. explants in culture *in vitro*. *Scientific Bulletin of UNFU*, 33(1), 34–38. <https://doi.org/10.36930/40330105>

загибель. При цьому вкрай важливо зберегти максимальну кількість життєздатного рослинного матеріалу, тобто не пошкодити його застосованими стерилізантами. Тому вкрай актуальним завданням є чіткий підбір як стерилізаційних агентів, які будуть добре виводитись із рослинних тканин, так і їх концентрацію та комбінацію (поєднання) [10, 12].

Зважаючи на викладене вище виникає необхідність проведення досліджень із вивчення впливу речовин-стерилізентів на деконтамінацію експлантів *Thuja occidentalis* L. в культурі *in vitro*.

Об'єкт дослідження – асептичні експланти *Thuja occidentalis* L.

Предмет дослідження – процес деконтамінації вихідного рослинного матеріалу *Thuja occidentalis* L. за розмноження в культурі *in vitro*.

Мета дослідження – визначити оптимальну концентрацію та експозицію реагентів-стерилізентів для успішної деконтамінації експлантів *Thuja occidentalis* L. за розмноження в культурі *in vitro*.

Для досягнення зазначеної мети визначено таке **основне завдання** – встановити вплив концентрації та експозиції реагентів-стерилізентів на вихідний рослинний матеріал *Thuja occidentalis* L.

Аналіз останніх досліджень та публікацій. У літературних джерелах наведено дані про виконання деконтамінації вихідних експлантів із використанням як одного, так і комплексу хімічних реагентів. Зокрема, В. В. Шлапак та М. В. Небиков (2011) виконували стерилізацію вихідних експлантів *Pinus sylvestris* L. 0,1 %-м водним розчином дихлориду ртуті (1 хв) [14], а К. Ніємі та ін. (2002) стерилізували насіння того самого виду 2 %-м розчином гіпохлоридом кальцію (20 хв) [16]. J. Ziauka and S. Kuusienė (2006) під час мікроклонування *Larix decidua* Mill. невеличкі сегменти її молодих пагонів обробляли по чергову 75 %-м етиловим спиртом (3 хв) та 0,1 %-м нітратом срібла [20]. Цей самий вид досліджував V. Chalupa (2004), який аналогічні експланти стерилізував 7,5 %-м розчином гіпохлориду натрію (20 хв) та 0,1 %-м розчином хлориду ртуті (20-30 хв) [1]. Є дані про використання тільки одного реагента для деконтамінації експлантів *Larix decidua* Mill., зокрема А. М. Дінер та ін. (1986) використовували тільки 30 %-й перекис водню у два етапи тривалістю по 6 год [2]. К. Nawrot-Chorabik (2008) виконувала деконтамінацію експлантів *Abies alba* Mill. 70 %-м етанолом, двооксидом водню, натрієм гіпохлоридом або хлоридом ртуті [15].

Різні етапи мікроклонування досліджуваного виду наведено у працях: S. Indra Harry та ін. (1987) [4], К. А. Нур та Т. А. Торпе (1993) [17], М. Н. Кабір, Р. К. Рой та Г. Ахмед (2006) [5], де описано, зокрема, і процеси виконання деконтамінації експлантів одним чи комплексом реагентів. Проте, треба зазначити, що інформації щодо окремого впливу експозиції та концентрації стерилізентів на успішність деконтамінації вихідних рослинних експлантів туї західної не зазначено.

Матеріали та методи дослідження. Дослідження з деконтамінації експлантів *Thuja occidentalis* L. було проведено у лабораторії культури тканин кафедри лісових культур і лісової селекції НЛТУ України, використовуючи за загальноприйняті біотехнологічні методики у власній модифікації [13, 12]. Як вихідний рослинний

матеріал було застосовано невеликі сегменти верхівкових пагонів (4-6 мм).

В експерименті застосовували ступінчасту схему деконтамінації, яка полягала у двох основних етапах: первинна та модифікована стерилізація. На першому експланти обробляли протічною водою із детергентом (емульгатор "Твін 80"), перексидом водню (H_2O_2) (1; 2; 3 % та 3; 5; 10 хв), етиловим спиртом (C_2H_5OH) (50; 70; 96 % та 5; 10; 15 с) у вказаних концентраціях та послідовності. Підібрана оптимальна схема первинної стерилізації на другому етапі модифікувалась такими хімічними агентами: гіпохлоридом натрію ($NaClO$) (10; 20; 30 % та 3; 5; 7 хв), нітратом срібла ($AgNO_3$) (0,1; 0,2; 0,3 % та 5; 10; 15 хв) та сулемою ($HgCl_2$) (1; 2; 3 % та 5; 10; 15 хв). Після використання кожного із реагентів експланти обробляли протічною стерильною дистильованою водою тривалістю 4-5 хв. Щоб запобігти внутрішнім інфекціям застосовували 0,1 %-й антибіотик "Іманін", яким обробляли експланти перед виконанням пасажу на живильне середовище [7, 10].

Спочатку всі пасажовані експланти розподіляли на асептичні (стерильні) та контаміновані (інфіковані). Після цього визначали ефективність стерилізації: (ЕС) – кількість отриманих асептичних експлантів та життєздатність експлантів та (ЖЕ) – кількість живих експлантів (без некротичних та інфікованих).

Завданням первинної стерилізації було отримання максимальної кількості асептичних експлантів та унеможливлення варіантів досліджень, де виявили некротичний рослинний матеріал. На другому етапі деконтамінації додатково обробляли експланти трьома основними стерилізантами: $NaClO$, $AgNO_3$ та $HgCl_2$). Як живильне середовище використовували MS без додавання стимуляторів росту, оскільки метою було визначення виключно впливу агентів-стерилізентів на деконтамінацію експлантів.

Результати дослідження та їх обговорення / Research results and their discussion

Попередні дослідження дали змогу встановити оптимальну первинну схему стерилізації (ПС), за якої отримали 52,9 % асептичних живих експлантів, а саме: C_2H_5OH (96 %; 5 с) + H_2O з детергентом (6 год) + H_2O_2 (3 %; 10 хв) + C_2H_5OH (70 %; 5 с). В інших варіантах досліджень успішність була нижчою за 50 %. Значне підвищення результатів (ЕС – $89,33^{+0,83}$ % ЖЕ – $87,67^{+1,00}$ %) забезпечувала модифікація отриманого протоколу первинної стерилізації додатковим обробитком експлантів $AgNO_3$ (0,2 %; 10 хв) + $HgCl_2$ (1 %; 10 хв) [18].

Треба зазначити, що встановлення оптимальних концентрацій, експозицій та типу основних стерилізентів стало можливим завдяки окремому аналізу їх впливу на ефективність стерилізації та життєздатність експлантів досліджуваного виду. Ефективність стерилізації оцінювали на 8 добу після введення у культуру *in vitro* визначаючи співвідношення стерильних експлантів до їх загальної кількості. Життєздатність експлантів визначали на 14 добу після введення в культуру як співвідношення стерильних-життєздатних експлантів до їх загальної кількості.

Отримані результати (рис. 1) свідчать про те, що зростання досліджуваних параметрів реагента $AgNO_3$ забезпечували поступове зростання кількості стерильних експлантів досліджуваного виду.

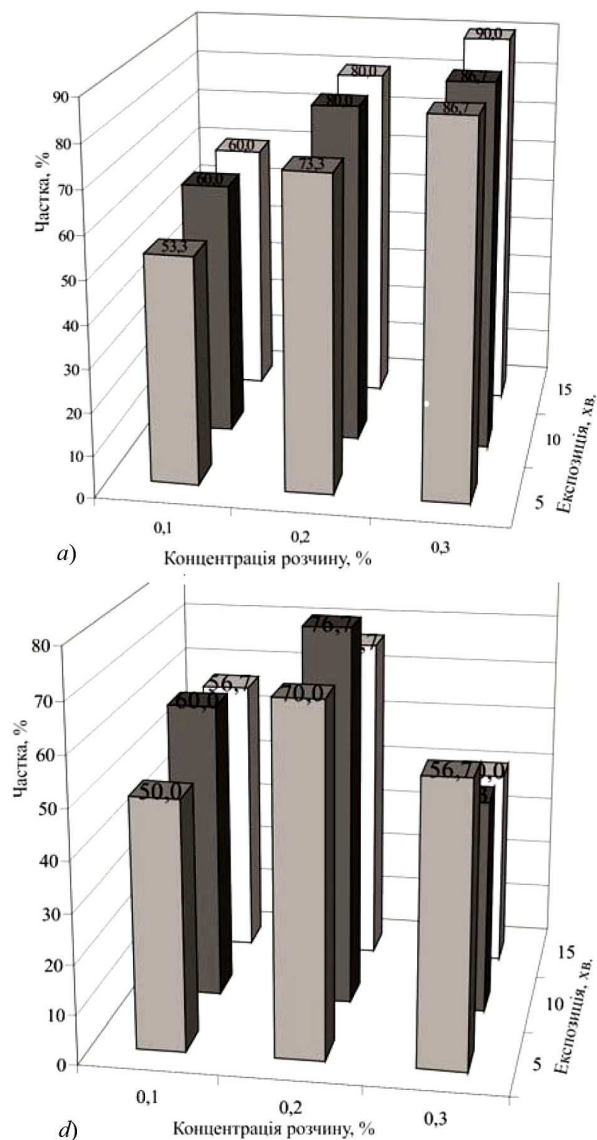


Рис. 1. Вплив концентрації та експозиції AgNO_3 на / Influence of AgNO_3 concentration and exposure on: a) ефективність стерилізації / sterilization efficiency; b) життєздатність експлантів / explant viability

Дослідження показника ЕС, за його концентрацією, показало досить низьку варіацію отриманих результатів, що свідчить про істотний вплив цього параметра реагента. Так, за вмісту діючої речовини 0,1 % спостерігали ЕС на рівні 53,3-60,0 %, за 0,2 % – 73,3-80,0 %, а за 0,3 % – 86,7-90,0 % стерильних експлантів, що залежало від експозиції. Цілком логічним є отримання найкращого ефекту за максимальної концентрації стериліанта. Підвищувати досліджувані параметри AgNO_3 було недоцільно, про що свідчив вихід життєздатних експлантів. Зокрема, найвищий показник ЖЕ (76,7 %) спостерігали за середньої концентрації та експозиції, а відхилення у той чи інший бік спричиняло стрімке зниження кількості життєздатних експлантів туї західної.

Вплив агента NaClO на досліджувані показники де-що різнився від попереднього стериліанта (рис. 2).

На діаграмі (див. рис. 2) бачимо, що концентрація агента 10 та 20 % забезпечила практично однакову кількість стерильних експлантів (63,3-70,0 % та 66,7-76,7 % відповідно), яка незначно зростала із збільшенням експозиції. Проте вміст діючої речовини на рівні 30 % стрімко підвищив показники ЕС до 90,0 % за експозиції 3 і 5 хв та до 93,3 % за тривалості обробки 7 хв. Отже,

встановлено, що концентрація NaClO істотно впливає на ЕС порівняно із експозицією. Що ж стосується ЖЕ, за оброблення розчинами NaClO , відзначено практично протилежну тенденцію. Зокрема, найкращі результати забезпечувались мінімальною концентрацією агента (10 %) за максимальної експозиції (7 хв), де отримали 70,0 % ЖЕ та концентрацією 20 % і експозицією 5 хв, які забезпечили 73,3 % живих експлантів.

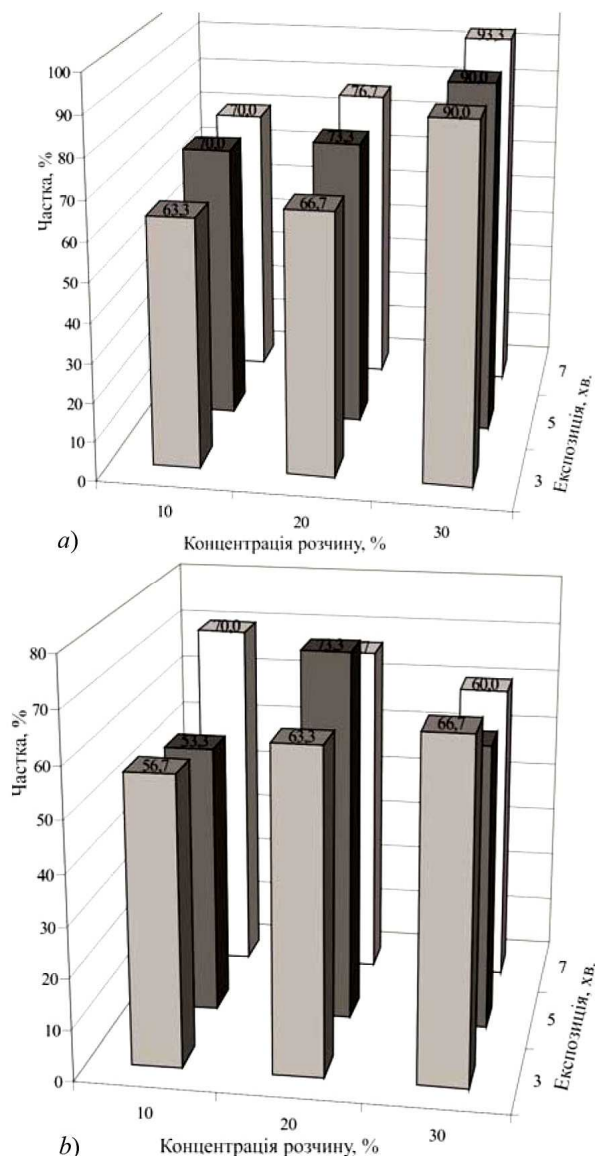


Рис. 2. Вплив концентрації та експозиції NaClO на / Influence of NaClO concentration and exposure on: a) ефективність стерилізації / sterilization efficiency; b) життєздатність експлантів / explant viability

Використання у ролі стериліанта HgCl_2 забезпечувало результати, що різнилися від попередніх двох реагентів, зокрема, що стосувалось ЖЕ (рис. 3).

Треба відзначити, що ЕС експлантів, за використання HgCl_2 , була на досить високому рівні та істотно зростала за збільшення досліджуваних параметрів стериліанта (понад 76,7 %). Проте тільки максимальний вміст діючої речовини (3 %) та експозиції (15 хв) забезпечив найбільшу кількість асептичного рослинного матеріалу, що не спостерігалось під час використання інших реагентів. Це, швидше за все, свідчить про невисоку токсичність та значний асептичний вплив HgCl_2 на експланти туї західної. Що стосується ЖЕ, то тут тенденції були практично протилежними. Зокрема, макси-

мальну кількість життєздатного рослинного матеріалу забезпечувала мінімальна концентрація стериліанта (1 %), яка спостерігалась у межах 73,3-83,3 %, причому найвищий показник відзначено за експозиції 10 хв. Треба зазначити, що зростання вмісту діючої речовини значно знижувало життєздатність експлантів досліджуваного виду.

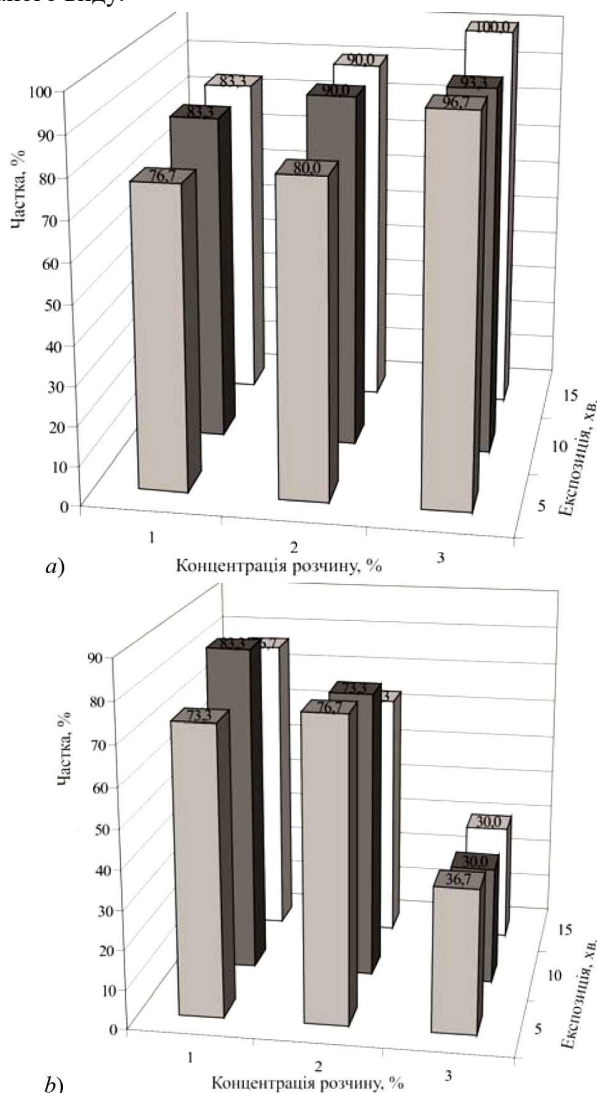


Рис. 3. Вплив концентрації та експозиції HgCl_2 на / Influence of HgCl_2 concentration and exposure on: a) ефективність стерилізації / sterilization efficiency; b) життєздатність експлантів / explant viability

Узагальнені параметри застосованих хімічних агентів наведено у табл. 1. Подані у цій таблиці значення концентрації та експозиції стериліантів стали основою проведення наступної модифікації ступінчастої схеми деконтамінації експлантів, яка полягала у комплексному їх використанні як разом, так і по черговому виключенні одного із агентів.

Табл. 1. Максимальні показники стерилізації для окремих хімічних агентів / Maximum sterilization rates for individual chemical agents

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

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

Встановлений оптимальний варіант деконтамінації та отримані, як результат, показники наведено у табл. 2. Отримані результати свідчать, що експланти досліджуваного виду найкраще піддаються деконтамінації із використанням такої ступінчастої схеми стерилізації: $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ (96 %; 5 с) + H_2O з детергентом (6 год.) + H_2O_2 (3 %; 10 хв) + $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ (70 %; 5 с) + AgNO_3 (0,2 %; 10 хв) + HgCl_2 (1 %; 10 хв), яка здатна забезпечити ЕС на рівні $89,3^{+0,83}$ % та ЖЕ – $87,7^{+1,00}$ %.

Табл. 2. Результат модифікованої схеми деконтамінації експлантів / The result of a modified explant decontamination scheme

Показник	Статистичні показники							
деконтамінації, %	$X_{\min}$	$X_{\max}$	$\bar{X}$	σ^2	σ	V	m	p
Ефективність стерилізації	86,67	93,33	89,33	6,91	2,63	2,94	0,83	0,93
Життєздатність експлантів	83,33	93,33	87,67	10,00	3,16	3,61	1,00	1,14

Обговорення результатів дослідження. Деконтамінація поверхні експлантів є важливим попереднім етапом розмноження *in vitro* [20]. Переважно протоколи деконтамінації вихідних експлантів для мікроклонування містять по черговому використання одного чи низки наступних хімічних агентів різної концентрації, які здатні вивільняти рослинний матеріал від патогенної мікрофлори: H_2O_2 , $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$, NaClO , AgNO_3 , HgCl_2 , а також мийних засобів, емульгаторів, фунгіцидів, антибіотиків та інших речовин [2, 3, 4, 5, 9, 14]. Підтверджено, що ефективність стерилізації речовиною HgCl_2 є найвищою, проте із зростанням концентрації істотно знижується життєздатність експлантів. Щодо NaClO , встановлено необхідність застосування тривалішого обробітку експлантів невисокими концентраціями [13]. Значна ефективність деконтамінації вихідного рослинного матеріалу забезпечується застосуванням реагента AgNO_3 різної концентрації та тривалості обробітку, що залежить від типу досліджуваних експлантів [1, 4, 15]. Використання саме HgCl_2 у поєднанні із детергентом та NaClO забезпечили успішну деконтамінацію досліджуваного виду [1, 6].

Отже, за результатами виконаної роботи можна сформулювати такі наукову новизну та практичну значущість результатів дослідження.

Наукова новизна отриманих результатів дослідження – встановлено індивідуальний вплив концентрації та експозиції реагентів NaClO , AgNO_3 , HgCl_2 на ефективність стерилізації та життєздатність експлантів *Thuja occidentalis* L. під час розмноження в культурі *in vitro*.

Практична значущість результатів дослідження – сформульовано протокол деконтамінації експлантів *Thuja occidentalis* L.

Висновки / Conclusions

На основі виконаних експериментальних досліджень встановлено, що концентрація та експозиція застосованих основних стериліантів, а саме: AgNO_3 , NaClO та HgCl_2 , має істотний вплив на показники ефективності стерилізації та життєздатності експлантів досліджуваного виду у розрізі окремих агентів. Зокрема, із зростанням концентрації AgNO_3 збільшується ЕС, а зростання експозиції забезпечує незначне підвищення цього показника та дещо знижує ЖЕ, внаслідок зростання кількості некротичного рослинного матеріалу. Зростання концентрації NaClO значно впливає на ЕС порівняно

із експозицією, оскільки максимальний вміст діючої речовини (30 %) забезпечив цей показник на рівні 93,3 %. Проте найвища ЖЕ забезпечувалась мінімальною концентрацією агента (10 %) за експозиції 7 хв, (70,0 %) ЖЕ та концентрацією 20 % і експозицією 5 хв (73,3 %) живих експлантів.

ЕС за використання HgCl_2 значно зростала із збільшенням параметрів стериланта (понад 76,7 %) Так, максимальний вміст діючої речовини (3 %) та експозиція (15 хв) забезпечив отримання максимальної кількості асептичних експлантів. Найвищу ЕС отримано за мінімальної концентрації стериланта (1 %), яка спостерігалась у межах 73,3-83,3 %, а найвищі показники відзначено за експозиції 10 хв.

References

1. Badoni, A., & Chauhan, J. S. (2010). In vitro sterilization protocol for micropropagation of *Solanum tuberosum* cv. Kufri Himilini. *Academia Arena*, 2(4), 24–27.
2. Chalupa, V. (2004). In vitro propagation of European larch (*Larix decidua* Mill.). *Journal of Forestry Science*, 50(12), 553–558.
3. Diner, A. M., Strickler, A., & Karnovsky, D. F. (1986). Initiation, elongation, and remultiplication of *Larix decidua* micropropagules. *New Zealand Journal of Forestry Science*, 16(3), 306–318.
4. Gopal, J., Minocha, J. L., & Dhaliwal, H. S. (1998). Microtuberization in potato (*Solanum tuberosum* L.). *Plant and Cell Reproduction*, 17, 794–798.
5. Harry, I. S., Thompson, M. R., Lu, Chin-Yi, & Thorpe, T. A. (1987). In vitro plantlet formation from embryonic explants of eastern white cedar (*Thuja occidentalis* L.). *Tree Physiol*, 3(3), 273–283.
6. Kabir, M. H., Roy, P. K., Golam, A. (2006). In vitro Propagation of *Thuja occidentalis*. Through Apical Shoot Culture Plant Tissue Cult. & Biotech, 16(1), 5–9.
7. Kolesnichenko, O. V., Sliusar, S. I., & Yakobchuk, O. M. (2009). Metodychni rekomendatsii z rozmnozhenia derevnykh dekoratyvnykh roslin Botanichnoho sadu NUBiP Ukrainy. Kyiv: NUBiP Ukrainy. [In Ukrainian].
8. Lisoviy, M. M. (2015). Features of autovegetative reproduction of decorative forms of *Thuja occidentalis* L. *Scientific Bulletin of UNFU*, 25(9), 57–63. <https://doi.org/10.15421/40250909>
9. Lisoviy, M. M. (2017). Some features of obtaining aseptic culture of *Thuja occidentalis* L. under in vitro conditions. *Scientific Bulletin of UNFU*, 27(9), 27–29. <https://doi.org/10.15421/40270905>
10. Lisoviy, M. M. (2019). Influence of growth stimulants on the initiation explants of *Thuja occidentalis* L. under in vitro conditions. *Scientific Bulletin of UNFU*, 29(5), 47–50. <https://doi.org/10.15421/40290509>
11. Lisoviy, M. M. (2020). Stanovlennia kultury tkanyn, yak perspektyvnoho napriamku doslidzhen. Materialy 70-oi naukovo-tekhnichnoi konferentsii profesorsko vykladatskoho skladu, naukovykh pratsivnykiv, doktorantiv ta aspirantiv za pidsumkami naukovoї diialnosti u 2019-2020. Lviv, 52–54. [In Ukrainian].
12. Lisoviy, M. M., & Huz, M. M. (2015). Polimorfizm ta osoblyvosti vehetatyvnoho rozmnozhenia zhyvtsiuvanniam dekoratyvnykh form *Thuja occidentalis* L. *Lisivnystvo i ahrolisomeliioratsiia*, 126, 132–139. [In Ukrainian].
13. Mitra, E. (2023). In vitro propagation of *Thuja orientalis* by shoot tip culture. URL: https://ijrfpbgr.areeo.ac.ir/article_115960.html
14. Musiienko, M. M., & Paniuta, O. O. (2005). Biotehnolohiia roslin. Kyiv: VPTs "Kyivskiy universytet". [In Ukrainian].
15. Najet, G., Kamel, N., & Ali, F. (2022). Establishment of optimized in vitro disinfection protocol of *Pistacia vera* L. explants mediated a computational approach: multilayer perceptron – multi-objective genetic algorithm. Gammoudi et al. *BMC Plant Biology*, 22, 324–338.
16. Nawrot-Chorabik, K. (2008). Embryogenic callus induction and differentiation in silver fir (*Abies alba* Mill.) tissue cultures. *Dendrobiologi*, 59, 31–40.
17. Niemi, K., Haggman, H., & Sarjala, T. (2023). Effects of exogenous diamines on the interaction between ectomycorrhizal fungi and adventitious root formation in Scots pine in vitro. Retrieved from: <https://academic.oup.com/treephys/article/22/6/373/1695186/Effects-of-exogenous-diamines-on-the-interaction>
18. Nour, K. A., & Thorpe, T. A. (1993). In vitro shoot multiplication of eastern white cedar (*Thuja occidentalis*). *In vitro Cell Dev Biol – Plant*, 29, 65–71.
19. Shlapak, V. V., & Nebykov, M. V. (2011). Osoblyvosti nasinnivoho rozmnozhenia *Pinus sylvestris* L. v umovakh in vitro. (2011). *Scientific Bulletin of UNFU*, 21(14), 43–48. [In Ukrainian].
20. Zamir, R., Khattak, G. S., Mohammad, T., Shah, S. A., Khan, A. J., & Ali, N. (2004). In vitro mutagenesis in guava (*Psidium guajava* L.). *Pakistan Journal of Botany* 35(5), 825–828.
21. Ziaoua, J., & Kuusienē, S. (2006). Changes in Development of European Larch (*Larix decidua* Mill.) Vegetative Buds Induced by Plant Hormones. *Baltic Forestry*, 12(2), 141–150.

M. M. Lisoviy, A. P. Ivaniuk, T. I. Kharachko

Ukrainian National Forestry University, Lviv, Ukraine

THE INFLUENCE OF STERILANT SUBSTANCES ON THE DECONTAMINATION OF *THUJA OCCIDENTALIS* L. EXPLANTS IN CULTURE IN VITRO

The paper presents the results of the research of the influence of sterilant substances on decontamination of *Thuja occidentalis* L. explants in culture in vitro. Based on the study of literary sources, we confirmed that *Thuja occidentalis* L. is characterized by significant genetic polymorphism, which allows its wide use in landscape design. Therefore, it is necessary to improve the vegetative propagation of specific genotypes of the studied species in culture in vitro. A two-stage decontamination scheme was studied using running water with detergent ("Twin 80"), H_2O_2 (1; 2; 3 % and 3; 5; 10 min.), $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ (50; 70; 96 % and 5; 10; 15 sec.) in the indicated concentrations and various combinations, which optimally provided 52.9 % of aseptic live explants in the first stage. The two-stage decontamination scheme was modified with the following main chemical agents: NaClO (10; 20; 30 % and 3; 5; 7 min.), AgNO_3 (0.1; 0.2; 0.3 % and 5; 10; 15 min.) and HgCl_2 (1; 2; 3 % and 5; 10; 15 min.) with washing with flowing sterile distilled water (4–5 min.), and also using 0.1 % antibiotic "Imanin" against internal infections. The effect of each of the three main chemical reagents separately and in combination on sterilization efficiency (SE) and explant viability (EV) was studied. As a result, we found that increasing concentration and exposure of AgNO_3 causes an increase in SE (53.3–90.0 %). The average parameters of this reagent (0.2 %; 10 min.) provide the highest EV (76.6 %), and increased concentration and exposure cause the formation of necrotic explants. Increasing the concentration of NaClO is found to be able to provide SE at the level of 93.3 % (content of the active substance 30 %), the highest EV was provided by the minimum concentration of this substance (10 %) when processed for 7 min. (70.0 %) and a concentration of 20 % and an exposure of 5 min. where 73.3 % of viable explants were noted. Moreover, it was revealed that when using HgCl_2 , SE is quite high (from 76.7 %) with increasing its concentration and exposure. The content of 3 % of the active substance exposed for 15 minutes provided decontamination of almost all explants. The largest number of viable explants was recorded at the minimum concentration of this reagent (73.3–83.3 %), and the best result was observed at the average duration of exposure (10 min.). The scheme of decontamination of explants of *Thuja occidentalis* L. was selected, which provides SE at the level of $89.3^{+0.83}$ % and EV – $87.7^{+1.00}$ %.

Keywords: sterilization; exposition; concentration; sterilization efficiency; viability of explants.