УДК 57.08 : 58.084.5 https://doi.org/10.7124/FEEO.v26.1347

ГРИЦАК Л. Р.✉, ДРОБИК Н. М.
Тернопільський національний педагогічний університет імені Володимира Гнатюка
Україна, 04627, м. Тернопіль, вул. М. Кривоноса, 2
✉ *hrytsak1972@gmail.com*

СУЧАСНІ ТЕХНОЛОГІЇ ПІДВИЩЕННЯ СТІЙКОСТІ КУЛЬТИВОВАНИХ *IN VITRO* РОСЛИН ДО УМОВ *EX VITRO*

Мета. Проаналізувати досвід вітчизняних та зарубіжних учених щодо технологій підвищення адаптивного потенціалу культивованих *in vitro* рослин до умов *ex vitro*. ***Результати***. Сучасні акліматизаційні технології спрямовані, переважно, на удосконалення методів адаптації посадкового матеріалу колекцій *in vitro* умов до *ex vitro*. Значно менше уваги приділяється технологіям підвищення стійкості рослин на етапі їх мультиплікації та росту *in vitro*. Інтеграція та систематизація результатів досліджень низки вчених дозволила описати основні стратегії та методичні прийоми, реалізація яких дозволяє суттєво підвищити адаптивний потенціал рослин в умовах *in vitro*. ***Висновки.*** Оптимізацією фізико-хімічних умов культивування рослин на етапі *in vitro* можна індукувати зміни їх фенотипу, інтенсивності фотосинтетичних реакцій, водного балансу, що підвищує адаптаційний потенціал рослин та полегшує процес їх акліматизації до умов *ex vitro*.

Ключові слова: рослини *in vitro*, акліматизація до умов *ex vitro*, адаптивний потенціал, технологія

Не зважаючи на значні досягнення біотехнології збереження рослин та переваги створення банків культур рослин *in vitro* над колекціями *ex situ*, використання посадкового матеріалу, отриманого за допомогою біотехнологічних методів, є обмеженим. Це зумовлено тим, що культурі *in vitro* рослини перебувають в умовах, що відрізняються від природних за багатьма фізико-хімічними параметрами, зокрема: світловим, водним, температурним режимами, газовим складом повітря усередині культиваційних посудин, консистенцією живильного середовища тощо. Умови *in vitro* передбачають дотримання режиму стерильності; мікробному інфікуванню рослинного матеріалу *in vitro* запобігає не лише використання стерильного обладнання, але й герметично закритих культиваційних ємностей. Це обмежує надходження вуглекислого газу, перешкоджає видаленню газуватих продуктів обміну речовин, забезпечує постійне підтримання високої відносної вологості повітря усередині ємностей тощо. Консистенція живильного середовища також впливає на процес постачання рослинам *in vitro* або культурам тканин поживних речовин та видалення продуктів метаболізму. До складу живильних середовищ додають й синтетичні регулятори росту рослин. Усе це в комплексі запускає каскад ланцюговий реакцій, які змінюють перебіг багатьох морфо-фізіологічних процесів і призводять до структурно-функціональними змін рослин *in vitro*. Це ускладнює процес їх адаптації до нових умов росту та зумовлює високу (до 75 %) летальність особин [1]. Тому в останні роки зусилля дослідників скеровані на розробку стратегій підвищення адаптаційного потенціалу біотехнологічно отриманих рослин до умов *ex vitro*.

Аналіз літературних джерел [2–6] показав, що зазвичай дослідники зосереджують свою увагу на останній стадії мікроклонального розмноження – акліматизації рослин *in vitro* до умов *ex vitro*. Проте, систематизація та інтеграція результатів наукових досліджень низки вчених [7–9] засвідчила, що ефективнішими є акліматизаційні технології, які передбачають оптимізацію умов росту та розвитку рослин ще на етапі культивування *in vitro*. Ці технології у тій чи іншій мірі базуються на запропонованих Б. Н. Хазаріка (2006) стратегіях модифікації фізико-хімічних параметрів умов культивування рослин на етапі *in vitro* для стимулювання механізмів зміни їх фенотипу, інтенсивності фотосинтетичних реакцій, водного балансу і, у цілому, підвищення адаптаційного потенціалу та полегшення процесу акліматизації рослин до умов *ex vitro* [10]. Запропоновані Б. Н. Хазаріка (2006) стратегії – це результат узагальнення наукових напрацювань багатьох учених у цьому напрямі.

Згідно з аксіомою ***першої стратегії***, кількість накопичених поживних речовин рослинами на етапі культури *in vitro* визначає їх жит-

© **ГРИЦАК Л. Р., ДРОБИК Н. М.**

тєздатність в умовах *ex vitro*. Листки є основним асиміляційним органом, тому збільшення площі їх ефективної поверхні дозволяє підвищити продуктивність рослин та, відповідно, й показники їх життєздатності [10].

В умовах культури *in vitro* доповнення складу живильних середовищ високими концентраціями вуглеводів (сахарози або глюкози) дозволяє значно збільшити «живильні» функції листків [11]. Це підтверджують результати численних досліджень [11, 12]. Так, встановлено, що за відсутності цукрів у складі живильного середовища рослини *in vitro* часто стають вітрифікованими, а їх розвиток практично призупиняється [11]. Максимальні значення показників свіжої та сухої маси, висоти пагонів рослин *ex vitro* багатьох видів були отримані лише за попереднього їх культивування *in vitro* на живильних середовищах, доповнених сахарозою у концентрації 20–40 мг/л. Проведений Ж. Гаго (2014) багатофакторний аналіз із застосування технологій штучного інтелекту показав, що у таких рослин в умовах *ex vitro* набагато швидше утворюються нові листки [12]. Екзогенна сахароза стимулює й інтенсивніший синтез вторинних метаболітів у рослинах *in vitro* [10]. Потреба у концентраціях екзогенної сахарози залежить від видової приналежності рослин [11]. Однак екзогенні вуглеводи не лише покращують продуктивність та якість рослин, але й спричинюють їх значне оводнення. На фоні порушення транспіраційних процесів це значно знижує показники виживання рослин у процесі акліматизації до умов *ex vitro* [12].

Друга стратегія передбачає, що ще на етапі *in vitro* рослини необхідно перевести з міксотрофного живлення на фототрофне. Листки рослин *in vitro* відрізняються від інтактних особин за багатьма параметрами морфо-анатомічних структур, що перешкоджає їх нормальному функціонуванню в умовах *ex vitro* та зумовлює швидке відмирання [13]. Листки фотоавтотрофних культур за анатомічною будовою більш наближені до листків рослин з природи, що дозволяє їм довше існувати в умовах *ex vitro* та забезпечувати перебіг фотосинтетичних реакцій [14].

Перехід на фотоавтотрофний ріст у рослин *in vitro* можна стимулювати зміною певних фізико-хімічних параметрів середовища, зокрема: зниженням концентрації кисню у газовому складі культурального повітря, що пригнітить механізми фотодепресації; зниженням концентрації сахарози або повним вилученням цукрів зі складу живильного середовища за одночасного збільшення фотосинтетичного фотонного потоку (PPF) і концентрації CO_2 [12]. Досягнути останнього можна у випадку закривання культиваційних посудин газопроникною, прозорою поліетиленовою плівкою. Її використання дозволяє поліпшити газообмін у культурі, завдяки дифузії CO_2 та O_2 за градієнтами концентрації; забезпечує краще проникнення світла у вміст контейнера та зменшує відносну вологість середовища.

Завдяки вилученню вуглеводів зі складу живильного середовища зменшується ймовірність мікробного інфікування культур *in vitro*. Пропонують до мінімуму звести й використання екзогенних регуляторів росту, вітамінів та інших органічних речовин, оскільки за фотоавтотрофного росту деякі з них ендогенно синтезуються у достатніх кількостях.

На погляд Б. Н. Хазаріка (2006), дотримання цих принципів дозволяє полегшити процес акліматизації рослин *in vitro* до ґрунтових умов і, тим самим, уникнути необхідності зміни інших складових процесу культивування. Крім того, за фотоавтотрофного живлення зменшується ризик втрати рослин внаслідок мікробного інфікування, що дозволяє використовувати більші культиваційні ємності та, відповідно, автоматизувати процес отримання посадкового матеріалу *in vitro*.

Третя стратегія передбачає, що культивування рослин *in vitro* за нижчої відносної вологості повітря дозволить відновити їхню транспіраційну здатність. Це не лише зменшить втрату води рослинами в умовах *ex vitro*, але й сприятиме відновленню нормальної анатомічної будови як коренів, так листків і стебел [10].

Встановлено, що діапазон відносної вологості повітря від 85 % до 100 % є оптимальним для забезпечення процесів життєдіяльності рослин *in vitro*. За показників відносної вологості нижче 85 % стимулювати мікроклональне розмноження у рослин доволі складно. Однак за такої вологості збільшується кількість епікутикулярного воску на одиницю листкової поверхні, вміст пігментів і білків, зменшується оводненість рослин і покращується відсоток їх виживання в умовах *ex vitro* [10, 15].

Існують різні методичні прийоми для зниження показників відносної вологості повітря *in vitro*, зокрема: використовують осушувачі – олійні речовини, які створюють на поверхні

живильного середовища плівку [1]; періодично відкривають кришки контейнерів для культивування рослин у ручному або автоматичному режимі, що дозволяє знизити відносну вологість повітря у контейнерах [16], або цього досягають завдяки охолодженню днища контейнера. Введення до складу живильних середовищ агару також дозволяє знизити відносну вологість [5]. Незалежно від застосованої технології, зниження відносної вологості повітря сприяє утворенню епікутикулярного воску на листках рослин *in vitro*, поліпшує стан продихового апарату та показники водного режиму [10].

Низка вчених [1, 15, 17] пропонує не обмежуватися лише зменшенням відносної вологості культиваційного повітря, але й використовувати на останніх етапах культури *in vitro* сполуки, що здатні активно впливати на механізми підвищення стійкості рослин до водного дефіциту. Так, практикують використання ретардантів та антитранспірантів. Додавання до складу живильних середовищ ретардантів (уніконазолу, флурпрімідолу, антимідолу, паклобутразолу) ініціює укорочення міжвузлів, зменшення розмірів листків, потовщення коренів тощо, що й збільшує стійкість рослин до в'янення [1]. Однак, ефективність дії ретардантів залежить від ступеня розвитку кореневої системи рослин *in vitro*: вторинні (додаткові) корені, сформовані у мультиплікованих пагонів, значно гірше адсорбують ці препарати, ніж корені проростків [1]. Тому для рослин *in vitro* доцільніше застосовувати антитранспіранти, до яких належать дві групи речовин.

До першої – належать сполуки, введення яких до складу живильного середовища дозволяє зменшити випаровування води через продихи і, тим самим, послабити трансплантаційний шок для рослин в умовах *ex vitro*. До таких речовин відносять абсцизову кислоту (АБК), оксид нітрогену (NO), саліцилову кислоту [15]. АБК транспортується по ксилемі у верхні частини рослини, де пригнічує ріст листків і зменшує інтенсивність транспірації. АБК також підвищує вміст осмотично активних речовин (проліну і калію) та стресових білків [15]. NO спільно з АБК також бере участь у регуляції закриття продихів, оскільки стимулює видалення цитозольного Ca^{2+} із замикаючих клітин продихів, блокує K^+-канали у плазматичній мембранній АТФ-азі та активує аніонні канали, що спричиняє закриття продихів [18]. Саліцилова кислота індукує ендогенний синтез NO, проліну та експресію генів, які контролюють індукцію протеїнових кіназ та МАП-кіназ [18, 19].

У певній мірі до цієї групи сполук належать й речовини-осмоліти: високомолекулярний поліетиленгліколь (ПЕГ), сорбітол, маніт тощо, які знижують водний потенціал живильного середовища, та, відповідно, імітують у рослин *in vitro* стан водного дефіциту. Дефіцит води у тканинах рослин спричиняє накопичення вуглеводів, концентрація яких може досягати 200 мМ і більше. Це стабілізує мембрани клітин, білки; підтримує тургор клітин і створює градієнт водного потенціалу для інтенсивнішого поглинання води [18, 20]. Проте, деякі речовини-осмоліти, зокрема, маніт здатні виконувати не лише функцію осморегуляції у рослин *in vitro*. Встановлено, що маніт не гальмує рухи хлоропластів у клітинах мезофілу *Arabidopsis thaliana* за низької інтенсивності освітлення, а за інтенсивного освітлення – вже через дві доби культивування на живильному середовищі, доповненому 3 % манітом, – реакція хлоропластів на світло підвищується [21]. Маніт спричинює також детоксикацію гідроксильних радикалів і синглетного кисню, що запобігає руйнуванню компонентів фотосинтетичного апарату та, відповідно, збільшує ефективність протікання фотохімічних реакцій. Тому фотосинтетичний апарат рослин *in vitro*, які культивували на середовищах з манітом, менше піддається фотодекструкції в умовах *ex vitro*. У високих концентраціях маніт може пригнічувати ріст пагонів та коренів у мультиплікованих рослин, тому доцільно його використовувати у низьких концентраціях [22], або вводити одночасно з ним до складу живильного середовища аскорбінову кислоту [23].

Важливу роль у формуванні стійкості рослин *in vitro* до водного дефіциту відводять й накопиченню сумісних осмолітів, насамперед проліну [20]. Ця амінокислота може накопичується у рослинах завдяки активації механізмів її біосинтезу із глутамату, зниженню рівня її деградації, а також за рахунок екзогенного надходження із середовища культивування. За умов водного стресу концентрація проліну зростає в кілька разів [20, 22]. За нестачі енергетичних субстратів у процесі окислення однієї молекули L-проліну може утворитися близько 30 молекул АТФ, що дозволяє підтримати енергетику клітин в умовах стресу [19]. Пролін здатний утворювати агрегати з гідрофобними частинами білкових молекул, що дозволяє підтримувати необхідний рівень водного потенціалу клітин [18,

19]. Крім того, пролін регулює pH цитозолю, інактивує вільні радикали, а також діє як джерело карбону і нітрогену в умовах стресу [19, 22].

До другої групи належать антитранспіранти – речовини, здатні утворювати на поверхні листка тонку, слабо проникну мономолекулярну плівку, яка за певний проміжок часу руйнується. Антитранспіранти пропонують наносити на рослини *in vitro* двічі: ще у культуральних посудинах, перед початком їх акліматизації до умов *ex vitro*, та напередодні висаджування у субстрат [24]. В оброблених рослин покращуються показники водного режиму за рахунок зменшення випаровування води, підвищується вміст хлорофілів. Проте, на пізніших етапах росту в умовах *ex vitro* інколи спостерігають зменшення у таких рослин інтенсивності ростових процесів [24]. Тому однозначний погляд на ефективність застосування таких препаратів відсутній.

В останні роки увагу почали приділяти увагу й оптимізації світлового режиму для підвищення адаптаційного потенціалу рослин *in vitro* [25–27]. Це пов'язано з тим, що існує залежність між зміною інтенсивності і спектрального складу (СС) світла та особливостями структурно-функціональної організації фотосинтетичного апарату, спрямованості метаболічних реакцій і морфогенезу рослин. Крім того, інтенсивний розвиток світлотехніки в останні десятиліття дозволив значно розширити асортимент штучних джерел світла для культивування рослин *in vitro*.

Встановлено, що хвилі синього діапазону (Ес) області фотосинтетично активно радіації (ФАР) збільшують у рослин *in vitro* вміст фотосинтетичних пігментів, швидкість фотосинтезу, товщину листкової пластинки, а також стимулюють функціонування продихового апарату. Випромінювання хвиль червоного діапазону (Еч) ФАР сприяє інтенсивному росту листків та осьових органів, збільшує вміст як розчинених вуглеводів, так і крохмальних зерен у хлоропластах [25]. Під дією хвиль зеленого (Ез) діапазону інтенсивність фотосинтезу, продуктивність рослин є найнижчою [28]. Залежно від видової приналежності рослин *in vitro*, комбінація різних співвідношень хвиль Ес і Еч спектрів випромінювання дозволяє значно покращити їх біологічну продуктивність та, відповідно, збільшити приріст сирої та сухої маси [27]; зумовлює диференціацію тканин мезофілу та збільшує кількість гран у хлоропластах; впливає на роботу провідної системи та продихів, ріст і функціонування кореневої системи тощо. Крім того, за переваги хвиль Ес діапазону у світловому потоці зростає й вплив на рослини *in vitro* екзогенного цитокініну. Тому ініціюється розвиток пазушних меристем та збільшується коефіцієнт мультиплікації пагонів [26]. Не менш важливу роль відіграє й інтенсивність світлового потоку в області ФАР. Так, висока інтенсивність хвиль Ес діапазону ФАР стимулює проліферацію хлоропластів [25, 28]; інгібує дію екзогенної сахарози та відновлює здатність хлоропластів змінювати своє положення у клітинах рослин *Arabidopsis thaliana, Lemna trisulca* та *Nicotiana tabacum* залежно від інтенсивності світла [11]. За низької інтенсивності хвиль Ес і Еч діапазонів приріст біомаси та інтенсивність фотосинтезу значно зменшуються [28]. Інтенсивність світла впливає й на частку відкритих продихів [12], а їх кількість на одиницю площі листка та розміри залежать від переважання у спектрі хвиль Ес або Еч діапазонів: за більшої частки Ес щільність продихів є високою, за Еч – нижчою [25, 28]. Отже, здатність світла цілеспрямовано індукувати певні ростові процеси, гальмувати вплив екзогенної сахарози та пришвидшувати інтенсивність перебігу фотосинтетичних процесів, змінювати анатомічну будови листка, функціонування подихів, дозволяє розглядати оптимізацію світлового режиму, поряд із вище зазначеними стратегіями, як необхідну умову підвищення адаптаційного потенціалу рослин на етапі культивування їх *in vitro*.

Наступним кроком перед акліматизацією мультиплікованих *in vitro* рослин до умов *ex vitro* є контамінація асептичних культур симбіотичними різосферними штамами бактерій родів *Bacillus, Azospirillum, Pseudomonas, Azotobacter* або грибами відділу *Glomeromycota*, з якими вони утворюють везикулярно арбускулярну мікоризу (АМ). Бактеризацію та мікоризацію рослин здійснюють як в умовах *in vitro*, так й *ex vitro* [15, 29].

Корені рослин *in vitro* часто не мають волосків, тому гіфи АМ-грибів виконують їх функцію, збільшуючи поглинання води та елементів мінерального живлення. За колонізації рослин гіфи АМ-грибів проникають у кортикальний шар їх коренів, компенсують слабке функціонування провідної системи рослин та покращують транспорт води і мінеральних компонентів із кореня до пагону [1, 29].

Загалом, за контамінації симбіотичною мікрофлорою у рослин *in vitro* інтенсифікують-

ся фотосинтетичні реакції, покращується водний обмін, мінеральне живлення та фітогормональний статус [29]. Такі зміни у метаболізмі рослин збільшують їх продуктивність, підвищують стійкість до водного дефіциту та знижують трансплатаційний шок [30]. Заселення ризосферними бактеріями та АМ-грибами посилює й синтез вторинних метаболітів (ізофлаваноїдів, фітоалексинів тощо), здатних пригнічувати життєдіяльність ґрунтових патогенних мікроміцетів родів *Fusarium*, *Verticillium*, *Cylindrocarpon*, *Pythium*, *Botrytis*, *Rhizoctonia* та, відповідно, значно підвищувати відсоток приживлюваності рослин *in vitro* в умовах *ex vitro* [30].

Останнім етапом, що завершує цикл робіт з мультиплікації рослин *in vitro*, є безпосереднє перенесення посадкового матеріалу в умови *ex vitro* [4, 10, 15]. Акліматизація *ex vitro*, крім формування стійкості до патогенної мікрофлори, передбачає одночасне проведення декількох процесів: адаптації рослин до водного дефіциту; відновлення функціонування кореневої системи; укорінення у ґрунті.

Перший процес, як вже зазначалося, потребує використання антитранспірантів [24], ручного або автоматизованого вентилювання культуральних ємностей із поступовим збільшення часу експозиції до повного відновлення здатності рослин регулювати водний баланс [4].

Найскладнішим завданням є відновлення функціонування кореневої системи. Відомо, що кошторис робіт щодо укорінення та акліматизації рослин складає приблизно 35–75 % [1] від загальної вартості мікроклонального розмноження. Тому, значна частина технологій поєднує процес укорінення рослин з їхньою акліматизацією. Для цього мультиплікові пагони без коренів з культури *in vitro* переносять в умови гідропоніки або відразу висаджують у контейнери із підготовленим субстратом.

Фізична та хімічна природа підтримуючих субстратів помітно впливає на укорінення рослин та відновлення їх здатності до існування в умовах *ex vitro* [3]. Відповідно, ємності для водних культур, залежно від обраної дослідником методики, можуть бути наповнені живильним середовищем, в якому культивували рослини *in vitro*, однак із зменшеним вмістом макро- і мікросолей, без сахарози та регуляторів росту, водопровідною водою або стандартним розчином для гідропоніки [15]. В умовах водної культури та за зниженого вмісту сполук нітрогену відбувається інтенсивніший розвиток кореневої системи. Проте кореневі волоски за таких умов не утворюються, що значно зменшує площу поглинання.

Добре збалансовані за фізико-хімічними характеристиками ґрунтосуміші можуть забезпечити достатнє надходження до кореневої системи O_2, здатного інтенсифікувати ріст кореневих волосків [5]. Компонентний склад таких субстратів складається із торфу, перліту, ґрунту, вермикуліту, кокосових матів, деревної кори тощо, поєднаних у різних композиціях та співвідношеннях [6].

На даний час серед дослідників не існує єдиного погляду щодо більшої доцільності використання на цьому етапі вже укорінених *in vitro* рослин або лише мультиплікованих пагонів. Згідно з одними повідомленнями, укорінені безпосередньо під час акліматизації пагони деяких видів мають більший коефіцієнт приживлюваності в умовах *ex vitro*, порівняно з рослинами, коренева система яких було сформована ще в культурі *in vitro* [1, 15]. Інші вчені зазначають, що утворенні *in vitro* корені продовжують функціонувати й в умовах *ex vitro*, тому здатні компенсувати рослині втрати води [1, 8].

Заключним етапом мікроклонального розмноження є висаджування рослин у ґрунт чи інший підготовлений субстрат. Успішність акліматизаційних технологій доцільно оцінювати лише після завершення 2 вегетаційних сезонів перебування рослин в умовах *ex vitro* або *in situ*, оскільки, з одного боку, саме стільки часу необхідно щоби рослини *in vitro* набули габітусу, характерного для інтактних особин їхнього віку. А з іншого – лише за здатністю рослин *in vitro* перенести несприятливі за кліматичними умовами сезони можна остаточно оцінити їх адаптаційний потенціал та успішність розробленої акліматизаційної технології [31].

Висновки

Узагальнення літературних джерел свідчить, що у світовій та вітчизняній науці проводиться низка досліджень, спрямованих на вивчення механізмів зміни інтенсивності перебігу фотосинтетичних та транспіраційних процесів, особливостей морфо-анатомічної будови тощо рослин *in vitro* під впливом певних чинників умов культивування; розроблено декілька технологій та підходів щодо акліматизації отриманого біотехнологічними методами посадкового матеріалу до умов *ex vitro*. Однак, дослідження

зміни структурно-функціональної організації рослин на етапах *in vitro* та *ex vitro* висвітлюють лише окремі аспекти цієї проблеми. Розробники акліматизаційних технологій значну увагу приділяють лише удосконаленню методів адаптації посадкового матеріалу умов до *ex vitro* і, фактично, не звертають увагу на можливість значного підвищення механізмів стійкості рослин ще на етапі їх мультиплікації в культурі *in vitro*. Розглянуті стратегії свідчать про можливість акліматизації рослин в умовах *in vitro*, а також *ex vitro* завдяки використанню різних підходів та методів, що збільшить адаптаційних потенціал отриманих біотехнологічними методами рослин та полегшить процедуру їхнього перенесення у ґрунт.

References

1. Medvedyeva T.M. Problemy aklimatyzatsiyi kul'tyvovanykh *in vitro* roslyn. Fyzyolohyya y byokhymyya kul'turnykh rastenyy. 2008. T. 40, № 1. C. 299–309 [in Ukrainian] / Медведєва Т. М. Проблеми акліматизації культивованих *in vitro* рослин. *Физиология и биохимия культурных растений*. 2008. Т. 40, № 1. С. 299–309.
2. Clapa D., Fira A., Joshee N. An Efficient *Ex Vitro* Rooting and Acclimatization Method for Horticultural Plants Using Float Hydroculture. *Horticultural Science.* 2013. Vol. 48, Iss. 9. P. 1159–1167.
3. Ubalua A. O, Okoroafor U. E. Micropropagation and postflask management of sweet potato using locally available materials as substrates for hardening. *Plant Knowledge Journal*. 2013. Vol. 2(2). P. 56–61. URL: http://www.sciencej.com/alfred_2_2_2013_56_61.pdf
4. Kodun-Ivanova M.A. Indicators of water-stress of microclonal aspen *Populus tremula* to the *ex vitro* conditions. *Trudy BHTU*. 2017. Ser. 1, № 2. P. 146–155 [in Russian] / Кодун-Иванова М.А. Показатели водного стресса микроклонально размноженных растений осины *Populus tremula* при их выращивании в условиях *ex vitro*. *Труды БГТУ*. 2017. Сер. 1, № 2. С. 146–155
5. Ubalua A. O., Nsofor G. C. The role of supporting substrates in ex vitro acclimatization and growth of tissue cultured cassava plantlets. *Plant Knowledge Journal*. 2017. Vol. 6 (1). P. 1–6. doi: 10.21475/pkj.06.01.17.p7910
6. Ivanova-Khanina L.V. Influence the composition of substrate on survival rate of microplants of Vitis vinifera L. *in vivo*. *Ekosystemy*. 2018. Iss. 13 (43). P. 84–88 [in Russian] / Иванова-Ханина Л.В. Влияние состава субстрата на приживаемость микрорастений *Vitis vinifera* L. *in vivo*. *Экосистемы*. 2018. Вып. 13 , №(43). С. 84–88
7. Isah T. Adjustments to *in vitro* culture conditions and associated anomalies in plants. *Acta biologica Cracoviensia. Series Botanica*. 2015. Vol. 57/2. P. 9–28. doi: 10.1515/abcsb-2015-0026
8. da Silva T. J. A., Hossain M. ., Sharma M. et al. Acclimatization of *in Vitro*-derived *Dendrobium*. *Horticultural Plant Journal*. 2017. Vol 3. Iss. 3. P. 110–124. doi: 10.1016/j.hpj.2017.07.009
9. Batista D. S., Felipe S. H. S., Silva T. D. et al. Light quality in plant tissue culture: does it matter? *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant.* 2018. Vol. 54, № 3. C. 195–215. doi.: 10.1007/s11627-018-9902-5
10. Hazarika B. N., Bora A. Use of bio-agents in acclimatizing micropropagated plants - a review. *Agricultural Reviews.* 2006. Vol. 27, Iss. 2. P. 152–156.
11. Eckstein A., Zieba P., Gabrys H. Sugar and light effects on the condition of the photosynthetic apparatus of *Arabidopsis thaliana* cultured *in vitro*. *Journal of Plant Growth Regulation.* 2012. Vol. 31, Iss. 1. P. 90–101
12. Gago J., Martínez-Núñez L., Landín M., Flexas J., Gallego P. P. Modeling the Effects of Light and Sucrose on *In Vitro* Propagated Plants: A Multiscale System Analysis Using Artificial Intelligence Technology. *PLoS ONE*. 2014. 9, 1 Article ID: e85989. doi: 10.1371/journal.pone.0085989
13. Trejgell A., Tretyn A. Shoot multiplication and *in vitro* rooting of *Carlina onopordifolia* Basser. *Acta Biologica Cracoviensia. Series Botanica*. 2011. Vol. 53/2. P. 68–72. doi: 10.2478/v10182-011-0026-z
14. Vechernyna N.A., Tavartkyladze O.K., Borodulyna Y.D., Erst A.A. Adaptatsyya rastenyy-rehenerantov k uslovyyam vyrashchyvanyya *ex vitro*. *Sovremennye tendentsyy razvytyya promyshlennoho sadovodstva* : materyaly nauch.-prakt. konf., posvyashch. 75-letyyu obrazovanyya NYY sadovodstva Sybyry ymeny M. A. Lysavenko (Barnaul, 18-23 avh. 2008). Barnaul, 2008. S. 355–360 [in Russian] / Вечернина Н.А., Таварткиладзе О.К., Бородулина И.Д., Ерст А.А. Адаптация растений-регенерантов к условиям выращивания *ex vitro*. *Современные тенденции развития промышленного садоводства* : материалы науч.-практ. конф., посвящ. 75-летию образования НИИ садоводства Сибири имени М. А. Лисавенко (Барнаул, 18-23 авг. 2008). Барнаул,
15. Sheela C., Rajib B., Vijay K., Ramesh C. Acclimatization of tissue cultured plantlets: from laboratory to land. *Biotechnology Letters*. 2010. Vol. 32. P. 1199–1205. doi: 10.1007/s10529-010-0290-0.
16. Ávila-Juárez L., Torres-Pacheco I., Ocampo-Velázquez R. V., Feregrino-Pérez A. A., CruzHernández A., Guevara-González R. G. Integrating plant nutrients and elicitors for production of secondary metabolites, sustainable crop production and human health : A review. *International Journal of Agriculture & Biology*. 2017. Vol. 19. P. 391– 402. doi: 10.17957/IJAB/15.0297
17. Pykalo S.V., Dubrovna O.V. Tolerance to abiotic stressors of r1 plants of triticale obtained by cell selection. *Visnyk Kharkivs'koho natsional'noho ahrarnoho universytetu. Seriya «Biolohiya».* 2015. Iss. 3 (36). P. 76–82. [in Ukrainian] / Пикало С.В., Дубровна О. В. Стійкість до абіотичних стресорів рослин r1 тритикале, отриманих шляхом клітинної селекції. *Вісник Харківського національного аграрного університету. Серія «Біологія»*. 2015. Вип. 3 (36). С. 76–82.
18. Musienko M.M., Zhuk I.V. Molecular mechanisms of induction of protective plant reactions to drought effect. *Ukr. botan. zhurn*. 2009. Т. 66, № 4. P. 580–595. [in Ukrainian] / Мусієнко М.М., Жук І.В. Молекулярні механізми індукції захисних реакцій рослин в умовах посухи. *Український ботанічний журнал*. 2009. Т. 66, № 4. С. 580–595.
19. Kolupaev Yu.E., Vayner. A.A., Yastreb T.O. Proline: physiological functions and regulation of its content in plants under stress conditions. *Visnyk Kharkivs'koho natsional'noho ahrarnoho universytetu. Seriya «Biolohiya»*.2014. Iss. 2 (32). C. 6–22

[in Ukrainian] / Колупаев Ю. Е., Вайнер А. А., Ястреб Т. О. Пролин: физиологические функции и регуляция содержания в растениях в стрессовых условиях. *Вісник Харківського національного аграрного університету. Серія «Біологія».* 2014. Вип. 2 (32). С. 6–22

20. Bisht S. S., Bisht A. S., Chauhan R. S. *In-vitro* Mutagenesis Induction to Improve Abiotic Stress in Tissue Cultured Plantlet of *Picrohiza kurroa* Royle ex. Benth: An Endangered Plant of Western Himalayas. *India Medical and Aromatic Plants (Los Angel).* 2017. Vol. 6, Iss. 2. Article ID: 287. doi: 10.4172/2167-0412.1000287.
21. Banas A. K., Gabrys H. Influence of sugars on blue light-induced chloroplast relocations. *Plant Signaling & Behavior*. 2007. Vol. 2 (4). P. 221–230. doi: 10.4161/psb.2.4.4392
22. Oliveira L., Cardoso M. N., Oliveira A., Machado C., Cardoso B., Silva A., Lédo A. Effects of in vitro Drought Stress on Growth, Proline Accumulation and Antioxidant Defense in Sugarcane. *Journal of Agricultural Science*. 2018. Vol 10, No 5. P. 135–149. doi: 10.5539/jas.v10n5p135
23. Xu Y., Huang B. Exogenous Ascorbic Acid Mediated Abiotic Stress Tolerance in Plants. Ascorbic Acid in Plant Growth, Development and Stress Tolerance / Hossain M., Munné-Bosch S., Burritt D., Diaz-Vivancos P., Fujita M., Lorence A. (eds). Springer, Cham, 2017. P. 233–253
24. Zelenyanska N.M. Antitranspirants for a successful adaptation of grape Microclones. *Naukovi dopovidi Natsional'noho universytetu bioresursiv i pryrodokorystuvannya Ukrayiny*. 2013. T. 2 (38). URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/Nd_2013_2_4 (last accessed: 2.04.2013) [in Ukrainian] / Зеленянська Н. М. Антитранспіранти для успішної адаптації мікроклонів винограду. *Наукові доповіді Національного університету біоресурсів і природокористування України.* 2013. Т. 2 (38). URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/Nd_2013_2_4 (дата звернення: 2.04.2013).
25. Li H., Tang C., Xu Z. Effects of different light quality on growth, photosynthetic characteristic and chloroplast ultrastructure of upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.) seedlings. *Emirates Journal of Food and Agriculture*. 2017. Vol. 29, Iss. 2. P. 104–113. doi: 10.9755/ejfa.2016-10-1387
26. Trivedi A., Sengar R. S. Effect of various light-emittimg diodes on growth and photosynthetic pigments of banana (*Musa acuminata*) CV. grande naine *in vitro* plantlets. *International Journal of Chemical Studies*. 2017. Vol. 5(5). P. 1819–1821. URL: https://www.researchgate.net/publication/333652559.
27. Hrytsak L.R., Herts A.I., Nuzhyna N.V., Cryk M.M., Shevchenko V.V., Drobyk N.M. The influence of light regime on the growth data and pigment composition of the plant *Gentiana lutea* L. cultured *in vitro*. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 2018. 9, № 2. P. 258–266 [in Ukrainian] / Грицак Л.Р., Герц А.І., Нужина Н.В., Крук М.М., Шевченко В.В., Дробик Н.М. Вплив світлового режиму на ростові параметри та пігментний склад культивованих *in vitro* рослин *Gentiana lutea* L. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 2018. 9, № 2. С. 258–266.
28. Muneer S., Kim E. J., Park J. S., Lee J. H. Influence of green, red and blue light emitting diodes on multiprotein complex proteins and photosynthetic activity under different light intensities in lettuce leaves (*Lactuca sativa* L.). *Internation Journal of Molecular Science*. 2014. Vol. 15, Iss. 3. P. 4657–4670. doi: 10.3390/ijms15034657
29. Yablonskaya M.I., Gins M.S., Molchanova M.A. In vitro biotization. Vestnyk RUDN. Seryya «Ahronomyya y zhyvotnovodstvo». 2016. № 1. P. 15–20 [in Russian] / Яблонская М. И., Гинс М. С., Молчанова М. А. Биотизация растений *in vitro*. *Вестник РУДН. Серия «Агрономия и животноводство».* 2016. № 1. С. 15–20
30. Tkachenko O. V., Evseeva N. V., Boikova N. V. et al. Improved potato microclonal reproduction with the plant growth-promoting rhizobacteria *Azospirillum*. *Agronomy for Sustainable Development*. 2015. Vol. 35. P. 1167–1174. doi: 10.1007/s13593-015-0304-3f
31. Tseplyaev A.N., Treshchevskaya E.I., Turtanova E.N. Experience of growth in containers of the planting material received by the method of clonal propagation *in vitro*. *Lesotekhnycheskyy zhurnal.* 2018. Т. 8, № 3. P. 124–130 [in Russian] / Цепляев А. Н., Трещевская Э. И., Туртанова Е. Н. Опыт доращивания в контейнерах посадочного материала, полученного методом клонального размножения *in vitro*. *Лесотехнический журнал*. 2018. Т. 8, № 3. С. 124–130

HRYTSAK L.R., DROBYK N.M
Volodymyr Hnatiuk Ternopil National Pedagogical University,
Ukraine, 46027, Ternopil, M. Kryvonosa str., 2, e-mail: hrytsak1972@gmail.com

MODERN TECHNOLOGIES OF INCREASING THE RESISTANCE OF *IN VITRO* CULTIVATED PLANTS TO *EX VITRO* CONDITIONS

Aim. To analyze the experience of Ukrainian and foreign scientists on technologies to increase the adaptive potential of cultivated *in vitro* plants to *ex vitro* conditions. ***Results***. Modern acclimatization technologies are mainly aimed at improving the methods of adaptation of planting material of *in vitro* collections to *ex vitro* conditions. Much less attention is paid to technologies to increase plant resilience at the stage of their multiplication and growth *in vitro*. Integration and systematization of research results of a large number of scientists is allowed to describe the main strategies and methodological techniques, which implementation can significantly increase the adaptive potential of *in vitro* plants. ***Conclusions***. Optimization of physical and chemical conditions of plant cultivation *in vitro* can induce changes in their phenotype, intensity of photosynthetic reactions, water balance, which increases the adaptive potential of plants and facilitates the process of their acclimatization to *ex vitro* conditions.

Key words: *in vitro* plants, acclimatization to *ex vitro* conditions, adaptive potential, technology.