

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
СУМСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
Факультет агротехнологій та природокористування
Кафедра біотехнології та хімії

До захисту
Допускається
Завідувач кафедри

Коваленко В.М.

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

за другим (магістерським) рівнем вищої освіти
на тему: «Мікроклональне розмноження рослин»

Виконав: _____ Максим ГНІТЕЦЬКИЙ

Група _____ ЗБІО 2401м

Науковий керівник _____ Вікторія ІВЧЕНКО

Рецензент _____ Людмила БОНДАРЕВА

Суми – 2025

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ з /п	Назва етапів кваліфікаційної роботи	Строк виконаних етапів	Примітка
1.	<i>Вибір теми, підбір наукової літератури</i>	<i>02.09.2024</i>	<i>виконав</i>
2.	<i>Написання вступу та першого розділу</i>	<i>20.09.2024</i>	<i>виконав</i>
3.	<i>Написання другого розділу</i>	<i>27.10.2025</i>	<i>виконав</i>
4.	<i>Написання третього розділу</i>	<i>24.11.2025</i>	<i>виконав</i>
5	<i>Висновки</i>	<i>30.11.2025</i>	<i>виконав</i>

Керівник роботи _____

Здобувач _____

Вікторія ІВЧЕНКО

Максим ГНІТЕЦЬКИЙ

АНОТАЦІЯ

Гнітецький Максим Олегович «Мікроклональне розмноження рослин». Кваліфікаційна робота на здобуття ступеня магістра з біотехнологій та біоінженерії за освітньої програмою «Біотехнологія» зі спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія». Сумський національний аграрний університет, Суми, 2025.

У кваліфікаційній роботі представлені результати досліджень технології мікроклонального розмноження рослин на прикладі трьох економічно важливих плодкових культур: малини (*Rubus idaeus L.*), ожини (*Rubus fruticosus L.*) та мигдалю (*Prunus dulcis Mill.*).

Актуальність дослідження зумовлена потребою українських розсадницьких господарств у високоякісному, генетично-однорідному та безвірусному посадковому матеріалі, а також зростаючим попитом на інноваційні біотехнологічні методи відтворення плодкових культур.

У роботі розглянуто теоретичні основи *культури тканин in vitro*, проаналізовано фізіолого-біохімічні особливості досліджуваних видів, а також висвітлено ключові етапи мікроклонування:

- ініціацію стерильної культури;
- вибір та підготовку експлантів;
- індукцію мультиплікації пагонів;
- укорінення *in vitro*;
- адаптацію рослин-регенерантів до умов *ex vitro*.

Особливу увагу приділено впливу компонентів живильних середовищ, зокрема макро- та мікроелементів, джерел вуглецю та комбінацій фітогормонів (цитокінінів і ауксинів) на інтенсивність морфогенезу та життєздатність регенерантів. У роботі представлено порівняльний аналіз реакцій малини, ожини та мигдалю на різні співвідношення регуляторів росту, що дозволяє визначити

оптимальні умови для кожної культури. Проведено оцінку ефективності різних протоколів стерилізації експлантів та визначено чинники, що впливають на рівень контамінації в культурах *in vitro*.

Експериментальна частина передбачала серію лабораторних дослідів, спрямованих на виявлення найефективніших середовищ для мультиплікації пагонів і формування кореневої системи.

За результатами роботи встановлено, що методи мікроклонального розмноження дозволяють значно підвищити вихід здорових рослин малини, ожини та мигдалю порівняно з традиційними методами розмноження. Доведено, що оптимізація складу живильних середовищ та режимів культивування сприяє швидкому отриманню високопродуктивного безвірусного матеріалу, зберігаючи цінні сортові ознаки.

Практична значущість дослідження полягає в можливості впровадження отриманих протоколів у виробничі біотехнологічні лабораторії та розсадники України, що сприятиме підвищенню продуктивності плодових культур та розширенню асортименту посадкового матеріалу на продовольчому ринку. Отримані результати можуть бути використані у подальших наукових дослідженнях, присвячених вдосконаленню технологій мікроклонального розмноження та збереження генетичного різноманіття плодових рослин.

Ключові слова: мікроклональне розмноження рослин, експлант, рослини, регенеранти, поживне середовище, *in vitro*, *ex vivo* .

ABSTRACT

Hnitetsky Maksym Olehovych "Microclonal Plant Reproduction". Qualification work for the degree of Master of Science in Biotechnology and Bioengineering under the educational program "Biotechnology" in specialty 162 "Biotechnology and Bioengineering". Sumy National Agrarian University, Sumy, 2025.

The qualification work presents the results of research into the technology of microclonal plant reproduction using the example of three economically important fruit crops: raspberry (*Rubus idaeus L.*), blackberry (*Rubus fruticosus L.*) and almond (*Prunus dulcis Mill.*).

The relevance of the study is due to the need of Ukrainian nursery farms for high-quality, genetically homogeneous and virus-free planting material, as well as the growing demand for innovative biotechnological methods of fruit crop reproduction.

The paper reviews the theoretical foundations of in vitro tissue culture, analyzes the physiological and biochemical features of the studied species, and highlights the key stages of microcloning:

- initiation of sterile culture;
- selection and preparation of explants;
- induction of shoot multiplication;
- rooting *in vitro*;
- adaptation of regenerant plants to ex vitro conditions.

Special attention is paid to the influence of components of nutrient media, in particular macro- and microelements, carbon sources and combinations of phytohormones (cytokinins and auxins) on the intensity of morphogenesis and viability of regenerants. The paper presents a comparative analysis of the reactions of raspberries, blackberries and almonds to different ratios of growth regulators, which allows determining the optimal conditions for each culture. The effectiveness of various

explant sterilization protocols was assessed and factors affecting the level of contamination in in vitro cultures were identified.

The experimental part involves conducting a series of laboratory experiments aimed at identifying the most effective media for shoot multiplication and root system formation. The peculiarities of the adaptation of the obtained plants to greenhouse and open ground conditions were separately investigated, including the analysis of factors affecting their survival.

The results of the work showed that microclonal propagation methods can significantly increase the yield of healthy raspberry, blackberry and almond plants compared to traditional propagation methods. It has been proven that optimizing the composition of nutrient media and cultivation modes contributes to the rapid production of highly productive virus-free material, while preserving valuable varietal characteristics.

The practical significance of the study lies in the possibility of implementing the obtained protocols in production biotechnology laboratories and nurseries of Ukraine, which will contribute to increasing the productivity of fruit crops and expanding the range of planting material on the market. The results obtained can be used in further scientific research devoted to improving microclonal propagation technologies and preserving the genetic diversity of fruit plants.

Key words: *microclonal propagation of plants, explant, plants, regenerants, nutrient medium, in vitro, in vivo.*

ЗМІСТ

ВСТУП	9
РОЗДІЛ 1. МІКРОКЛОНАЛЬНЕ РОЗМНОЖЕННЯ - СКЛАДОВА ЧАСТИНА ФІТОБІОТЕХНОЛОГІЇ (огляд наукової літератури)	15
1.1. Місце мікронального розмноження в сучасній біотехнології	15
1.2. Біотехнологія рослин - основа мікронального розмноження	16
1.3. Практичне значення мікронального розмноження	17
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ МІКРОКЛОНАЛЬНОГО РОЗМНОЖЕННЯ РОСЛИН	21
2.1 Матеріал дослідження	21
2.2 Методи дослідження	21
РОЗДІЛ 3. МІКРОКЛОНАЛЬНЕ РОЗМНОЖЕННЯ ПЕВНИХ ВИДІВ РОСЛИН	31
3.1. Мигдаль	32
3.2. Малина	37
3.3. Ожина	45
ВИСНОВКИ	50
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	52
ДОДАТКИ	57

ВСТУП

Порівняно недавно термін «біотехнологія» не мав широкого вжитку у науковій практиці. Замість нього застосовували поняття «промислова мікробіологія», «технічна біохімія», «біотехніка» тощо. Становлення нового терміна, який інтегрував усі попередні трактування, відбулося близько 35 - 40 років тому. Це було зумовлено інтенсивним розвитком біологічних наук, насамперед мікробіології, ензимології, молекулярної біології та генетики, які створили теоретичне підґрунтя для формування біотехнології, як окремої міждисциплінарної галузі знань.

Біотехнологія має походження (від грец. «*bios*» – життя, «*techne*» – мистецтво, майстерність, «*logos*» – учення) є науковою галуззю, що вивчає можливості використання живих організмів, клітин, тканин та біологічних процесів у промислових, аграрних і медичних технологіях. У прикладному значенні біотехнологію трактують, як сукупність методів і процесів, у яких живі системи, або продукти їх метаболізму застосовують для виробництва цінних для народного господарства речовин *ex vitro; ex vitro* [1, 27].

У сучасному світі біотехнологія набула стратегічного значення. Розвинені країни, зокрема США, Велика Британія, Китай, Японія, Індія, Німеччина та Франція, визначили її одним із пріоритетних напрямів науково-технічного прогресу. Саме завдяки досягненням у цій сфері людство отримує можливість вирішувати глобальні проблеми - дефіцит продовольства, енергетичну кризу, деградацію ґрунтів і зміну клімату, а також досягати нових результатів у медицині та фармації.

В Україні також сформовано стратегічні напрями розвитку біотехнологічної науки. Основна увага зосереджується на створенні екологічно безпечних технологій виробництва харчових продуктів, медичних препаратів, біопалива, а також на збереженні генофонду рослин і тваринного світу. Біотехнологічні дослідження набувають особливого значення у сфері рослинництва, де активно

впроваджуються методи *in vitro* для відновлення, розмноження та генетичного поліпшення рослин.

Одним із найважливіших напрямів сучасної біотехнології є мікроклональне (вегетативне) розмноження рослин *in vitro*, яке базується на унікальній властивості клітин - тотипотентності, тобто здатності кожної живої клітини відновлювати цілий організм за наявності відповідних умов. Цей метод передбачає культивування частин рослинних органів (експлантів) на штучних поживних середовищах у стерильних умовах.

Актуальність теми. Рослинні клітини, тканини і органи сприяють успішному використанню мікроклонального розмноження рослин. Саме на етапах введення в асептичні умови, мультиплікації, ризогенезу й постасептичної адаптації існують постійні фізіологічні й технологічні проблеми, що і вимагають системного аналізу цього технологічного процесу [1-3,7], зокрема, напочатку це передбачає відбір донорів та отримання стерильної культури, важливими є вибір експлантів та застосування заходів, пов'язаних з адаптацією рослинних об'єктів до умов *in vitro*.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Робота виконувалася, згідно з планом науково-дослідної роботи кафедри біотехнології та хімії Сумського національного аграрного університету.

Мета і завдання дослідження. Метою роботи було дослідити особливості мікроклонального розмноження рослин на основі мигдалю, малини, ожини в умовах *in vitro* та експериментально обґрунтувати оптимізації технологічного процесу культивування даних видів рослин.

Завдання:

- 1) проаналізувати та систематизувати результати досліджень та наукової літератури, щодо теоретичних основ культури тканин *in vitro*,
- 2) проаналізувати фізіолого-біохімічні особливості досліджуваних видів, а також ключові етапи мікроклонування:

- ініціацію стерильної культури;
- вибір та підготовку експлантів;
- індукцію мультиплікації пагонів;
- укорінення *in vitro*;
- адаптацію рослин-регенерантів до умов *ex vitro*.

рослин в умовах *in vitro, ex vitro*;

2) описати стан рослин, а саме при мікроклональному розмноженні та їх постасептичної адаптації;

3) дослідити вплив застосування фітодетермінантів у біотехнологічному процесі та розроблення технологічних протоколів мультиплікації й адаптації рослин *in vitro*.

Об'єкт дослідження плодіві культури: малини (*Rubus idaeus L.*), ожини (*Rubus fruticosus L.*) та мигдалю (*Prunus dulcis Mill.*).

Предмет дослідження фізіолого-біохімічні, анатомо-морфологічні особливості процесів у видах рослин, що відбуваються за мікроклонального розмноження та постасептичної адаптації з метою інтенсифікації насінницького процесу.

Методи дослідження- *лабораторний* – культивування рослин в асептичних умовах; - *вегетаційний* – закладання дослідів у суворо контрольованих умовах з метою поглибленої оптимізації процесів адаптації; - систематизація підходу в кількісній і якісній оцінці регенераційних, ростових та адаптаційних процесів рослин в асептичних і натативних умовах; - *фізіолого-технологічний*; – розроблення протоколів складових етапів біотехнологій мультиплікації і адаптації рослин *in vitro*; - *розрахунковий* – визначення якісних та кількісних показників регенерації рослин для підвищення ефективності їх насінництва; - *математично-статистичний аналіз* для обґрунтування кількісної оцінки отриманих експериментальних даних.

Наукова новизна теоретичне обґрунтування та вирішення актуальної проблеми застосування і використання мікроклонального розмноження рослин, включаючи введення експлантів у асептичні умови, ювенілізації та онтогенетичної різноякісності рослин *in vitro*, детермінації онтогенезу регенерантів і постасептичної адаптації Проаналізовано наукову літературу, зформульовані висновки.

Практичне значення одержаних результатів. Результати даного дослідження показують ефективність мікроклонального розмноження рослин.

Особистий внесок здобувача. Дане наукове дослідження є результатом самостійної роботи автора, яке включає в себе ретельний аналіз наукових джерел та самостійно виконані експерименти, проведено їх узагальнення і аналіз результатів оцінок, спостережень, сформульовані висновки, рекомендації для селекційної практики і виробництва, написана дипломна робота.

Активна участь у міжнародних та всеукраїнських конференціях; співавтор навчально - методичного посібника «Мікроклональне розмноження рослин (автори: Мацкевич В.В., Кравченко Н.В., Подгасцький А.А., Гнітецький М.О., Мацкевич О.В., Шита О.П)..

Структура та обсяг роботи. Обсяг роботи складає 75 сторінок. Містить вступ та три розділи, матеріали і методи дослідження, аналіз експериментальних даних, за темою дослідження, пропозиції для практичного застосування та список використаних джерел, додатки; налічує 12 таблиць, 10 рисунків.

Мікроклональне розмноження дозволяє за короткий термін отримувати велику кількість генетично ідентичних (клонових) рослин, що особливо важливо для відновлення цінних сортів і гібридів, які втрачають продуктивність під час традиційного насінневого розмноження. Завдяки цьому методу можна не лише зберегти, а й омолодити вихідний матеріал, отримати рослини, вільні від вірусів і патогенів, а також здійснювати довготривале зберігання генофонду.

Мікроклональне розмноження широко застосовується для багатьох культур - картоплі, пшениці, кукурудзи, сої, декоративних і плодових рослин. У сільському господарстві України цей метод має важливе значення для створення стійких до стресових факторів, високопродуктивних сортів та форм, адаптованих до умов змінного клімату.

Розвиток біотехнологічних методів, зокрема мікроклонального розмноження, відкриває широкі перспективи у сфері сталого агровиробництва. Такі технології сприяють ефективному використанню природних ресурсів, мінімізації хімічного навантаження на екосистеми, а також забезпечують екологічну стабільність агроландшафтів.

Особливої уваги заслуговує можливість впровадження біотехнологічних розробок у реабілітацію деградованих земель, біологічне очищення води, повітря, ґрунтів від токсичних речовин. Саме біотехнологія вивчає закономірності функціонування біологічних систем і пошук шляхів спрямованого керування процесами біосинтезу. Це потребує системного підходу, що охоплює розробку методів, прийомів і технологічних схем, які забезпечують оптимальні умови для експериментальної реалізації біотехнологічних процесів.

Біотехнологія – наука, що вивчає можливості використання живих організмів, систем, або продуктів їх життєдіяльності для вирішення різноманітних завдань народного господарства, а також можливості створення живих організмів з заданими властивостями методами генетичної інженерії.

Сучасна біотехнологія – як наука та галузь виробництва розвивається в трьох головних векторах:

- Молекулярна біологія та генетична інженерія;
- Мікробіологія та мікробіологічне виробництво;
- Культура клітин і тканин *in vitro*.

Стосовно рослинних об'єктів, то дослідження традиційно охоплюють наступні напрямки:

1. Біотехнологія мікроклонального розмноження рослин.
2. Біотехнологія виробництва культури клітин, тканин і органів рослин.
3. Генетична інженерія.
4. Банк *in vitro* та кріоконсервація, їх значення для збереження генофонду рослин .

Під терміном «мікроклональне розмноження» розуміють масове нестатеве розмноження рослин *in vitro*, при якому нові рослини генетично ідентичні вихідним. В основі методу лежить унікальна властивість рослинної клітини до клонування – здатності реалізовувати властиву їй тотипотентність.

У відповідності з науковою термінологією клонування – це отримання ідентичних організмів з ідентичних клітин. Цей метод має ряд переваг перед існуючими традиційними способами розмноження: - отримання генетично однорідного посадкового матеріалу; - звільнення рослин від вірусів за рахунок використання меристемних культур; - високий коефіцієнт розмноження; - скорочення загальної тривалості селекційного процесу; - прискорення переходу рослин від ювенільних до генеративних фаз онтогенезу; - розмноження рослин з низькою природною репродуктивною здатністю; - можливість проведення робіт як під час вегетаційного періоду, так і протягом всього року.

РОЗДІЛ 1. МІКРОКЛОНАЛЬНЕ РОЗМНОЖЕННЯ - СКЛАДОВА ЧАСТИНА ФІТОБІОТЕХНОЛОГІЇ (огляд наукової літератури)

1.1. Місце мікронального розмноження в сучасній біотехнології

Мікрональне розмноження (далі - МКР) належить до числа найважливіших технологій сучасної біотехнології, що базуються на використанні біологічних об'єктів - рослинних клітин, тканин і органів. Цей метод поєднує фундаментальні принципи фізіології, цитології, генетики, біохімії та молекулярної біології, а також тісно інтегрується з іншими напрямками прикладної біотехнології [1-3,17-18].

Залежно від інноваційних і комерційних потреб МКР може виступати, як самостійна галузь прикладної біотехнології, так і як складова частина комплексних технологій, пов'язаних із розмноженням, генетичною модифікацією, діагностикою та оздоровленням рослинних організмів [4-7,10].

У сучасних наукових і виробничих умовах цей метод застосовують для:

- клонального розмноження цінних сортів і гібридів;
- отримання безвірусного посадкового матеріалу;
- швидкого відновлення рідкісних і зникаючих видів;
- генетичного вдосконалення культур шляхом прямого, або непрямого морфогенезу[11-13,15].

Особливу роль МКР відіграє у створенні вихідного матеріалу для трансгенних і нетрансгенних форм, що поєднує його з методами генетичної інженерії та молекулярної селекції [1-3, 30-31]. Такий симбіоз дозволяє у відносно короткі терміни впроваджувати у виробництво нові сорти, лінії та гібриди рослин, які характеризуються високою продуктивністю, стійкістю до біотичних і абіотичних стресів та адаптивністю до кліматичних змін [8-9,12].

У зв'язку з активним розвитком фітобіотехнології мікрональне розмноження стало невід'ємним інструментом у програмі селекції, збереження

та відтворення рослинних ресурсів, що має велике наукове й економічне значення для аграрного сектору України [13-14].

1.2. Біотехнологія рослин - основа мікроклонального розмноження

Біотехнологія - це система технологічних процесів, у яких для отримання цінних продуктів, або вирішення виробничих завдань використовуються біологічні об'єкти: клітини, тканини, окремі органи чи цілісні організми. Якщо ці об'єкти мають рослинне походження, то називають біотехнологією рослин, або фітобіотехнологією [16,19, 21-22].

У межах фітобіотехнології окремим напрямом є дендробіотехнологія, що вивчає і впроваджує методи культивування, розмноження та відновлення деревних рослин, у тому числі лісових і декоративних порід [20, 32-33]. Цей напрям має надзвичайно важливе значення для відновлення лісів, фіторекультивациі земель, озеленення урбанізованих територій, а також збереження рідкісних і ендемічних видів [1-3, 22-24].

Основою біотехнології рослин є метод культивування ізольованих клітин, тканин та органів *in vitro*, що забезпечує можливість цілеспрямованого керування процесами морфогенезу, органогенезу та регенерації рослин. Використання ізольованого стану клітинного матеріалу дозволяє впливати на його диференціацію, стимулювати поділ клітин, ініціювати розвиток пагонів, або коренів, а також проводити генетичну трансформацію та відбір нових форм із бажаними властивостями.

Важливою особливістю МКР є використання штучних поживних середовищ, склад яких підбирається залежно від виду рослини, типу експланта і мети культивування. Основними компонентами таких середовищ є макро- та мікроелементи, вітаміни, фітогормони (ауксини, цитокініни, гібереліни), джерела вуглецю, амінокислоти та гелеутворювачі. Від правильного підбору їх співвідношень залежить спрямованість морфогенезу - розвиток кореневої, або пагонової системи.

1.3. Практичне значення мікроклонального розмноження

Сучасна практика аграрного виробництва свідчить, що впровадження технологій МКР дає можливість отримувати оздоровлений, високоякісний посадковий матеріал, який відповідає сортовим ознакам і не несе інфекційного навантаження. Особливо це важливо для вегетативно розмножуваних культур (картопля, полуниця, хміль, виноград, декоративні види), для яких накопичення вірусів і бактерій при традиційному розмноженні є суттєвою проблемою [25-26].

Методи МКР забезпечують:

- швидке масове розмноження генетично однорідного матеріалу;
- відновлення рідкісних або зникаючих видів флори;
- створення колекційного фонду генетичних ресурсів;
- можливість тривалого зберігання генетичного матеріалу *in vitro*;
- проведення генетичної трансформації та відбору стійких форм [17, 27].

У контексті сталого розвитку сільського господарства України мікроклональне розмноження відіграє важливу роль у підвищенні продуктивності культур, адаптації сортів до кліматичних змін та зменшенні антропогенного навантаження на агроєкосистеми.

Таким чином, МКР є не лише високоефективним методом розмноження, а й інструментом стратегічного збереження біорізноманіття та забезпечення екологічно безпечного виробництва в умовах сучасного ринку [34,36].

In vitro – вирощування рослинних об'єктів “у склі” (наприклад, пробірці, колбі, біореакторі) на штучних поживних середовищах в асептичних умовах.

Власне “скло” в сучасних технологіях все частіше замінюють на інші прозорі матеріали (рис. 1), наприклад поліпропілен. Перехід на вказані матеріали має низку переваг: зменшення ваги; відсутність потреби у зворотньому трафіку використаної тари (культуральних ємностей), спрощення утилізації.



Рис. 1. Культуральні ємності виготовлені з різних матеріалів: 1 - скло; 3, 4 різні види пластику; 4 - поліетиленова плівка.

У біотехнології існує дві групи методів:

1. Селекційні (соматична гібридизація, соматичний мутагенез, генетична інженерія та інші).

2. Методи прискореного розмноження, в тому числі мікроклональне розмноження

Мікроклональним розмноженням (МКР) називають масове вегетативне розмноження рослин в культурі тканин і клітин, за якого регенеровані рослини генетично ідентичні вихідному екземпляру [3, 35,37].

Основою МКР є тотипотентність. Це тотожність за генотипом усіх клітин багатоклітинного організму та здатність окремої клітини давати початок цілому новому організму шляхом поділу зі збереженням генетичної ідентичності(рис.2,3)



Рис.2. Рослини в умовах in vitro [2]

Переваги комерційного мікроклонального розмноження:

1. Високі коефіцієнти розмноження, які за виключенням не великої кількості видів досягаються лише МКР. Звичайними методами вегетативно розмноження отримують від однієї материнської рослини від десятків до декількох сотень клонів тоді як за МКР може бути до декількох десятків мільйонів регенерантів.

2. Можливість вегетативно розмножувати види, які в природі розмножуються лише генеративним способом

3. За отримання асептичних культур та якісної діагностики отримують вільні від збудників клони, тобто оздоровлюють той чи інший сорт, форму, гібрид.
4. Можливість розмножувати і вирощувати рослинні об'єкти, які не ростуть у нашому кліматі. Наприклад, рослини або калюсні культури женьшеню.
5. Розмноження відбувається не залежно від сезону.
6. Порівняно з звичайними методами вихідних рослин для розмноження потрібно на декілька порядків менше.
7. Значно менші площі, потрібні для отримання, відбору і вирощування рослин на початкових етапах розмноження.
8. Контроль, регулювання та можливість оптимізації умов вирощування.
9. Збереження генетичної ідентичності отриманих клонів.
10. Покращення регенеративних властивостей, ювенілізація посадкового матеріалу.
11. Спрощення процедури проходження митного контролю у випадку пересилки матеріалу *in vitro*, або відмитого і упакованого у форматі “голий корінь”.

РОЗДІЛ 2.

МАТЕРІАЛ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ МІКРОКЛОНАЛЬНОГО РОЗМНОЖЕННЯ РОСЛИН

2.1. Матеріал дослідження

Мікроклонального розмноження рослин (МКР) досліджували за чотирма напрямками, які відповідали складовим технологічного процесу: - відбір, введення та стабілізація розвитку експлантів в асептичних умовах; - мультиплікація; - індукція ризогенезу в регенерантів; - постасептична адаптація, зокрема з такими рослинами: малина (*Rubus idaeus*), ожина (*Rubus*), мигдаль (*Prunus dulcis*). .

2.2. Методи дослідження

Дослідження проводили в науковій лабораторії мікроклонального розмноження Інституту картоплярства НААН України, смт. Немішаєво, Бучанського району Київської області.



Рис.3.Меристеми мигдалю, малини, ожини (власне фото Гнітецького М.О.)

Рослини культивували в біологічних пробірках, і в скляних банках місткістю 370 та 200 мл (рис.2.) Середовища культивували в автоклаві ВК-75 за температури 121 °С, за тиску 1,1 атм., застосовували модифіковане середовище за Мурасіге і Скугом.

Для ризогенезу регенерантів рослин використовували чотири живильних середовища: Мак Коуна (WPM), Куаріна і Лепуавра (QL), Мурасіге і Скуга (MS), Данстена і Шорта (BDS) [27,30].

У складі живильних середовищ найбільш поширені групи гормонів, або їх синтетичних аналогів стимулюючої дії: ауксини, цитокініни та менш поширені гібереліни (табл.2.1, табл.2.2). Гормони інгібітори (абсцизини, етилен) рідко застосовували. Синтез регенерантами етилену може бути навіть шкодити технологічному процесу.

Таблиця 2.1

Регулятори росту, які використовуються за культивування тканин і клітин рослин

Клас фітогормонів	Назва	Скорочена назва
Ауксини	Індоліл-3-оцтова кислота	ІОК
	3-Індолілмасляна кислота	ІМК
	1-Нафтилоцтова кислота	НОК
	4-Дихлорфеноксоцтова кислота	2,4-Д
Цитокініни	6-Бензиламінопурин	БАП
	N-Ізопентениламінопурин	2-іР
	Кінетин (6-фурфуриламінопурин)	К
	Зеатин	
	Тідіазурон	TDZ

Гібереліни	Гіберелова кислота 3	ГК3
	Гіберелова кислота 4	ГК ₄
	Гіберелова кислота 7	ГК ⁷

Гормони здатні переміщуватися по рослині на далекі відстані, так і міжклітинні та внутрішні регулятори близької дії. Проте для індукції генетичних програм недостатньо наявності лише гормонів. Необхідно, щоб у рослинному організмі були компетентні рецепторні ділянки (сенсорні зони та клітини мішені).

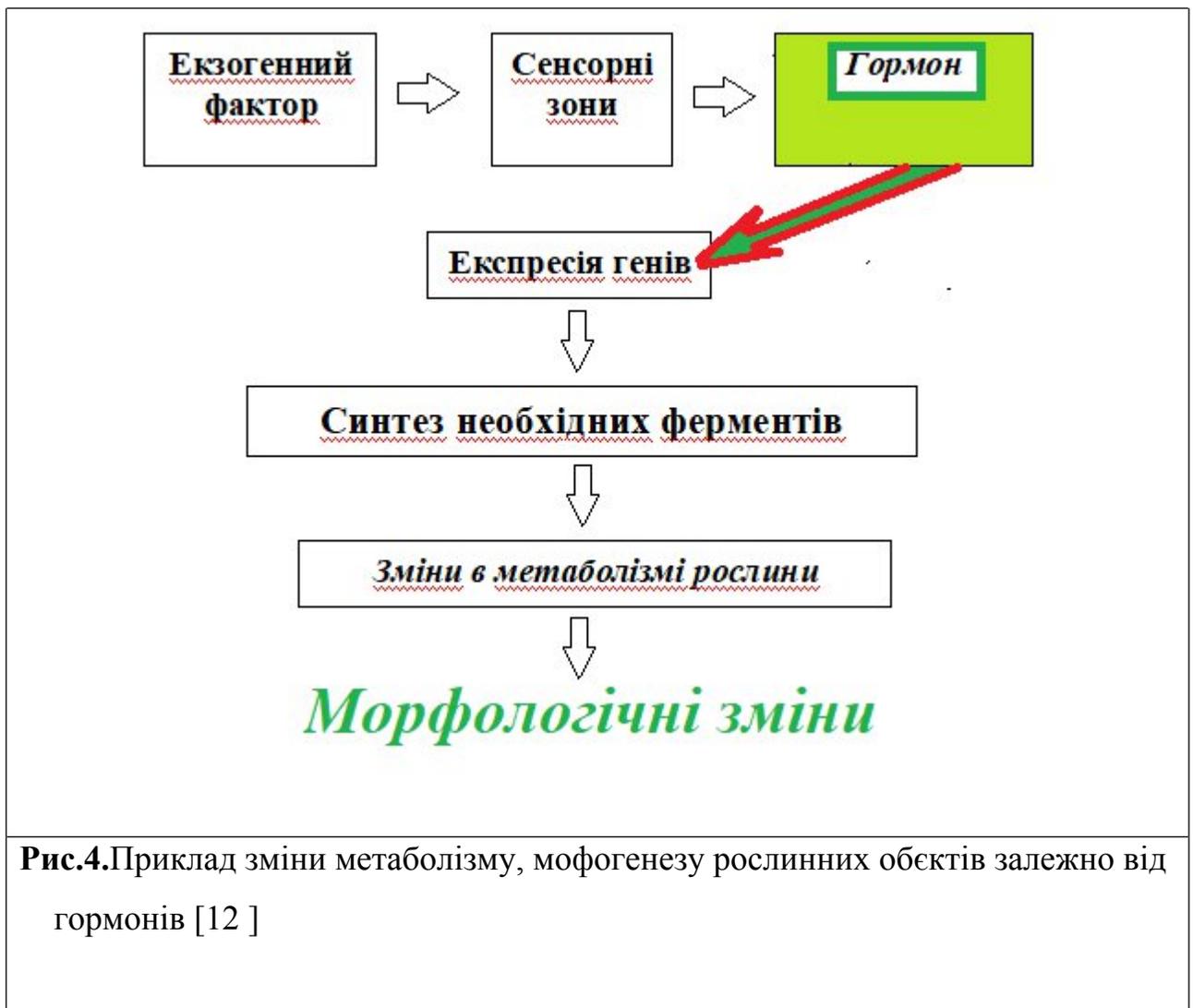


Рис.4. Приклад зміни метаболізму, мофогенезу рослинних об'єктів залежно від гормонів [12]

Таблиця 2.2

Ефекти застосування окремих фітогормонів

Гормон	Ефект в культурі тканин
Ауксини	Формування меристем, адвентивних коренів
	Індукція ембріогенезу
	Поділ клітини
	Утворення та ріст калюсів.
	Пригнічення відростання пазушних бруньок.
Цитокініни	Формування придаткових пагонів
	Гальмування утворення придаткових коренів.
	Поділ клітини.
	Утворення та ріст калюсів.
	Стимуляція відростання пазушних бруньок.
	Гальмування розтягування пагонів.
	Гальмування старіння листя.
Гібереліни	Видовження пагонів
	Звільнення від стану спокою в насінні, соматичних ембріонах, верхівкові бруньки і цибулини.
	Гальмування утворення придаткових коренів.
	Інгібітори синтезу сприяють коренеутворенню.
	Сприяють утворенню бульб, цибулин, клубнецибулин
Етилен	Старіння листя, бруньок.
	Дозрівання плодів
	Сприяння, або гальмування випадкових регенерація (в залежності від часу застосування, або генотипу).

Абсцизини	Дозрівання соматичних ембріонів.
	Полегшення акліматизації.
	Формування цибулин і бульб.
	Сприяння розвитку періоду спокою

МКР після є постасептична адаптація, аклімація, реадаптація. На цьому етапі відбуваються морфолого-анатомічні пристосувальні зміни задля виживання рослин *ex vitro*.

Технологічні завдання: досягти змін метаболізму, водного обміну та анатомічних утворень в рослин, також в окремих технологіях відбувається живцювання в постасептичних умовах завдяки ювенільному стану набутому *in vitro*.

Ювенілізація і культивування рослин в умовах *in vitro* зумовлює необхідність додавання екзогенних гормонів, інших біологічно активних речовин та гетеротрофного живлення, змінюється гормональний баланс об'єкту, який культивується. Це впливає на кількість та активність ферментів, що відбивається на проходженні метаболічних реакцій і, відповідно, морфогенезу і життєдіяльності рослинного організму.

Рослинним об'єктам за більшості технологій МКР властивий міксотрофний спосіб живлення з переважанням гетеротрофного, тобто в основі обміну речовин, синтезу молекул лежить перетворення органічних речовин, а не утворення їх з неорганічних, як це відбувається за виключно автотрофного живлення. Автотрофність *in vitro* (фотосинтез) займає порівняно мізерну частину живлення. У "пробірці" рослини мають меншу кількість хлоропластів, а також в асептичних факторостатичних умовах змінюється, як поглинання водного розчину, так і випаровування води.

Зазнають змін і клітини покривних тканин, їм властиві порівняно тонші оболонки з меншим шаром захисних речовин (кутикула).

Регенеранти зі вказаними біохімічними і морфологічними змінами при перенесенні відразу у відкритий ґрунт, більшість з них загине від стресу, тому між “пробіркою” і “відкритим ґрунтом” рослини *in vitro* культивували в умовах за котрих відбувається цикл пристосувальних змін організму *ex vitro*.

Водообмін: рослини *in vitro* поміщають у “вологі камери” із поступовим зниженням вологості із 100-90 до 60-70%.

Ризогенез: висадка регенерантів проводиться на субстрати, які відповідають за показником рН ботанічному виду. Підбирають субстрати в котрих одночасно забезпечується коренева система, як вологою так киснем. Адже відомо, що життєдіяльність кореня можливо лише в умовах аеробного (кисневого) дихання.

Освітлення: протягом періоду освітлення збільшували від розсіяного до типового для відкритого ґрунту.

Рослини *in vitro* особливо в умовах стресу сприйнятливі до ураження збудниками хвороб та шкідниками, тому проводять ряд профілактичних заходів. Це зокрема, обробка фунгіцидами, передпосадкова стерилізація субстратів, використання субстратів, які унеможливають розвиток патогенів (наприклад, гриби не можуть накопичуватися на перлітовому субстраті).

Дослідження проведені на ремонтантному сорті малини Дельніва ‘Delniwa’ польської селекції. Власник сорту Ніва Ходовла рослин ягідних СП. З О.О. Сорт зареєстрований в Україні – патент №: 200576 від 05.10.2020 р. (Information 2020). Сорт отриманий у результаті схрещування сортів 'Tulameen', 'Polana', 'Heritage' і 'Polka'. Це ранній сорт малини, яка плодоносить на однорічних пагонах, здатний на багатоповторне плодоношення. Ягода конусоподібної форми, привабливого яскраво-червоного кольору, щільна, блискуча. Вона легко відокремлюється від плодоніжки, завдяки чому підвищується продуктивність збору урожаю. Висока якість плодів (Brix 11.3) характеризує сорт, як десертний. Сорту властива висока стійкість, плоди не темніють після збору врожаю і придатні для транспортування на далекі відстані.

Лабораторні дослідження виконані в умовах лабораторії мікроклонального розмноження Інституту картоплярства НААН України, смт. Немішаєво, Бучанського району. Відповідно, до технологічного процесу досліди закладали в чотири етапи: 1) введення в асептичну культуру; 2) мультиплікація; 3) індукція ризогенезу; 4) постасептична адаптація, в т.ч. фотоавтотрофне живцювання.

Стерильну культуру отримували з використанням препарату Бланідас 300 [27]. Культивування рослинних об'єктів *in vitro* (меристеми, пагонові експланти, регенеранти) проводили у скляних ємностях загальним об'ємом 200 мл заповненою на 20% штучним живильним середовищем. Ємності накривали прозорими поліпропіленовими кришками, стійкими до автоклавування. Для культивування використовували класичне MS - за прописом Мурасіге і Скуга [17], а також раніше розроблені і апробовані власні живильні середовища для малини М1 [27], (Рис.5), та для ожини [27, 30]. Хімічний склад живильних середовищ наведено у табл. 2.3. У середовища залежно від схем досліду додавали синтетичні гормони: цитокініни (бензиламінопурин, кінетин); ауксин (індолілмасляну кислоту), як джерело гетеротрофного живлення додали вуглевод- цукрову сахарозу.



Рис.5. Культивування малини *in vitro* в ємностях об'ємом 200 мл

Таблиця 2.3

Склад живильних середовищ

Компонент	Кількість, мг/л		
	MS	M1	MK
NH_4NO_3	1650,0	1250	417
KNO_3	1900,0	1100	367
$\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	370,0	770	257
KH_2PO_4	170,0	970	324
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$	-	440	293
$\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$	440	-	-
$\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	27,80	-	18,54
$\text{Na}_2\text{EDTA} \times 2\text{H}_2\text{O}$	37,30	-	24,7
Ferrilene 4.8 Orto – Orto	-	183,4	-
H_3BO_3	6,2		
$\text{MnSO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$	22,3		
$\text{CoCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$	0,025		
$\text{CuSO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$	0,025		
$\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	8,6		
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$	0,25		
KJ	0,83		
Тіамін-НСl	1,6		
Піридоксин-НСl	0,5		
Вітамін С	2,0		
Нікотинова кислота	1,0		
Мезоінозит	100		
Гліцин	0,5		

Аденін	0,2
Сахароза	30000
Агар	7000
рН 5,6	

Постасептичну адаптацію з одночасним розмноженням проводили фотоавтотрофним методом (рис.6) у біореакторах із сумішю повітря, вуглекислого газу та дистильованої води [27]. Для цього регенеранти *in vitro*, живці *ex vitro* висаджували на перліт, заправлений розчином з наступним складом (в мг/л): NH_4NO_3 -1250; KNO_3 - 1100; KH_2PO_4 - 970; $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ - 770; $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$ - 440; Ferrilene 4.8 Orto – Orto - 183,4; AgNO_3 - 5.

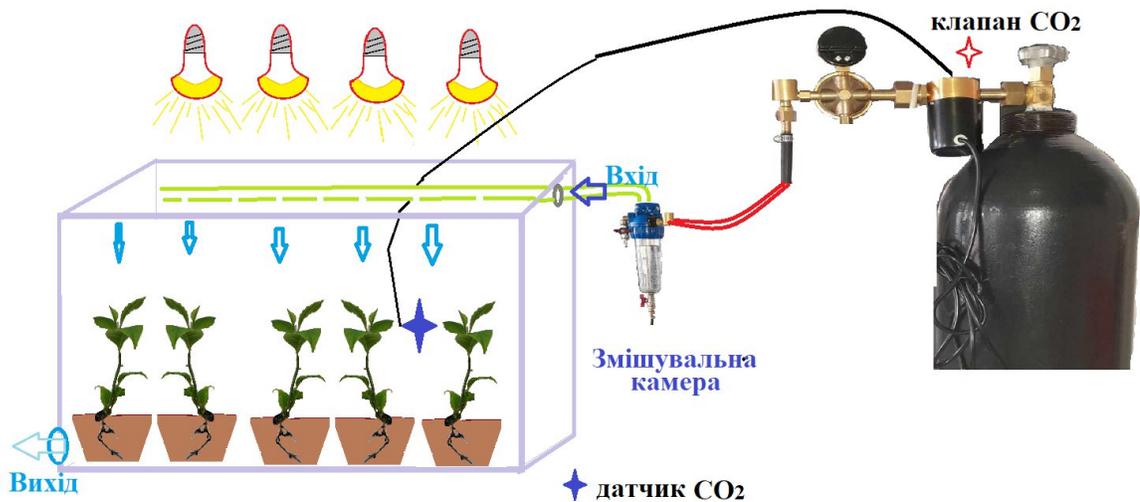


Рис.6. Схема підтримання мікроклімату для фотоавтотрофного живлення[17]

Температура культивування $24 \pm 2^\circ\text{C}$. Фотоперіод 16 годин. Інтенсивність освітлення: *in vitro* 2500 люкс; *ex vitro* 11000 люкс. Вологість: *in vitro* 65-75 %; *ex vitro* спочатку 80-90 % зі зниженням до 60 %.

Кількість повторень у просторі 5, у часі - три. За одне просторове повторення брали одну культуральну ємність (*in vitro*) та одну тепличну касету (*ex vitro*). За повноцінний пагін у конгломераті вважали мікропагін із трьома і більше листками висотою не менше 10 мм.

Дослідження проводили з урахуванням вимог Convention on Biological Diversity [30]. Середні біометричні значення X , їх похибки m були виконано з використанням програмного пакету Statistica 8.0 (StatSoft 2007).

РОЗДІЛ 3. МІКРОКЛОНАЛЬНОГО РОЗМНОЖЕННЯ ПЕВНИХ ВИДІВ РОСЛИН

Технології мікроклонального розмноження можуть бути без культивування меристем на першому етапі [27]. Це прискорює отримання стерильної культури для швидкого асептичного розмноження. Водночас є ризик розмножувати матеріал із латентною інфекцією. Частково це вирішується добором здорових донорів первинних експлантів. Первинними експлантами в таких випадках виступають нездерев'янілі живці, вичлененні з пагону, або бруньки [15]. Такі експланти порівняно з меристемними мають більші розміри та частково сформовані органи, тканини, наприклад, провідні. Нами проведено порівняння термінів отримання первинних регенерантів з різних типів первинних експлантів (меристема, брунька, пагоновий живець) на трьох варіантах живильного середовища (табл. 3.1). Сформованим вважали регенерант висотою понад 30 мм і кількістю міжвузль не менше трьох.

Таблиця 3.1

Тривалість регенерації рослин *in vitro* з різних типів первинних експлантів, діб

Тип експланта	Середовище		
	MS	M1	МК
Меристема	63 ± 7	57 ± 8	61 ± 7
Брунька	39 ± 4	33 ± 5	30 ± 4
Стебловий живець	34 ± 5	32 ± 4	30 ± 4

Різниця у термінах, спричинена впливом середовища на швидкість регенерації *in vitro* з первинних регенерантів, які в подальшому ставали материнськими рослинами, тобто донорами експлантів для живцювання в асептичних умовах, була в межах статистичного відхилення. По усіх трьох варіантах типів експлантів спостерігається тенденція зменшення періоду регенерації на середовищі MS. Суттєву різницю встановлено у термінах регенерації залежно від типу експланта. Найкоротший період при відтворенні рослин *in vitro* з первинних регенерантів встановлено у варіанті із пагоновими експлантами (30–34 діб). Найтриваліший період – у варіанті зі меристемними експлантами (57–63 діб).

Варіант з використанням меристемних експлантів також поступався за таким показником, як «вихід регенерантів з первинних експлантів». З меристемних експлантів отримано 2,3% регенерантів порівняно з 18,4% та 54,3% із бруньок та пагонових експлантів.

3.1. Мигдаль

Мигдаль солодкий, цінна із господарської точки зору горіхоплідна культура. Однак ботаніки її відносять до кісточкових культур роду Слива (*Prunus*), який входить до підродини мигдалеві (*Amygdaloideae*), або сливові (*Prunoideae*) родини розових (*Rosaceae*). Отже, класичні середовища для горіхоплідних, як наприклад, DKW не є вдалим для мигдалю.

Також середовища QL, MS, на яких успішно культивуються представники роду Слива не є оптимальними для мигдалю, який еволюційно походить із регіонів з ґрунтами з не високим умістом елементів живлення зокрема, нітрогену. Натомість мигдаль є типовим кальцієфілом.

Турецькі вчені [Nas M., Read P. (2004). A hypothesis for the development of a defined tissue culture medium of higher plants and micropropagation of hazelnuts.

Scientia Horticulturae. 101(1-2): 189–200.] розробили гіпотезу, що близьким до оптимального є середовище, яке за своїм умістом подібне до умісту сім'ядолей. Згідно, з цією гіпотезою розроблено прописи таких середовищ:

- для мигдалю NAM (Nas Almond Medium);

Для МКР пропонується, як основне модифіковане середовище NAM (табл. 3.2) і як “розвантажувальне” раз через 5-7 пасажів модифіковані середовища QL, або NRM.

Таблиця 3.2

Пропис основного та розвантажувального середовищ для МКР мигдалю.

Компонент	Уміст в 1 л середовища	
	QL _{mod}	NAM _{mod}
NH ₄ NO ₃	400,00	900,00
KNO ₃	1800,00	250,00
KH ₂ PO ₄	270,00	1550,00
MgSO ₄ ×7H ₂ O	360,00	2050,00
Ca(NO ₃) ₂ ×4H ₂ O	833,80	1050,00
CaCl ₂ ×2H ₂ O	–	45,00
FeSO ₄ ×7H ₂ O	27,800	–
Na ₂ ЕДТА×2H ₂ O	37,30	–
Ferrilene 4.8 Orto-Orto	–	114,63
MnSO ₄ ×4H ₂ O	0,76	6,00
H ₃ BO ₃	6,20	11,00
ZnSO ₄ ×7H ₂ O	8,60	11,0
CuSO ₄ ×5H ₂ O	0,025	3,20

$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$	0,25	0,10
$\text{CoCl} \times 6\text{H}_2\text{O}$	0,025	–
KJ	0,08	–
ВАР	1.5 введення, 1,0 мультиплікація і 0,3 ризогенез	
ІВА	0,2 введення, 0,3 мультиплікація і 1.5 ризогенез	
Вітамін В ₁	1,00	
Вітамін В ₆	0,60	
Вітамін РР	1,00	
Вітамін С	3,00	
Мезо-інозитол	100,00	
Гліцин	1,00	
Сахароза	30×10^3	

Особливості приготування маточних розчинів мінеральної частини середовища представлені в таблиці 3.3. Решта розчинів однокомпонентні і готуються за принципом один міліграм в одному мілілітрі (1:1). Для приготування робочого розчину додаються компоненти за таблицею 3.4.

Таблиця 3.3

**Приготування маточних розчинів мінеральної частини середовища
NAM (Nas Almond Medium)**

Компонент		кількість	
		мг/л готового середовища	г/л в 1 л маточного розчину
Макросолі (1:40)			
1	NH ₄ NO ₃	900	36.0
2	KNO ₃	250	10.0
3	KH ₂ PO ₄	1550	62.0
4	MgSO ₄ x7H ₂ O	2050	82.0
Са (1:100)			
1	Ca (NO ₃) ₂ x4H ₂ O	1050	105,00
2	Ca Cl ₂ x2H ₂ O	45	4,5
Мікросолі (1:1000)			
1	H ₃ BO ₃	11.0	11.0
2	CuSO ₄ x5H ₂ O	3.2	3.2
3	MnSO ₄ xH ₂ O	6.0	6.0
4	NaMoO ₄ x2H ₂ O	0.1	0.1
5	ZnSO ₄ x7H ₂ O	11.0	11.0
Хелат заліза			
1	Ferrilene 4.8 Orto-Orto	114,63	9,17

Таблиця 3.4

**Використання маточних розчинів для приготування середовища NAM
(Nas Almond Medium)**

Компонент	На 1 літр	На 4 літри
Макросолі NAM	25,00	100,00
Мікросолі NAM	1,00	4,00
Кальцій NAM	10,00	40,00
Ferrilene 4.8 Orto-Orto	12,5	50,00
B ₁	0,5	2,0
B ₆	0,3	1,2
Нікотинова кислота (PP)	3,0	12,0
Аскорбінова кислота	1,5	6,0
Гліцин (глютамін)	1,0	4,0
Аденін	0,5	2,0
Кінетин	1,0	4,0
БАП *м/р	0,2/0,1	0,8/0,4
ІОК *м/р	0,25/1,0	1,0/4,0
ІМК *м/р	0,25/0,5	1,0/2,0
Інозитол	0,1 г	0,4 г
Агар	7,0г	28,000г
Цукор	30.000	120,000
рН 5,8-6,0		

* скороченню м/р відповідає мультиплікація/ризогенез

1. Для введення в асептичні умови застосовують одну з двох стратегій:

A. Серед маточних рослин за результатами ПЛР діагностики відокремлюють безвірусні донори первинних експлантів бруньок;

В. Із донорів ізолюють меристемні експланти.

2. Мультиплікацію проводять з інтервалами не менше 60 днів. Застосування в якості первинних експлантів *in vitro* призводить до розеточності та гіпергідратації регенерантів. За 3-5 пасажу експланти втрачають морфогенетичний потенціал.

У випадку появи такої патології експланти інколи і патологічні регенеранти переносять на середовище з мінімальним умістом цитокінінів (0,1 мг/л) та зменшеною в 2 рази концентрацією мінеральних елементів.

3. Для індукції ризогенезу змінюють цитокінінауксиновий індекс, згідно збік переважання ауксинів (див. Правило Скуга - Мілера).

4. Адаптацію проводять на субстраті, який складається із кокосового волокна та перліту (1 : 1) в умовах вологої камери.

3.2. Малина

1. Добір рослин-донорів експлантів. Найкращий період для ізоляції експлантів – це пробудження бруньок. За візуальними ознаками, а за потреби інструментальним аналізом, відбирають кущі, вільні від вірусних хвороб. Відібрані рослини відмивають від субстрату, ізолюють шматки пагонів із бруньками та занурюють у розчин системного фунгіциду Превікур Енерджі 840 SL (1 – 2,0 мл на 100 мл дистилляту), (рис.7).



Рис. 7. Меристема малини (Власне фото Гнітецького М.)

Після замочування у фунгіциді об'єкти промивають автоклавованим дистиллятом. Для подальшої стерилізації застосовують свіжий розчин гіпохлориту натрію і дистильованої автоклавованої води у співвідношенні 1:3. Експозиція обробки експлантів становить 20 хв. Потім стерильний рослинний матеріал 2–3 рази промивають в автоклавованому дистилляті до зникнення слідів деконтамінуючого розчину. Після стерилізації та промивання експланти переносять у стерильні чашки Петрі, видаляють відмерлі або зі слідами опіків тканини. Бруньки або меристеми висаджують на поживне модифіковане середовище (табл. 3.5.) з додаванням 2–2,5 мл/л РРМ.

Таблиця 3.5

Живильне середовище для розмноження та вкорінення малини

Компонент	Кількість, мг/л		Компонент	Кількість, мг/л	
	розмн.	укор.		розмн.	укор.
NH_4NO_3	1250	625	$\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	55,6	55,6
KNO_3	1100	550	$\text{Na}_2\text{EDTA} \times 2\text{H}_2\text{O}$	74,6	74,6
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$	440	220	Тіамін-НСІ	1,6	1,6
$\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	770	385	Піридоксин-НСІ	0,5	0,5
KH_2PO_4	970	485	Вітамін С	6,0	6,0
H_3BO_3	6,2	3,6	Нікотинова кислота	1,0	1,0
$\text{MnSO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$	22,3	11,15	Мезоінозит	100	100

CoCl ₂ x6H ₂ O	0,025	0,0125	Гліцин	0,5	0,5
CuSO ₄ xH ₂ O	0,025	0,0125	<i>Аденін</i>	0,2	0,1
ZnSO ₄ x7H ₂ O	8,6	4,3	<i>ІМК</i>	0,1	2,0
Na ₂ MoO ₄ x2H ₂ O	0,25	0,125	Бензиламінопурин	1,5	0,1
KJ	0,83	0,415	Сахароза	30000	10000
			Агар	7000	7000
рН 5,6					

Під час ізолювання меристемних експлантів користуються правилом: бруньку препарують одним інструментом (голка, зйомне лезо ланцента) а відокремлюють іншим. Це зменшує ймовірність потрапляння із соком пошкоджених тканих вірусних часток. Також, ізолюють меристемний купол із одним-два примордіальними листками.

Відмінністю середовища для малини є високий уміст антиоксиданту (аскорбінова кислота), речовин з цитокініноювою активністю (бензиламінопурину і аденіну) та заліза.

У разі застосування замість FeSO₄x7H₂O + Na₂ЕДТАx2H₂O препарату *Ferrilene 4.8 Orto* – Orto його додають 183,4 мг/л.

Для деконтамінації у живильне середовище додають 2,5 мл/л біоциду РРМ, вміст агару зменшують до 6,5 г/л. Експланти повністю занурюють у живильне середовище. Це роблять для кращого контакту рослинних тканин із РРМ. Через 2–3 тижні деконтаміновані об'єкти висаджують у живильне середовище, але щоб брунька знаходилася на поверхні середовища.

2. Розмноження, нарощування необхідної кількості рослинного матеріалу *in vitro*. Для розмноження використовують середовище з умістом компонентів, представлених у таблиці 3.5. Його готують із маточних розчинів аналогічно протоколам по хості.

Таблиця 3.6

**Об'єми маточних розчинів для приготування середовищ у мл
(варіант для розмноження)**

№ п/п	Інгредієнт середовища	Кількість (мл) у розрахунку на		
		1 л	3 л	6 л
1	Макросолі	25	75	150
2	Мікросолі	1	3	6
3	Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	10	30	60
4	Fe-хелат або <i>Ferrilene 4.8 Orto – Orto</i>	50	150	300
5	Вітамін В ₁ (тіамін)	1,6	3,2	9,6
6	Вітамін В ₆ (піридоксин)	1,0	3,0	6,0
7	Вітамін С (аскорбінова кислота)	6,0	18,0	36,0
8	Нікотинова кислота	1,0	3,0	6,0
9	Гліцин	0,5	1,5	3,0
10	Інозитол	10	30	60
11	Аденін (1:1)	2,0	6,0	12,0
12	Бензиламінопурин (1:1)	1,5	4,5	9,0
13	Індолілмасляна кислота (1: 1)	0,1	0,3	0,6

Живцювання проводять шляхом поділу конгломерату пагонів (рис. 8). Для отримання конгломератів уміст БАП збільшують, а для отримання регенерантів із одним пагоном – зменшують.

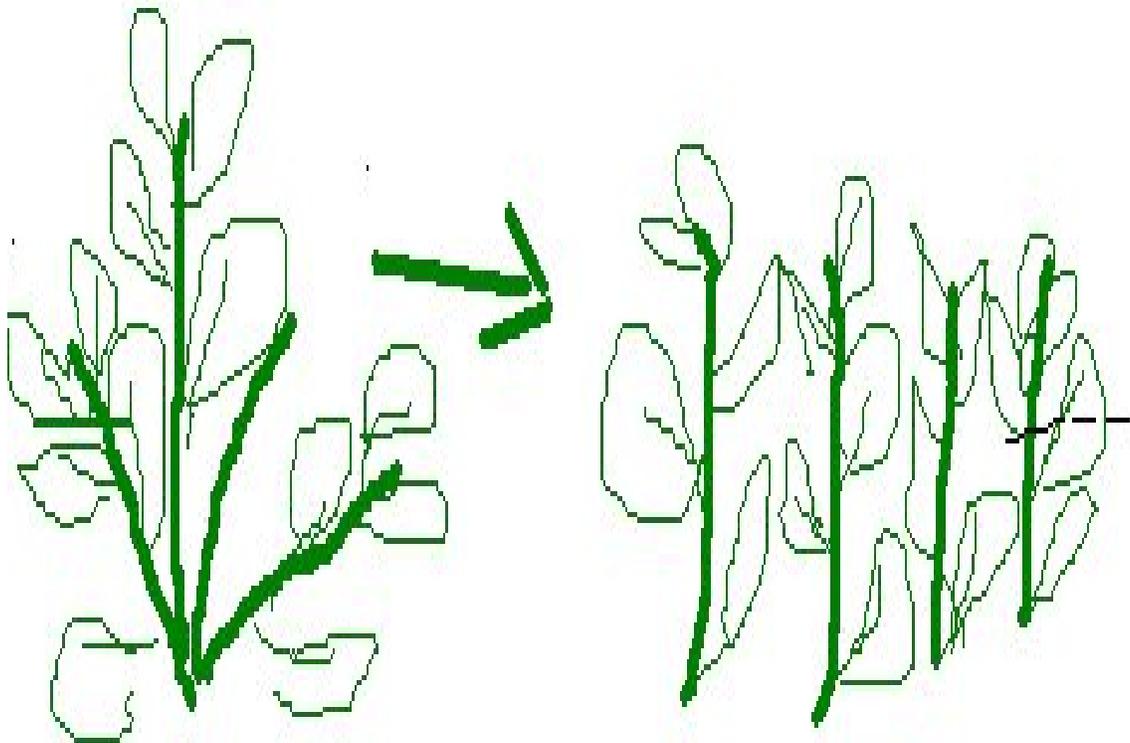


Рис. 8. Спосіб живцювання малини *in vitro* [17].

2. Укорінення проводять *in vitro*. Для цього змінюють середовище, зменшуючи уміст мінеральної частини та цитокінінів.

Таблиця 3.8

**Об'єми маточних розчинів для приготування середовищ у мл
(варіант для укорінення)**

№ п/п	Інгредієнт середовища (маточний розчин)	Кількість (мл) у розрахунку на		
		1 л	3 л	6 л
1	Макросолі	12,5	37,5	75
2	Мікросолі	0,5	1,5	3
3	Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	5	15	30
4	Fe-хелат або <i>Ferrilene 4.8 Orto-Orto</i>	50	150	300
5	Вітамін В ₁ (тіамін)	1,6	3,2	9,6
6	Вітамін В ₆ (піридоксин)	1,0	3,0	6,0
7	Вітамін С (аскорбінова кислота)	6,0	18,0	36,0
8	Нікотинова кислота	1,0	3,0	6,0
9	Гліцин	0,5	1,5	3,0
10	Інозитол	10	30	60
11	Аденін (1:1)	0,5	1,5	3,0
12	Бензиламінопурін (1:1)	1,0	3,0	6,0
13	Індолілмасляна кислота (1: 1)	2,0	6,0	12,0

Постасептична адаптація регенерантів віком не менше 35–45 діб проходить у парниках за умов вологій камери із туманоутворювачем.

Для збереження рослин від сонячних опіків та втрат вологи касети із розсадою перші два тижні постасептичного культивування висаджують у прозорі контейнери, кришки яких поступово відкривають. Як субстрат використовують перліт, преліт-вермикулітну суміш або торф із рН близько до 6,0. У перші періоди слідкують за появою мікрофлори, яка може знищити ніжні рослини. За перших ознак інфікування грибною інфекцією розсаду обробляють фунгіцидами (Превікур Енерджі 840 SL).

За 1,5 місяці розсада формує 5–7 листків і стає придатною до висадки у відкритий ґрунт. Завдяки ювенілізації *in vitro* адаптовані регенеранти здатні до 1–2 живцювань, але вже в умовах закритого ґрунту. Це дозволяє знизити собівартість посадкового матеріалу.

Також за незначної кількості регенерантів *in vitro* успішним є їх живцювання. Укорінення таких живців відбувається одночасно із адаптацією (рис. 9, рис. 10) на перлітовому субстраті у вологій камері.



регенеранти після 30 днів адаптації



регенерант після 45 днів адаптації

регенерант після
постасептичного живцювання

Рис.9. Адаптовані регенеранти малини, сорт Дельніва 'Delniwa'
(Власне фото Гнітецького М.)

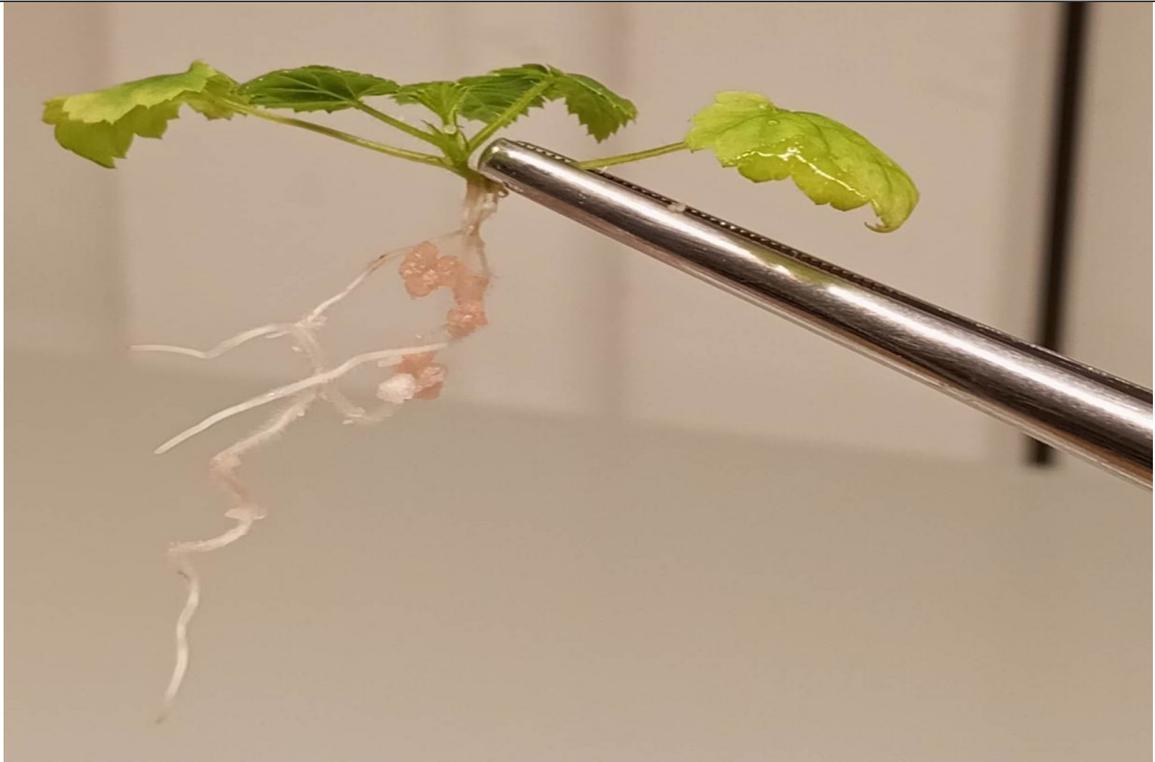


Рис. 10. Укорінення живців малини *in vitro* на перлітовому субстраті (Власне фото Гнітецького М.)

3.3. Ожина

1. Добір рослин-донорів експлантів та введення в асептичні умови проводять аналогічно порядку дій на малині.

2. Розмноження, нарощування необхідної кількості рослинного матеріалу *in vitro*. Для розмноження використовують середовище із вмістом компонентів, представлених у таблиці 3.9.

Для приготування середовища застосовують заздалегідь приготовлені маточні розчини аналогічно описаним у протоколі для хости (підрозділ 1 частини три). Проте у разі використання замість Fe-хелату препарату *Ferrilene 4.8* Orto-Orto його додають у концентрації 91,7 мг/л. У середовище додають маточні розчини згідно з таблицею 3.9

Таблиця 3.9

Живильне середовище для розмноження та вкорінення ожини

Компонент	Кількість, мг/л		Компонент	Кількість, мг/л	
	розмн.	укор.		розмн.	укор.
NH ₄ NO ₃	1250	1250	<i>Ferrilene 4.8</i> Orto-Orto	137,55	-
KNO ₃	1100	1100	AgNO ₃	1,0	1,0
Ca(NO ₃) ₂ x4 H ₂ O	440	440	Тіамін-НCl	1,0	1,0
MgSO ₄ x7H ₂ O	770	770	Піридоксин-НCl	0,5	0,5
KH ₂ PO ₄	970	970	Вітамін С	1,6	1,6
H ₃ BO ₃	6,2	6,2	Нікотинова к-та	1,0	1,0
MnSO ₄ xH ₂ O	22,3	22,3	Мезоінозит	100	100
CoCl ₂ x6H ₂ O	0,025	0,025	Гліцин	0,5	0,5
CuSO ₄ xH ₂ O	0,025	0,025	<i>Аденін</i>	0,2	0,1
ZnSO ₄ x7H ₂ O	8,6	8,6	<i>ІМК</i>	0,1	4,0
Na ₂ MoO ₄ x2H ₂ O	0,25	0,25	БАП	0,5	0,2
КJ	0,83	0,83	Сахароза	30000	10000
FeSO ₄ x7H ₂ O	-	27,8	Агар	7000	7000
Na ₂ ЕДТАx2H ₂ O	-	37,3	Активоване вугілля	-	1000
pH 5,6					

Таблиця 3.10

Об'єми маточних розчинів для приготування середовищ у мл
(варіант для розмноження)

№ п/п	Інгредієнт середовища	Кількість (мл) у розрахунку на		
		1 л	3 л	6 л
1	Макросолі	25	75	150
2	Мікросолі	1	3	6
3	Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	10	30	60
4	Fe-хелат, або <i>Ferrilene 4.8 Orto-Orto</i>	35	105	210
5	Вітамін В ₁ (тіамін)	1,6	3,2	9,6
6	Вітамін В ₆ (піридоксин)	1,0	3,0	6,0
7	Вітамін С (аскорбінова кислота)	3,0	9,0	18,0
8	Нікотинова кислота	1,0	3,0	6,0
9	Гліцин	0,5	1,5	3,0
10	Інозитол	10	30	60
11	Аденін (1:1)	1	3	6
12	Бензиламінопурин (1:1)	0,5	1,5	3,0
13	Індолілмасляна кислота (1: 1)	1	3	6
14	Нітрат срібла	1,5	4,5	9,0
15	Активоване вугілля, г	-	-	-

Живцювання проводять одним із двох способів: 1) поділом стебла на одно-двовузлові живці; 2) поділом конгломерату пагонів. Для отримання конгломератів уміст БАП збільшують, а для отримання регенерантів із одним пагоном – зменшують.

III. Укорінення проводять *in vitro*. Для цього змінюють уміст гормонів: зменшують вміст БАП із 0,5 до 0,1 мг/л та збільшують вміст ІМК із 0,1 до 1,0–2,0 мг/л. Якщо є загроза переростання розсади більше розмірів культуральних ємностей унаслідок тривалого періоду культивування (більше 45–60 діб), уміст мінеральної частини (окрім хелату заліза, концентрацію якого не змінюють) зменшують удвічі.

4. Постасептичну адаптацію проводять у два етапи:

А. Способом фотоавтотрофного мікроклонального розмноження. Для цього вихідні материнські рослини живцюють на перліт-вермикулітний субстрат. Живлення забезпечують розчином мінеральних речовин за Мурасіге-Скугом. Боротьбу з бактеріями проводять додаванням нітратного срібла до розчину, а з грибною інфекцією – обприскуванням раз у п'ять діб розчином фунгіциду Превікур Енерджі.

Б. Після культивування фотоавтотрофним способом подальшу адаптацію проводять у парниках за умов вологої камери. Для збереження рослин від сонячних опіків та втрат вологи розсаду перші два тижні постасептичного культивування вкривають агроволокном.

У якості субстрату використовують LafloraKKS-1 або подібні за характеристиками на основі фрезерного торфу із рН близько 6,0. У перші періоди слідкують за появою мікрофлори, яка може знищити ніжні рослини.

При появі перших ознак інфікування розсаду обробляють фунгіцидами. За 2–3 місяці розсада формує 5–7 листків і стає придатною до висадки у відкритий ґрунт або горщики об'ємом 0,8–2 л (рис.9).



Рис. 9.Адаптовані регенеранти ожини в Р9

ВИСНОВКИ

При переході рослинних об'єктів на етапах *in vivo* – *in vitro* – *ex vitro* – *in vivo* за наявності індукуючих умов відбуваються процеси ювенілізації та реювенілізації. Це залежить від способів живлення (міксотрофне, гетеротрофне, чи мікотрофне) та компонентів живильного середовища.

За культивування *in vitro* мигдалю, ожини, малини відмічений вплив концентрації елементів живлення, наявності ІМК та активованого вугілля, консистенції середовища на форму, величину листків.

Зниження концентрації мінеральних елементів середовища Мурасіге і Скуга вдвічі спричиняло зменшення кількості листків, вкорочення та округлення листової пластинки, зменшення довжини та товщини черешка. Додавання в середовище ІМК (4 мг/л) обумовлювало подовження черенка.

Використання активованого вугілля обумовило вкорочення листової пластинки, але розміри листків збільшувались. Зниження рівня живлення також призводило до строкатості листків, а додавання ауксину дещо нівелювало це явище. Достатнє автотрофне живлення (концентрація сахарози 2-4 %) регенерантів малини, ожини, мигдалю позитивно вплинуло на кількість листків, пагонів. Збільшення її концентрації до 5- 6 % негативно відбилося на розвитку рослин.

Виявлено, що введення вихідних для живцювання рослин у стані спокою спричинило потовщення пагона в прикорневій зоні, всихання листків. Після пробудження розвиток листків був типовим для нативних умов.

Кращими поживними середовищами для формування кореневища в умовах, що передували *in vitro*, були Куарин і Лапуа, які збільшили довжину кореневої системи рослини-регенеранта на 6,9%, кількість яких склала 46%, чому також сприяло застосування активованого вугілля в кількості 0,5-2,5 г/л.

ПРОПОЗИЦІЇ

1. З точки зору висоти рослини, було встановлено, що для приживлення *in vitro* найкраще підходить 20-денний регенеруючий агент, а для приживлення *in vitro* - 30-денний регенеруючий агент.
2. Доведено, що живцювання рослин *ex vitro* слід проводити перед першим або третім розмноженням, а для кращого розвитку рослини рекомендується удобрювати сумішшю солі $\text{KN}_2\text{P}_04 + \text{MdSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, а також $\text{Rrrileme4.80rt-Oro}$.
3. Оптимальним для адаптації після стерилізації є використання рослин в період спокою, що було досягнуто зниженням відносної вологості з 70-75% до +30-35 і температури з +22-24°C до 6-8 протягом 60 днів.

СПИСКИ ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Mohammadi, M. A., Wai, M. H., Rizwan, H. M., et al. “Advances in micropropagation, somatic embryogenesis, somatic hybridizations, genetic transformation and cryopreservation for *Passiflora* improvement.” *Plant Methods*, 19, 50 (2023). DOI: 10.1186/s13007-023-01030-0
2. Kulus, D., Tymoszuk, A. “Advancements in In Vitro Technology: A Comprehensive Exploration of Micropropagated Plants.” *Horticulturae*, 10(1), 88 (2024). DOI: 10.3390/horticulturae10010088
3. Bettoni, J. C., Wang, M.-R., Wang, Q.-C. “In Vitro Regeneration, Micropropagation and Germplasm Conservation of Horticultural Plants.” *Horticulturae*, 10(1), 45 (2024). DOI: 10.3390/horticulturae10010045 MDPI
4. Muguerza, M. B., Gondo, T., Ishigaki, G., Shimamoto, Y., Umami, N., Nitthaisong, P., Rahman, M. M., Akashi, R. “Tissue Culture and Somatic Embryogenesis in Warm-Season Grasses -Current Status and Its Applications: A Review.” *Plants*, 11, 1263 (2022). DOI: 10.3390/plants11091263 MDPI
5. Martínez, M. T., Sánchez-Rodríguez, E. “Recent Advances in Plant Somatic Embryogenesis.” *Plants (PMC)*, (2024). DOI: 10.3390/
6. Meucci, A., et al. “Micropropagation via somatic embryogenesis of *Iris pallida* ecotypes.” *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, (2024). DOI: 10.1007/s11240-024-02818-1
7. Omar, R., et al. “Induction of somatic embryogenesis and ectopic morphogenesis in [рослина]” *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant*, (2024). DOI: 10.1007/s11627-024-10421-4 SpringerLink
8. Castro-Camba, R., et al. “A low-cost culture media for woody plants micropropagation.” *Journal of Forest Science*, 69(9), 377–388 (2023). DOI: 10.17221/56/2023

9. Campos-Boza, S., et al. “Somatic embryogenesis and plant regeneration from *Bactris gasipaes* (peach palm) via thin cell layer explants.” *Frontiers in Plant Science*, (2022). DOI: 10.3389/fpls.2022.995307
10. Palaz, E. B., Adalı, S., Yılmaz, A. “Pioneering in vitro micropropagation of sumac (*Rhus coriaria* L.) using a temporary immersion bioreactor system.” *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant*, (2025). DOI: 10.1007/s11627-025-10534-4
11. Singh, R. K., et al. “Applications in In Vitro Plant Conservation and Micropropagation for Rare and Endangered Species.” *Horticulturae*, 11(4), 358 (2025). DOI:10.3390/horticulturae11040358
12. Kyienko, Z. B., Kimeichuk, I. V., Matskevych, V. V. “Micropropagation of plants of the genus *Actinidia* Lindl.” *Plant Varieties Studying and Protection*, 18(3), 220–229 (2022). DOI: 10.21498/2518-1017.18.3.2022.269022
13. Altınay Kukusheva, Bakhyt Tuganova (2025). “Control of Contamination of Tissue Plant Cultures During in vitro Micropropagation.” *Open Journal of Bioscience*, 5(3), 333–342
14. Delgado-Aceves, M. L., et al. “Indirect somatic embryogenesis of *Agave maximiliana*” *Frontiers in Plant Science*, (2025). DOI: 10.3389/fpls.2025.1648362
15. Filipova L, Matskevych V, Karpuk L, Andriievsky V, Vrublevsky A, Pavlichenko A Features of paulownia plants post-septic adaptation. Abstract is apart of Multidisciplinary Conference for Young Researchers held in Bila Tserkva on 22nd November 2019 within the framework of the project Support of young university capacity in education and research and science activities in Ukraine (2019), financed by Czech Republic Development Cooperation. P. 50-53.
16. <https://uk.wikipedia.org/wiki//Аклімація>
17. <https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/2669/aklimatizaciya-roslin>

18. Mitrofanova I. Physiological and biochemical features of some cultivars in essential oil rose (*Rosa damascena* Mill.) growing *in situ* and *in vitro*. *International Journal of PharmTech Research* (2020), 9(7). P. 226-232.
19. Moreira M. F., Appezzato-Gloria B., Zaidan L. B. P. Anatomical aspects of IBA-treated microcuttings of *Gamphera macrocephala* St.-Hil. *Braz. Arch. Biol. And Technol.* (2020), 43. P. 37-49.
20. Буюн Л. І. Адаптивні зміни поверхні листка *Cattleya gaskelliana*. *J. Modern Phytomorphology*, (2023), с.293 - 296.
21. Гнітецький М.О., Любиченко В.О., Кравченко Н.В. Мікроклональне розмноження рослин. Матеріали III Всеукраїнської науково-практичної конференції «Сучасні проблеми гірництва та будівництва» 20 листопада 2025 року, «Житомирська політехніка», Житомир. (2025) С.150-152.
22. Калінін Ф.Л., Кушнір Г. П., Сарнацька В. В. Технологія мікроклонального розмноження рослин. Київ: Наукова думка (2022), 232 с.
23. Ковалевський С. Б., Білоус С. Ю., Ліханов А. Ф. Культура *Populus tremula* L. Київ: Прінтеко, (2020), 187 с.
24. Кравченко Н.В., Подгаєцький А.А., Гнітецький М.О., Токмань О.М., Бондус Р.О. Ефективність мікроклонального розмноження рослин в умовах *in vitro* «*Miscanthus sinensis*». Матеріали III Міжнародної науково - практичної конференції « Проблеми та досягнення сучасної біотехнології » (2023), Харків, 24 березня 2023 р., с.230-234.
25. Кравченко Н.В., Подгаєцький А.А., Масік К.А., Лупійко М.М. Ефективність оздоровлення сортів картоплі в культурі *in vitro*. «Гончарівські читання»: Матеріали Міжнародної науково-практичної конференції, присвяченої 94-річчю з дня народження доктора сільськогосподарських наук, професора Гончарова Миколи Дем'яновича (25 травня 2023 р.), Суми, 2023, С.143-145
26. Кравченко Н. В., Молоданович Я. О, Гнітецький М.О. Особливості мікроклонального розмноження малини XII Міжнародна науково-

- практична конференція «Youth, education and science through today's challenges», 04-06 грудня 2023 р., Бордо, Франція с.78-83
27. Кушнір Г. П., Сарнацька В. В. Мікроклональне розмноження рослин. Київ: Наукова думка, (2020), 271 с.
28. Мацкевич В. В. Мікроклональне розмноження рослин: введення в культуру. Гончарівські читання. Матеріали міжнародної науково-практичної конференції 25-26 травня 2020 р., Суми, Сумський національний аграрний університет, (2020), С. 31-38
29. Мацкевич В.В., Подгаєцький А.А., Філіпова Л.М. (2020). Мікроклональне розмноження окремих видів рослин (протоколи технологій): науково-практичний посібник, с.220.
30. Подгаєцький А.А., Гнітецький М.О., Яценко А.С. (2024). Ефективність мікроклонального розмноження рослин. Матеріали Всеукраїнської наукової конференції студентів та аспірантів, присвяченої Міжнародному дню студента 18-24 листопада 2024 року, м.Суми, с.52.
31. Мацкевич В.В., Філіпова Л.М., Кравченко Н.В., Мацкевич Ю.В. (2023). Біотехнологічні методи екологізації технологій вирощування суниці. ТМ Тевітта. с.230.
32. Мацкевич В.В., Кравченко Н.В., Подгаєцький А.А., Гнітецький М.О., Мацкевич О.В., Шита О.П. (2023) Мікроклональне розмноження рослин (навчально - методичний посіб.), Суми, ВВП « Мрія ».с.215.
33. Мацкевич В.В. Дибя Р.Д., Філіпова Л.М. Особливості введення *in vitro* *Agapanthus umbellatus*. Новітні технології в рослинництві. Тези доповідей державної науково-практичної конференції Біла Церква, 2023. С. 4. 7.
34. Мацкевич В.В., Філіпова Л.М. Застосування цитокінінів за мікроклонального розмноження ягідних культур. Новітні технології в рослинництві. Тези доповідей державної науково-практичної конференції

молодих вчених, аспірантів та докторантів 14-15 травня 2020 (БНАУ, м. Біла Церква). С. 8-9.

35. Мацкевич В.В., Філіпова Л.М. Розробка технології одержання кореневласних саджанців вітчизняних сортів персика Сучасні проблеми ведення сільського господарства та підготовки фахівців аграрного профілю. Матеріали Міжнародної науково-практичної конференції 15 лютого 2020, Біла Церква, БНАУ. С. 16-17.
36. Мацкевич В.В., Філіпова Л.М., Мацкевич О.В. Удосконалення технології мікроклонального розмноження *Prunus pérsica* на етапі введення в асептичну культуру. Сучасні агробіотехнології та землеустрій в Україні. Матеріали державної науково-практичної конференції. 23 листопада 2020 року. Біла Церква. 2020. С. 21-23.
37. Подгаєцький А. А., Мацкевич В. В., Філіпова Л. М., Кравченко Н. В. «Проблеми постасептичної адаптації рослин». Матеріали VII Міжнародна науково- практична конференція “Dynamics of the development of word Science». 18-20 марта 2020. Wankuwer, Kanada (2020). С. 662-665.
38. Подгаєцький А.А., Мацкевич В. В., Подгаєцький А. Ан. Особливості мікроклонального розмноження видів рослин: монографія. Біла Церква: БНАУ, (2018). 209 с.
39. Філіпова Л.М., Мацкевич В.В. Протокол мікроклонального розмноження аличі, сливи, персика та підщепи персика. Матеріали III Міжнародної науково - практичної конференції: «Актуальні проблеми озеленення населених місць: освіта, наука, виробництво, мистецтво формування ландшафту» Біла Церква. 2020. С. 141-142.

ДОДАТКИ



III Міжнародна науково-практична
інтернет-конференція

ПРОБЛЕМИ ТА ДОСЯГНЕННЯ СУЧАСНОЇ БІОТЕХНОЛОГІЇ

24 березня 2023 р.
м. Харків, Україна

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
КАФЕДРА БІОТЕХНОЛОГІЇ**

**MINISTRY OF HEALTH OF UKRAINE
NATIONAL UNIVERSITY OF PHARMACY
DEPARTMENT OF BIOTECHNOLOGY**

**ПРОБЛЕМИ ТА ДОСЯГНЕННЯ
СУЧАСНОЇ БІОТЕХНОЛОГІЇ**

**PROBLEMS AND ACHIEVEMENTS
OF MODERN BIOTECHNOLOGY**

**Матеріали
III міжнародної науково-практичної
Інтернет-конференції**

**Materials
of the III International Scientific and Practical
Internet Conference**

**ХАРКІВ
KHARKIV
2023**

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
КАФЕДРА БІОТЕХНОЛОГІЇ

**ПРОБЛЕМИ ТА ДОСЯГНЕННЯ
СУЧАСНОЇ БІОТЕХНОЛОГІЇ**

**Матеріали
III міжнародної науково-практичної
Інтернет-конференції**

**24 березня 2023 року
Харків**

Постасептична адаптація павловнії

¹Кравченко Н.В., ¹Подгасєцький А.А., ¹Гнітецький М.О.,

¹Любиченко В.О., ²Мацкевич В.В.

¹Кафедра біотехнології та фітофармакології Сумського національного аграрного університету, м. Суми, Україна

²Кафедра лісового господарства Білоцерківського національного аграрного університету, м. Біла церква, Україна
kravchenko_5@ukr.net

Вступ. Життя рослин суттєво відрізняється від інших організмів на планеті тим, що воно нездатне змінювати своє середовище існування. У зв'язку з цим еволюція створила два механізми, за допомогою яких рослини знаходять свою нішу в боротьбі за виживання, а саме – це здатність рекомбінувати генетичні фактори через процеси гібридизації та мутації, а також здатність пристосовуватися до мінливих зовнішніх умов.

Ціль роботи. Гібридизація викликає зміни в генетиці нащадків, ідея із новоутворених форм мають характеристики, що дозволяють їм протистояти тиску несприятливого середовища. В основі адаптації лежить виникнення процесів, які дозволяють рослинам пристосуватися до життя в зміненому середовищі. Адаптація проявляється через два різних явища: функціональну мінливість і з адаптацію, або преадаптацію. Перша зумовлена появою ознак, які сприяють виживанню та розмноженню організму, а друга пов'язана з використанням попередніх функцій та вирішенням нових завдань в умовах специфічних змін.

Матеріали і методи. Проводили досліди з павловнією. Дослідження виконували, починаючи згідно із загально-прийнятими методиками. Мета - оптимізація технологічного процесу культивування видів рослин *in vitro*, *ex vitro*. Методи: фізіолого-технологічний – розроблення протоколів складових етапів біотехнологій мультиплікації і адаптації рослин *in vitro*; математично-статистичний аналіз для обґрунтування кількісної оцінки отриманих експериментальних даних.

Результати і обговорення. Існує кілька варіантів процесу адаптації. Перший - підвищене пристосування організму до нового середовища. Другий - первинне використання ознаки для нової функції, що передбачає добір за новою ознакою. Третій - корелятивний добір, поява двох або більше ознак замість однієї. Це може значно розширити адаптивні властивості організму.

Наукові розробки в галузі культури клітин і тканин створили умови для масового поширення нових видів рослин у сучасному розсадництві. Наукові розробки в галузі мікророзмноження (МР) набувають масштабного комерційного поширення. Завершальним етапом мікророзмноження є адаптація регенерованих рослин, вирощених у стерильних умовах *in vitro*, до нестерильних умов *in vivo*.

Вчені ще не мають універсального визначення процесу адаптації до нових умов, прийняттого для всіх фізіологів і біотехнологів. Цей етап називають реадаптацією *in vitro* або постадаптацією (Подгаєцький А.А., Мацкевич В.В., Подгаєцький А.Ан., 2018; Зеленянська Н.М., 2012). На нашу думку, ці терміни є тотожними і включають в себе ряд процесів і заходів, спрямованих на відновлення втрачених або ослаблених реакцій, анатомічних і морфологічних особливостей рослин, вирощених *in vitro*, і сприяють їх адаптації до умов *in vitro* (після стерильних умов).

У нових умовах штучного культивування *in vitro* рослини змінюють свою анатоμο-морфологічну структуру, фізіологічні та біохімічні процеси, що зумовлює необхідність адаптації на етапі *in vitro-in vivo*.

Універсальність рослинних клітин і тканин є передумовою успішного застосування мікроклональних методів розмноження рослин. Однак на етапах введення в стерильні умови, розмноження, ризогенезу та постстерильної адаптації завжди виникають фізіологічні та технічні проблеми, які потребують системного аналізу цього технологічного процесу (Медведєва Т.В., 2008).

Особливо важливим на першому етапі, який включає добір донорів і створення стерильної культури, є знезараження трансплантатів і застосування заходів щодо адаптації рослинного організму до умов *in vitro*. На другому етапі

відбувається власне прискорене розмноження для досягнення максимально можливого коефіцієнта росту протягом тривалого періоду часу без втрат пагонів. На третьому етапі рослини технічно готують *in vitro* для успішного розмноження *in vivo*. На четвертому етапі рослини пересаджують у відкритий ґрунт, використовуючи всі можливі методи для підвищення адаптаційної здатності рослин після епідемії.

Методи переходу від змішаних гетеротрофних умов до автотрофних та адаптації стерильного матеріалу потребують вдосконалення, тому важливим є систематичне вивчення особливостей етапів мікроклонального розмноження біологічно різних видів рослин, у тому числі інтродукованих в Україні, та подальша розробка комплексу насінневих технологій для їх успішного поширення (Косаківська І.В., Голов'янюк В.В., 2006; Irina Mitrofanova, 2016).

Живлення павловнії *ex vitro* проводили так: до субстрату додавали мінеральну частину модифікованої формули за Мурасіге та Скугом. Однак потреби в поживних речовинах у рослин, що регенерують, змінюються на різних етапах адаптації. Тому було проведено порівняння між різними варіантами поживних розчинів, що містили макросолі та різні хелатні форми заліза.

Поживні розчини, згадані вище, виявилися хорошим вибором для додавання в субстрат під час висаджування *ex vitro* і перших живців після сезону. Наступні живці утворювали рослини-регенеранти, які потребували більшої кількості поживних речовин. Це було візуально продемонстровано, де якими симптомами дефіциту мінеральних поживних речовин.

У зв'язку з цим було запропоновано використовувати вдвічі більшу кількість мінеральних поживних речовин окремо: NH_4NO_3 , KNO_3 , KN_2PO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ та два різних добрива: $\text{KN}_2\text{PO}_4 + \text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$.

Розміри пагонів і кореневої системи дослідного варіанту та контролю відрізнялися один від одного (табл. 1).

Лише кількість розвинених міжвузлів залишалася майже однаковою. Підвищений вміст азоту сприяв формуванню найвищих рослин-регенерантів.

Однак вони поступалися рослинам інших сортів за формуванням кореневої системи. Найбільші кореневі системи були виявлені у варіантах з подвоєною кількістю KN_2RO_4 , або $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$. Ці рослини мали візуально більші листки та більші листкові пластинки. Останнє також відрізняло ці сорти через більш розвинену кореневу систему.

Таблиця 1. Розвиток регенерантів павловнії на перліті із різним вмістом макросолей в живильному розчині

Варіант	Висота рослини, мм	Кількість міжвузль, шт.	Кількість коренів, шт.	Довжина кореневої системи, мм
Контроль	32±3	3,6±0,2	6,1±0,2	57±3
Подвійна кількість NH_4NO_3	84±5	3,9±0,3	3,7±0,1	41±3
Подвійна кількість KNO_3	77±4	4,0±0,2	5,8±0,3	55±4
Подвійна кількість KH_2PO_4	59±5	3,9±0,2	7,2±0,2	63±5
Подвійна кількість $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	63±4	3,7±0,1	7,4±0,4	76±4
Підживлення $\text{KH}_2\text{PO}_4 + \text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	86	4,2	7,3	78

Додавання KN_2RO_4 або $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ до основного розчину під час висаджування та підживлення об'єктів у касетах викликало невеликі відмінності між рослинами протягом перших 5-10 днів вирощування. Однак згодом спостерігалися ознаки дефіциту кальцію, особливо з 15 дня після підживлення. Як наслідок, на старих листках з'явився некроз і вони дефоліювали.

Враховуючи ці явища, що спостерігалися в рості павловнії, було випробувано синтезований розчин, який використовувався під час посадки, що дозволило проводити контроль і підживлення з концентрацією KN_2RO_4 або $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ 0,5. А саме, в субстрат вносили поживні розчини макросолей наступного складу (мг/л): NH_4NO_3 - 1250; KNO_3 - 1100; KN_2RO_4 - 970; $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ - 770; а підживлення проводили KN_2PO_4 - 970; $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ - 770.

Такий спосіб забезпечення рослин поживними речовинами покращив регенерацію рослин павловнії *ex vitro* та дозволив уникнути проблем, пов'язаних із засвоєнням кальцію.

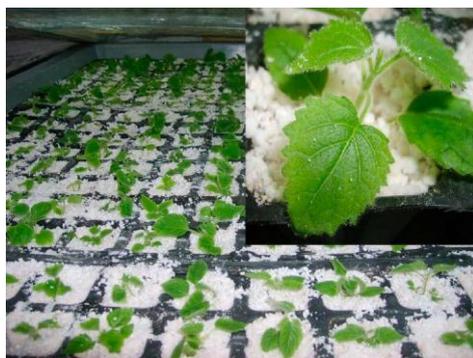


Рисунок 1– Висадка павловнії *in vitro* у перліт.

1. Установлено, що кращими для приживлення *ex vitro* були 20-денні регенеранти, а з точки зору висоти рослин – 30-денні.
2. Доведено, що живцювання *ex vitro* павловнії слід проводити до першого-третього розмноження, а для кращого розвитку рослини доцільно проводити підживлення сумішшю солей $\text{KH}_2\text{PO}_4 + \text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, а також Perrileme 4.8 Orto – Orto.
3. Оптимальним для постасептичної адаптації було використання рослин в період спокою, що досягалось зниженням вологості з 70-75 % до 30-35 % і температури з 22-24 °C до 6-8 °C впродовж 60 діб.

Висновки. У даній роботі ми зосередились на аналізі та результатах експериментів, нами розроблені елементи технології, що підтверджують потенціал мікроклонального розмноження павловнії в Україні.

Визначено вплив фітогормонів, активованого вугілля та складу живильного середовища на ризобіогенез та оптимізовано посткислотні маніпуляції на етапі *in vitro-ex vitro*.

Компонентна збалансованість майонезу – запорука високої якості

Криськова Л.П., Покотило О.С.

Кафедра харчової біотехнології і хімії Тернопільського національного технічного університету імені Івана Пулюя, Тернопіль, Україна

lora.deret@gmail.com

Майонез є одним із поширених та перспективних продуктів харчування. Це зумовлено тим, що у складі цього продукту є високий відсоток олії, яка легко засвоюється організмом. Проте, на сьогоднішній час ринок та сам



МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ
ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ

НАЦІОНАЛЬНИЙ
ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ

КАФЕДРА БІОТЕХНОЛОГІЇ

СЕРТИФІКАТ

учасника
№161

Цим засвідчується, що

Гнітецький М. О.

брав(ла) участь у роботі III Міжнародної
науково-практичної інтернет-конференції

**«ПРОБЛЕМИ ТА ДОСЯГНЕННЯ
СУЧАСНОЇ БІОТЕХНОЛОГІЇ»**

(тривалість - 8 год)

24 березня 2023 р., м. Харків, Україна

В.о. ректора НФаУ
д. фарм. н., проф.

Проректор з НГП
д. фарм. н., проф.

Завідувачка кафедри
біотехнології НФаУ,
д. фарм. н., проф.



Алла КОТВИЦЬКА

Інна ВЛАДИМИРОВА

Наталя ХОХЛЕНКОВА

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
СУМСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

**МАТЕРІАЛИ
ВСЕУКРАЇНСЬКОЇ НАУКОВОЇ
КОНФЕРЕНЦІЇ СТУДЕНТІВ
ТА АСПІРАНТІВ, ПРИСВЯЧЕНОЇ
МІЖНАРОДНОМУ ДНЮ СТУДЕНТА**

(18-22 листопада 2024 р., м. Суми)

Рекомендовано до друку науково-координаційною радою Сумського національного аграрного університету (протокол № 4 від 22.11.2024 р.)

Редакційна рада:

Коваленко І.М., д.б.н., професор
Данько Ю.І., д.е.н., професор
Ярощук Р.А., к.с.-г.н., доцент

Редакційна колегія:

Бричко А.М., к.е.н., доцент
Думанчук М.Ю., к.т.н., доцент
Кисельов О.Б., к.с.-г.н., доцент
Масик І.М., к.с.-г.н., доцент
Михайліченко М.А., к.і.н., доцент
Срібняк Н.М., к.т.н., доцент
Степанова Т.М., к.т.н., доцент
Шкромада О.І., д.вет.н., професор

**Матеріали Всеукраїнської наукової конференції студентів і аспірантів,
присвяченої Міжнародному дню студента – (18-22 листопада 2024 р.). –
Суми, 2024. – 557 с.**

У збірку увійшли тези доповідей Всеукраїнської наукової конференції студентів і аспірантів,
присвяченої Міжнародному дню студента.
Для викладачів, студентів, аспірантів.

ЕФЕКТИВНІСТЬ МІКРОКЛОНАЛЬНОГО РОЗМНОЖЕННЯ КАРТОПЛІ

Яценко А. В., студ. 4 курсу ФАТП

Наукові керівники: проф. А. А. Подгаєцький, доц. М. О. Гнітецький

Сумський НАУ

Відомо, що культури *in vitro* беруть з різних частин рослини, а це можуть бути з коренів, пагонів, листків та апікальної меристематичної тканини, бруньок, листків, апікальної меристематичної тканини тощо, але найкращі результати отримують зі старішого матеріалу, який швидше росте і розвивається.

Матеріалом для дослідження були сорти картоплі Анатан, Мирослава, Слов'янка.

Однією з основних проблем, яку необхідно було вирішити при проведенні культивування *in vitro* картоплі була дезінфекція посадкового матеріалу перед висаджуванням у живильне середовище.

На поверхні живильного середовища присутні багато різних мікроорганізмів, бактерій. Вони можуть розмножуватися на поживному середовищі, тому необхідно дотримуватись суворо правил стерилізації під час роботи.

З метою отримання стерильного, життєздатного рослинного матеріалу стерилізацію проводили у два етапи. Попередня обробка здійснювалася розчином: «Септодор», основна – 0,1% водним розчином дихлориду ртуті (HgCl_2), нітратом срібла (AgNO_3) та мертиолятом натрію ($\text{C}_9\text{H}_9\text{AgNaO}_2\text{S}$) із тривалістю експозиції 0,5 хв., 1 хв. та 1,5 хв. Для більш ефективної дії до реагенту додавали емульгатор «Твін80». Видалення стерилізуючих речовин проводили шляхом промивання насіння у стерильній воді впродовж 10 хв. Повторність дослідів – триразова. Посуд, матеріали, інструменти та живильні середовища готували, згідно із загальноприйнятими методикам. Експланти всіх досліджуваних сортів легко піддавались стерилізації незалежно від стерилізуючої речовини і концентрації. У результаті досліджень виявлено, що за експозиції 0,5 хв. вихід стерильного насіння не перевищував 13,6–26,7%

Найбільш ефективною (83,3%) була 1-хвилинна стерилізація HgCl_2 . За використання нітрату срібла стерильність становила 63,4%, а за обробки мертиолятом натрію – 58,2%. Збільшення експозиції стерилізації зменшувало вихід стерильного насіння через пошкодження зародка насінини. Розвиток меристем, експресія, або пригнічення тотипотентності значною мірою залежали від умов, у які експланти потрапляли *in vitro*. Серед них найважливішими фізичними чинниками є світловий, температурний режим, вологість.

У наших дослідженнях кращі результати були, коли після стерилізації рослинний матеріал висаджували на поживне середовище і за температури $25 \pm 1^\circ\text{C}$, при 16-ти годинному фотоперіоді, інтенсивністю освітлення 3–5 кілолюксів, відносної вологості 75%.

Важливим аспектом біотехнологічної роботи є правильний підбір компонентів живильного середовища, концентрації та співвідношення регуляторів росту в їхньому складі, які і визначають напрями розвитку введеного біоматеріалу.

Основою росту тканин і органів рослини є утворення і ріст клітин апікальної меристеми, що проходять низку послідовних етапів: поділу, росту, розтягненням і диференціювання. Реалізація морфогенетичних потенцій апікальних меристем *in vitro* залежала від балансу в живильному середовищі компонентів, що забезпечують трофічну (макро- і мікросолі, вуглеводи, амінокислоти) та регуляторну (гормони, вітаміни) функції клітин.

Вирішальним етапом, від якого залежить успіх мікророзмноження рослин, є вибір оптимального живильного середовища для кожного етапу цього процесу.

Вибір середовища значною мірою залежить від типу бажаного морфогенезу. Водночас досягти позитивних результатів для кожної культури можна лише коли підібрати відповідне оптимальне живильне середовище та співвідношення ауксинів і цитокінінів у ньому.

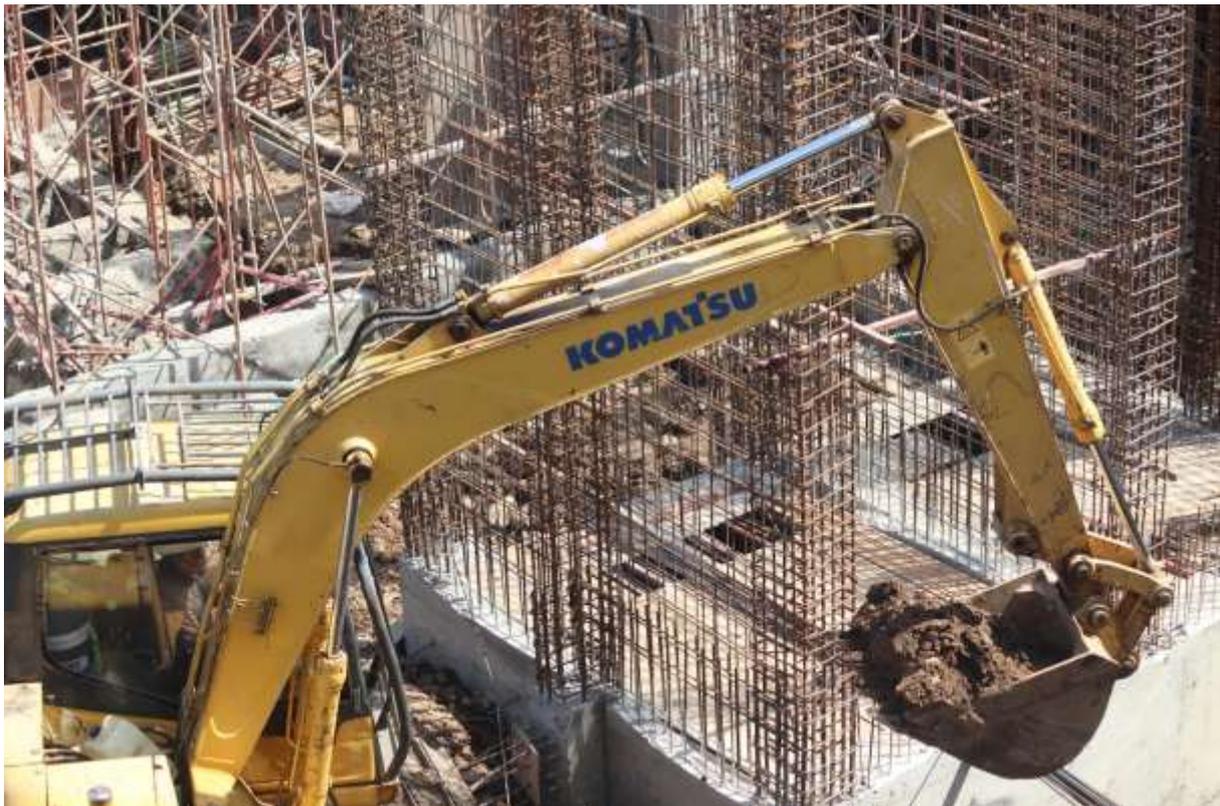
Список використаних джерел:

1. Мельничук М.Д., Новак Т.В., Кунах В.А.(2003) Біотехнологія рослин. Київ : Поліграф-Консалтинг, 520 с.
2. Мацкевич В.В., Кравченко Н.В., Мацкевич О.В., Подгаєцький А.А., Гнітецький М.О.(2023). Мікроклональне розмноження рослин. Суми, 200 с.
3. Мацкевич В.В., Подгаєцький А.А., Філіпова Л.М.(2019). Мікроклональне розмноження окремих видів рослин (протоколи технологій): науковопрактичний посібник. Біла Церква: БНАУ.85 с.
4. Подгаєцький А.А., Мацкевич В. В., Подгаєцький А.Ан. (2018). Особливості мікроклонального розмноження видів рослин: монографія. Біла Церква: БНАУ.209 с.

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ МОДЕРНІЗАЦІЇ ЗМІСТУ ОСВІТИ
ДЕРЖАВНИЙ УНІВЕРСИТЕТ «ЖИТОМИРСЬКА ПОЛІТЕХНІКА»
НАЦІОНАЛЬНИЙ ТЕХНІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ УКРАЇНИ «КИЇВСЬКИЙ
ПОЛІТЕХНІЧНИЙ ІНСТИТУТ ІМЕНІ ІГОРЯ СІКОРСЬКОГО»
НАЦІОНАЛЬНИЙ ТЕХНІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ «ДНІПРОВСЬКА
ПОЛІТЕХНІКА»
КРИВОРІЗЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ВОДНОГО ГОСПОДАРСТВА ТА
ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ

ТЕЗИ

III Всеукраїнської науково-практичної конференції «Сучасні проблеми гірництва та будівництва»



м. Житомир
20 листопада 2025 року

УДК 62; 69
Т11

Сучасні проблеми гірництва та будівництва: тези III Всеукраїнської науково-практичної конференції, 20 листопада 2025 року. - Житомир: Житомирська політехніка, 2025. - 165 с.

Рекомендовано до друку Вченою радою Державного університету «Житомирська політехніка»

УДК 62; 69

Представлено доповіді учасників III Всеукраїнської науково-практичної конференції «Сучасні проблеми гірництва та будівництва». Наведено аналіз та результати досліджень сучасних проблем гірництва та будівництва.

Конференція проводилася на базі Державного університету «Житомирська політехніка» в змішаному режимі з використанням технологій Google Meet – 20 листопада 2025 року.

Наукове електронне видання

ТЕЗИ
III Всеукраїнської науково-практичної конференції
«Сучасні проблеми гірництва та будівництва»

м. Житомир, 20 листопада 2025 року

Редактори: *С.І. Башинський*
В.І. Шамрай

Верстка та макетування: *І.А. Піскун*

Матеріали подано в авторській редакції

Об'єм даних – 23,3 МБ

Видавець і виготівник
Державний університет «Житомирська політехніка»,
вул. Чуднівська, 103, м. Житомир, 10005

Свідоцтво про внесення до Державного реєстру суб'єктів видавничої справи
ЖТ № 08 від 26.03.2004 р.

УДК 635.21:361.523

**Гнітецький М.О., студент 2-го курсу, групи ЗБЮ- 1м,
Любиченко В.О., студент 2-го курсу, групи БЮ- 1м,
факультету агротехнологій та природокористування**

Сумський національний аграрний університет

**Кравченко Н.В., д.с.-г.н. , проф.
факультету гірничої справи, природокористування та будівництва**
Державний університет «Житомирська політехніка»

МІКРОКЛОНАЛЬНЕ РОЗМНОЖЕННЯ РОСЛИН

У сучасному світі розвиток біотехнологій відкриває нові можливості для аграрного сектору, особливо у сфері рослинництва. Одним із найперспективніших методів відтворення рослин є мікроклональне розмноження, яке базується на принципах культури тканин *in vitro*. Цей метод дозволяє отримати значну кількість генетично однорідного садивного матеріалу за короткий час, що є особливо актуальним у світлі глобального попиту на високоякісну продукцію сільського господарства, декоративного рослинництва та фармакології.

Мікроклональне розмноження активно застосовується для розмноження рідкісних, зникаючих та особливо цінних сортів рослин, які важко, або неможливо відтворити традиційними способами. Завдяки цьому методу можна зберегти та поширити унікальні генотипи, вільні від вірусів та інших патогенів. Водночас, незважаючи на численні переваги, метод має й певні обмеження – зокрема високу собівартість, складність технічного забезпечення процесів, а також ризики виникнення соматоклональних варіацій.

У зв'язку з цим виникає необхідність комплексного аналізу переваг і недоліків мікроклонального розмноження рослин, що дозволить оптимізувати його використання у практиці, оцінити доцільність впровадження на різних рівнях господарювання та визначити напрями подальших досліджень.

Актуальність теми: в умовах інтенсифікації сільського господарства, змін клімату та зростаючих вимог до якості рослинної продукції мікроклональне розмноження є одним із ключових інструментів біотехнологічного забезпечення аграрного виробництва. Актуальність теми обумовлена необхідністю ефективного та безпечного відтворення цінних сортів рослин з гарантованими характеристиками. Також важливим є аналіз обмежень, що можуть впливати на економічну доцільність широкого впровадження даного методу.

Мета роботи: проаналізувати переваги мікроклонального розмноження рослин, оцінити доцільність його використання у сучасному рослинництві та запропонувати можливі шляхи подолання обмежень цього методу.

Проводили досліди з павлонією. Дослідження виконували, починаючи згідно із загально-прийнятими методиками. Мета оптимізація технологічного процесу культивування видів рослин *in vitro, ex vitro*. Методи: фізіолого-технологічний – розробка протоколів складових етапів біотехнологій мультиплікації і адаптації рослин математично-статистичний аналіз для обґрунтування кількісної оцінки отриманих експериментальних даних.

Наукові розробки в галузі культури клітин і тканин створили умови для масового поширення нових видів рослин у сучасному розсадництві. Наукові розробки в галузі мікророзмноження (МР) набувають масштабного комерційного поширення. Завершальним етапом мікророзмноження є адаптація регенованих рослин, вирощених у стерильних умовах *in vitro*, до нестерильних умов *in vivo*.

Мікророзмноження є ключовим інструментом у сучасній біотехнології рослин, що дозволяє отримувати велику кількість генетично ідентичних рослин (клонів) з невеликої кількості вихідного матеріалу. Цей процес поділяється на три основні типи, які відрізняються своїм підходом до ініціації нового росту:

Переваги мікроклонального розмноження. Швидкість отримання значної кількості клонів однієї рослини. Шляхом традиційного розмноження з однієї рослини отримують в середньому 5-100 клонів, тоді як шляхом мікроклонального розмноження можна отримати до декількох мільйонів рослин (Рис. 1).



Рис.1. Мікроклональне розмноження павлонії.

Оздоровлення вихідного садивного матеріалу, звільнення його від бактерій, вірусів, нематод, що досягається використанням лише дуже невеликої частини рослини – бруньки або лише її частини (Рис.2).



Рис.2. Мікроклональне розмноження малини.

В.В. МАЦКЕВИЧ, Н.В. КРАВЧЕНКО,
А.А. ПОДГАСЬКИЙ та ін.

МІКРОКЛОНАЛЬНЕ РОЗМНОЖЕННЯ РОСЛИН



Навчально-методичний посібник

Навчальне видання

Колектив авторів:

Мацкевич Вячеслав Вікторович – д.с.-г.н., доцент кафедри лісового господарства Білоцерківського національного аграрного університету;

Кравченко Наталія Володимирівна – д.с.-г.н., професор кафедри біотехнології та фітофармакології Сумського національного аграрного університету;

Подгаєцький Анатолій Адамович – д.с.-г.н. професор кафедри біотехнології та фітофармакології Сумського національного аграрного університету;

Мацкевич Оксана Вячеславівна – магістр Національного університету біоресурсів і природокористування;

Шита Оксана Петрівна – здобувач (Phd) Білоцерківського національного аграрного університету;

Гнітецький Максим Олегович – доктор Phd, старший викладач кафедри біотехнології та фітофармакології Сумського національного аграрного університету.

МІКРОКЛОНАЛЬНЕ РОЗМНОЖЕННЯ РОСЛИН

Навчально-методичний посібник

Відповідальний за випуск:

Гнітецький М.О. – доктор Phd, старший викладач кафедри біотехнології та фітофармакології Сумського національного аграрного університету.

Видавець:

Редакційно-видавничий відділ Сумського національного аграрного університету. м. Суми, вул. Г. Кондратьєва, 160.

Підп. до друку 25.08.2023. Формат 60x84/16. Гарнітура Times New Roman.
Тираж 300 пр. Ум. друк. арк. 10,16. Обл.-вид. арк. 11,84. Зам. № 1.

Виготовлювач:

ВВП «Мрія». Суми, Кузнечна, 2.
Тел. 679-215, 22-13-23. Вид. № 20.