МОН УКРАЇНИ
УМАНСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ САДІВНИЦТВА
(УНУС)

Факультет агрономії
Кафедра генетики, селекції рослин та біотехнології

Допущено до захисту

«____» _____ 2024 р.

Зав. кафедри, д. с.-г. н., професор

_____ Людмила РЯБОВОЛ

РОЗМНОЖЕННЯ ВИХІДНОГО МАТЕРІАЛУ ФУНДУКА (*CORULUS* L.) *IN VITRO* В НАВЧАЛЬНО-НАУКОВІЙ ЛАБОРАТОРІЇ «БІОТЕХНОЛОГІЇ» УНУС

Виконав: студент ІІ курсу, групи 25 м-а
спеціальності 201 Агрономія
НАЗАРЕНКО Олександр Сергійович
Керівник:
СЕРЖУК Олександр, к. с.-г. н., доцент

Умань – 2024

ЗМІСТ

Стор.

ВСТУП …… 3

РОЗДІЛ 1. ЗАСТОСУВАННЯ ТЕХНОЛОГІЙ *IN VITRO* ФУНДУКА (огляд літератури) ……. 6

1.1. Фундук як цінна плодова, лікарська і декоративна культура в сучасному садівництві …… 6

1.2. Досягнення і недоліки культивування у культурі *in vitro* деревних рослин …… 10

1.3. Клональне розмноження фундука ……..…….. 14

РОЗДІЛ 2. ОБЄКТ ДОСЛІДЖЕНЬ …… 17

2.1. Ботанічна і біологічна характеристика рослин фундука …… 17

2.2. Особливості досліджуваних генотипів фундука …… 19

РОЗДІЛ 3. УМОВИ ТА МЕТОДИКА ПРОВЕДЕННЯ ДОСЛІДЖЕНЬ … 21

3.1. Ґрунтово-кліматичні умови …… 21

3.2. Лабораторні умови …… 24

3.3. Схема досліду …… 25

3.4. Методика проведення досліджень ……... 26

РОЗДІЛ 4. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ …… 29

4.1. Калюсогенез в умовах *in vivo* ……... 29

4.2. Регенерація в умовах *in vitro* ……..... 32

4.2.1. Введення фундука в культуру ……... 33

4.2.2. Розмноження фундука в культурі ……. 36

РОЗДІЛ 5. ОХОРОНА ПРАЦІ ТА НАВКОЛИШНЬОГО СЕРЕДОВИЩА …… 38

ВИСНОВКИ ТА РЕКОМЕНДАЦІЇ СЕЛЕКЦІЙНІЙ ПРАКТИЦІ …… 44

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ …….. 45

ДОДАТКИ …….. 51

ВСТУП

Фундук *Corylus* L. (садова форма ліщини лісової) — займає одне з провідних місць серед горіхоплідних культур, у світовому виробництві займає третє місце після мигдаля і грецького горіха [1]. Він є цінною плодовою, лікарською і декоративною культурою з привабливими плодами високої якості [48]. Світове виробництво фундука складає 367 тис. т (2004 р.) [2].

Для виробників горіха плоди – це головне джерело прибутку. Потреба в горіхах культивованих і дикорослих представників роду *Corylus L* в Україні щороку зростає. Це пояснюється високою харчовою і дієтичною цінністю їхніх ядер, які містять 45-47% ліпідів з домінуванням олеїнової і пальмінової кислот, відповідно по 85 і 10% від загального вмісту, а також 12-25% протеїнів, цукри і втаміни, у тому числі 40-50 мг на 100г токоферолу [61].

В умовах Греції та Італії середня урожайність фундука становить 10–12 ц/га, на Чорноморському узбережжі Краснодарського краю – 8-10, а окремих ділянках – до 10-15, в Азербайджані та Грузії – 12-19 ц/га. Дерево зберігає високу продуктивність протягом майже півстоліття й більше, а кущ – до 150-180 років[44][45][46]. Що року країна витрачає порядку 460 мільйонів доларів, купуючи фундук в Туреччині та Італії для кондитерської промисловості [47]. В Україні фундук – практично малопоширена плодова культура [48], потреби в плодах якої у населення, а також харчової та переробної промисловості вона задовольняє лише на 12 %, так як площі насаджень цієї культури займають всього близько 100 га. [3]. Більшість з них розміщені у таких регіонах, як Прикарпаття, Придністров’я, Крим. Крім того насадження – переважно насіннєвого походження, що є причиною низької продуктивності та товарної якості плодів [4].

Стійка тенденція до зростання попиту на малопоширені плодові культури та декоративний садивний матеріал в Україні зумовлює актуальність інтенсифікації його виробництва на вітчизняних розсадниках [5]. У свою чергу вирощування конкурентоспроможного садивного матеріалу, особливо

ексклюзивного, потребує вирішенню ряду проблем, насамперед пов'язаних з селекцією та розмноженням нових форм і сортів деревних рослин.

Серед проблем, які гальмують виробництво горіхів фундука слід зазначити наступні:

- відсутність традиційних технологій фундукової культури (населення звикло використовувати горіхи дикорослих видів ліщини, переважно *C. Avellana L.*, зібрані в лісах);
- відсутність безпорослевих та мало порослевих сортів;
- обмежений асортимент і відсутність якісного мало порослевого підщепного матеріалу;
- труднощі розмноження існуючих безпорослевих та мало порослевих генотипів як підщеп;
- труднощі щеплення [62].

Практична селекція спрямована на створеня та впровадження у виробництво сортів плодових культур нового покоління : скороплідних, стійких до основних грибних патогенів, з високою продуктивністю та якістю плодів [51]. У зв'язку з цим зростає значення вегетативного розмноження рослин, яке дозволяє у повній мірі зберегти цінні декоративні ознаки материнських особин. Окрім цього, методи вегетативного розмноження, зокрема мікроклональне, дозволяють суттєво прискорити селекційні процеси та отримати оздоровлений декоративний садивний матеріал з бажаними ознаками та властивостями [6],[7],[49]. Разом з цим мікроклональне розмноження порівняно з іншими методами вегетативного розмноження, має ряд переваг, які дозволяють: розмножувати та одержувати садивний матеріал упродовж всього року; прискорювати хід селекційних процесів за рахунок генної інженерії; використовувати як вихідний матеріал більшість тканин та органів материнських рослин; одержувати оздоровлений безвірусний садивний матеріал тощо [8, 49].

Тому, метою роботи є вивчення етапів мікроклонального розмноження, завдяки яким в подальшому розмножити найбільш цінні генотипи фундука як вихідний матеріал для селекції.

Актуальність теми. Методи біотехнології, а саме мікроклонального розмноження рослин, дозволяють прискорити розмноження вихідного матеріалу та покращити його якість. Тому обрана тема на сьогодні актуальна.

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше в умовах *in vitro* проведено дослідження з мікроклонального розмноження горобини. З'ясовано експозиції та стерилізатори. Модифіковано живильні середовища для морфогенезу рослин горобини. Відпрацьовано етапи *in vitro* горобини а також обґрунтовано низку рекомендацій щодо прискореного розмноження.

Апробація результатів досліджень. Основні результати досліджень обговоренні на студентських гуртках та засіданні кафедри генетики, селекції рослин та біотехнології. Оформлено у вигляді тезісів (Мікроклональне розмноження нетрадиційних плодових культур) і подано до друку в збірник матеріалів XII-ї Міжнародної наукової конференції «Селекційно-генетична наука і освіта (Парієві читання)».

РОЗДІЛ 1.
ЗАСТОСУВАННЯ ТЕХНОЛОГІЙ *IN VITRO* ПРИ МІКРОРОЗМНОЖЕННІ ФУНДУКА (огляд літератури)

1.1 Фундук як цінна плодова, лікарська і декоративна культура в сучасному садівництві

Ліщина — один з важливих лісових енергоносіїв, у ранньовесняний період дає багато високоякісного пилку, який містить багато білків і вітамінів [9]. Часто його заготовляють для підгодівлі бджіл узимку і рано навесні. Бджоли збирають з ліщини падевий мед [10].

Ліщина звичайна — харчова, жироолійна, медоносна, лікарська, фарбувальна, деревинна, декоративна, фітомеліоративна рослина [11].

Завдяки високому вмісту жирів і білків плоди ліщини мають високу калорійність і є цінним продуктом харчування — їх їдять свіжими і підсушеними. В ядрах горіха містяться невсихаюча жирна олія (58-72%), що добре засвоюється організмом, білки (14-18%), вуглеводи (3-8%), вода (4,8), крохмаль (9,9), усі 20 амінокислот, необхідних для людини, 9 вітамінів, представлених переважно токоферолами, відомими як вітамін Е (нормалізує м’язову діяльність, роботу ендокринної системи, статевих залоз), каротин, біотин, макро- і мікроелементи та інші корисні речовини [52]. Ядро горіха використовують для виробництва різноманітних харчових продуктів: борошна, специфічних ласощів, зокрема, уварюючи з медом або виноградом. Ядра йдуть на виготовлення рослинних вершків, молока, цукерок, тортів, варення, макуха переробляється на шоколад, халву [12]. Особливо ціниться олія, яку добувають з ядра горіха. Олія світло-жовтого кольору, високої якості, по смаку нагадує мигдалеву. За своїми властивостями вона не поступається перед мигдалевою. Поживність (калорійність) горіхів ліщини в 2 рази вище калорійності пшениці, в 3 рази - маку та у 8 разів - молока. Горіхова олія чудова тим, що при горінні не коптить [13] ,[48].

Плоди вважаються високоцінним продуктом - містять в концентрованому вигляді всі необхідні для організму елементи живлення:

білки, жири, вуглеводи, вітаміни групи А, В, С, Д, Е, Р, К, а також цілий ряд макро - і мікроелементів (залізо, калій , кальцій, магній, марганець, натрій, сірка, фосфор, хлор, цинк) [14].

Волков В. [5] стверджує, що фундук містить речовини, які видаляють з організму шлаки, сприяють очищенню організму і зміцнюють імунну систему людини. Група вчених з Портлендского інституту (США) виявила в екстракті лісового горіха хімічну речовину паклітакселом, яка становить основу найвідомішого в світі протиракового препарату TAXOL (рис. 1.).



Рис. 1. Протипухлинний препарат TAXOL

До цих пір вважали, що єдине природне джерело отримання паклітакселому – кора тиса (надзвичайно рідкісна порода дерев, поширена в північно-західній частині Тихоокеанського узбережжя). Виявилося, що фундук містить його в такій же кількості [5].

Близько 75% світового виробництва горіхів йде на виготовлення шоколаду і 25% — для різних кондитерських виробів, паст і добавок до круп’яно-фруктових сумішей, так званих сухих сніданків [6].

У своїй статті «Фундук в Україні» Кірмікчій П.Г. [7] вказує, що ліщина разом з іншими видами роду *Corylus* L. завойовує своє місце у декоративному садівництві. На сьогодні в озелененні міст досить широко використовують ліщину ведмежу і ліщину велику, решту видів поки що підтримують у

колекціях ботанічних садів, дендропарків і дендраріїв. Однак досвід культивування багатьох цінних за декоративними якостями форм північноамериканських і східноазійських видів засвідчує великі перспективи запровадження представників роду *Corylus* L. у декоративне садівництво (рис. 2., 3.).



Рис. 2. Використання ліщини як живої загорожі



Рис. 3. Фундук в декоративному садівництві

Широко використовується як підщепа для виведення високоврожайних садових сортів [12]. Як підліскова порода, що підвищує родючість ґрунту, добре його затінює, застосовується в прибалкових і проти ярусних лісомеліоративних насадженнях, має прекрасні вітрозахисні й ґрунтозахисні властивості [15].

Листки й кора ліщини містять дубильні речовини (відповідно 10 і 7 %), а в корі знаходяться природні барвники, якими можна фарбувати шкіру в жовтий колір. Використовується і у парфумерії, для виготовлення високоякісних художніх фарб [12],[48].

З вугілля ліщини роблять олівці для малювання. Кора використовується для дублення і для виготовлення жовтої фарби [16].

Деревина ліщини відзначається рівномірною будовою, блискуча, пружна, гнучка [17]. З неї виготовляють обручі, столярні й токарні вироби. Тонкі гілки придатні для грубого плетива (кошики, меблі), прямі пагони — для ціпків, вудок, держаків. При випалюванні деревини одержують рисувальне вугілля [18].

У народній медицині горіхи ліщини застосовують при нирковокам'яній хворобі, олію — проти глистів, висушену плюску — при проносах, кору — проти пропасниці, листки — як антисептичний засіб. У ветеринарії пилок використовують для лікування кишкових захворювань. Як продукт дієтичного харчування, фундук використовується при захворюваннях серцево-судинної системи і недокрів'ї, збільшенні передміхурової залози, при варикозному розширенні вен, флебітах, трофічних виразках гомілки і капілярних геморагиях [4], [68].

Як декоративна рослина ліщина заслуговує більш широкого застосування в озелененні міст. Придатна для створення груп у парках і лісопарках, майже зовсім не пошкоджується шкідниками [19]. Має ряд декоративних форм [20]. Ліщину застосовують і в декоративних цілях, завдяки великому темно-зеленому листі, пофарбованої восени в яскраві жовті та червоні тони. Популярні краснолисні форми, але їх зимостійкість нижче, ніж

форм дикоростучої лісової ліщини. Використовують в живих високих огорожах, алеях, одиночних і групових посадках [21].

1.2 Досягнення і недоліки культивування у культурі *in vitro* деревних рослин

Метод клонального мікророзмноження рослин у культурі *in vitro* – один з головних у сучасній біотехнології. Суть його полягає у здатності рослинних тканин утворювати на поживних середовищах під впливом екзогенних гормонів калюс, пагони, рослини [49].

Мікроклональне розмноження рослин у культурі *in vitro* передбачає попереднє відпрацювання технології на декількох послідовних етапах: вибір маточної рослини; вибір експлантата; стерилізація; введення в культуру; розмноження; морфогенез; вкорінювання; адаптування; дорощування [22].

На відміну від трав'янистих рослин чагарники і дерева в культурі *in vitro* розмножуються із значно більшими труднощами [23]. Хоча є публікації про певні успіхи у мікроклональному розмноженні бука, верби, тополі і навіть дуба та деяких плодових деревних порід, у тім числі кісточкових і зерняткових, однак багато питань, що стосуються вдосконалення технологій, залишаються невирішеними дотепер. З огляду на це розробка та удосконалення деяких етапів зазначеного методу для кожної окремої культури є актуальними [49]. У наслідок цього майже 200 видів із 30 родин деревних рослин вже або введено в культуру, або отримані позитивні результати [22].

Однак більшість введених у культуру *in vitro* видів деревних порід і дерев'янистих кущів хоча і виявляє здатність до проліферації — швидкого розмноження клітин експлантів на живильному середовищі, але морфогенез у культурі *in vitro* (утворення пагонів і коренів) йде гірше, вкорінювання пробіркових рослин у ґрунті, ще гірше. Велика частина матеріалу гине на початкових етапах мікроклонального розмноження, мікроживці чорніють, з них у живильне середовище виділяються токсини, які призводять до потемніння середовища з подальшим відмиранням експлантів. Навіть кращі рослини з

корінням і 5–7 листками після пересаджування у ґрунт досить часто зупиняють свій ріст, їхні листки в’януть і обпадають, унаслідок чого більшість рослин гине [24].

Аналіз причин в’янення листків після пересаджування показав, що в умовах *in vitro* за вологості повітря, близькій до 100 %, продихи листків пробіркових рослин широко відкриті. Після пересаджування рослин-регенерантів у ґрунт вони залишаються відкритими ще досить довго, внаслідок чого рослини втрачають воду, а корені не встигають поповнювати з ґрунту дефіцит вологи. Справа в тім, що в умовах *in vitro* корені формуються без кореневих волосків, а це різко зменшує їхні всисні можливості. Для подолання цих труднощів пропонують поетапне адаптування пробіркових рослин з пересаджуванням у стерильних умовах рослин – регенерантів спочатку на мох, перліт чи інший волого місткий стерильний субстрат, а після формування розвиненої кореневої системи – на нестерильний субстрат із суміші перліту з ґрунтом і лише потім у ґрунт [25].

Серед практичних проблем, які потребують вирішення, слід назвати вибір експланта, встановлення їх оптимальних розмірів. У цьому разі треба брати до уваги онтогенетичний та фізичний стан інтактної рослини; орган, який є джерелом експланта та його вік. Також під час відбирання експлантів треба зважати на пору року, оскільки в основі змін у фізіологобіохімічному стані рослин є сезонність. Навесні, коли відбувається інтенсивний приріст молодих пагонів, у тканинах збільшується вміст ауксинів, що потенційно може впливати на розвиток експлантів у культурі *in vitro* [49]. Збільшення розмірів мікроживців до 1 см збільшує вихід рослин – регенерантів у культур, що важко вкорінюються, а використання з цією метою пророслого насіння сприяє прискоренню формування макроструктур [26].

Зазвичай у наслідок проліферації утворюється калюс. Залежно від спадковості маточної рослини та її фізіологічного стану він може бути морфо генним (спроможним утворювати пагони і корені) і неморфогенним (спроможним рости лише як неорганізована калюсна маса). З морфогенного

калюсу відразу або після декількох пересаджувань (пасажів) починають формуватись макроструктури (корені і пагони). Морфогенність калюсу і його здатність до ризогенезу і гемогенезу (утворення адвентивних бруньок і пагінців) залежать від співвідношення вмісту в живильному середовищі фізіологічно активних речовин ауксинової і цитокінінової природи [26, 27, 67].

Неповністю вирішене питання стерилізації експлантів. З практики клонального мікророзмноження рослин відомо, що отримання життєздатного стерильного рослинного матеріалу в багатьох випадках є проблематичним. Поверхневі тканини всіх органів культур зазвичай заражені спорами різноманітних бактерій та грибів [49]. Деякі автори вважають за достатнє промивання пагонів водою з милом, інші рекомендують стерилізацію 96 % етиловим спиртом, 3 % хлораміном Б, діацидом у різних варіантах, 70 % спиртом і сулемою тощо [28]. Процес стерилізації інтактної рослини, необхідно виконувати з особливою увагою, оскільки від цього залежить, чи буде експлант розвиватися, чи загине від інфекції [50]. Для стерилізації органів і тканин рослин, з яких буде ізолюватися експлант, зазвичай застосовують великий набір різних стерилізуючих речовин. Найбільше використовуються розчини з вмістом активного хлору: гіпохлорид кальцію і натрію, хлорне вапно, хлорамін, також розчини сполук ртуті — сулема, диацид та ін. Ці речовини за правильного підбору концентрацій та експозиції дають позитивні результати, незважаючи на їх токсичність для рослинних тканин [27]. За будь-яких умов дезінфекція рослинного матеріалу має бути досить жорсткою, щоб звільнити його поверхню від мікроорганізмів грибкового, бактеріального й іншого походження, і водночас досить м’якою, щоб не пошкодити експланти [23].

В основі живильних середовищ здебільшого використовують прописи Мурасіге-Скуга, Гамборга , Пієрика з модифікаціями Р.Г. Бутенко, а також прописи Готре, Кнудсона та ін. Різні середовища різняться за вмістом макро- і мікроелементів, вітамінів, глюкози а також за співвідношенням цитокінінів (6 – бензиламінопурину, кінетину тощо) й ауксинів (індолілоцтової, 2,4 дихлорфеноксиоцтової та подібних кислот). Вимоги до складу живильних

середовищ більш багатовекторні, ніж вимоги до стерилізатора. Подібні різні прописи для культивування різних видів, різновидів, сортів і гібридів. Неоднаковими мають бути середовища для роботи із стартовим матеріалом, вирощеним у різні сезони (весняний, весняно-літній чи літньо-осінній тощо). Крім того, на різних етапах регенерації й залежно від завдання, що стосується морфогенезу і диференціації, а також використовують різні прописи живильних середовищ і їхні модифікації [29], [69].

Наразі можна вважати цілком успішними методи культивування *in vitro Cerces canadensis* L., *Exochorda tianschanika* Gonthsch, *Labyrmem anogyroides* Medic. Потребують доопрацювання методи мікроклонального розмноження *Camellia faponica* L., *Ginkgo biloba* L., *Liriodenderon tilipitora* L., *Magnolia kobus* D.C., та *Malus niedywetykuana* Dick, тоді як для ефективного розмноження *Corylus avellana* L.f. " Contorna", *C. avellana* L. f. "Fuscorubra", *Exochorda alberti* Rgl. є необхідність проведення пошуку нових модифікацій, технологій і в першу чергу нових процесів живильних середовищ [8].

1.3 Клональне розмноження фундука

Традиційне розмноження фундука відсадками є досить трудомістким і не завжди економічно вигідним методом вегетативного розмноження. Ще більш затратним є розмноження на підщепах, виконання якого пов'язано з необхідністю суттєвого вдосконалення техніки щеплення і потребою у висококваліфікованій ручній праці [53]. Крім того, залишається невирішеною проблема селекції підщеп, які б поєднували такі важко поєднувані властивості:

- високу здатність до вегетативного розмноження відсадками або живцями;
- тканинну сумісність при щепленні на них переважної більшості поширених сортів ;
- відсутність порослі у промислових насадженнях [30].

Розмноження насінням, яким користуються у багатьох країнах, що виробляють фундукопродукцію, не забезпечує бажаних рівнів збереження

сортових ознак у насіннєвому потомстві [30]. Використання для щеплення насіннєвого потомства *Corylus L.* не забезпечує очікуваної одноманітності підщеп і відповідно фенотипу сортопідщепних комбінувань. Окрім того, інколи насіння *Corylus L.* потребує до двох років для повного проростання, а сінянці – до двох додаткових років для досягнення параметрів придатності для щеплення [60].

Як альтернативний метод вегетативного розмноження фундука надзвичайно перспективним може бути мікроклональне розмноження найбільш цінного вихідного матеріалу. Метод вже використовують у розсадництві деяких лісових і декоративних порід для прискореного розмноження нових генотипів, що мають підвищений комерційний попит. Мікроклональне розмноження дає змогу в стерильних умовах *in vitro* швидко отримувати велику кількість рослинного матеріалу, генетично ідентичного вихідній рослині, що надзвичайно актуально для дефіцитних генотипів [49]. Однак швидке запровадження техніки *in vitro* у вітчизняне розсадництво ще гальмується деякими обмеженнями, пов'язаними з необхідністю вдосконалення окремих елементів технології [54]. Проблеми широкого запровадження технологій *in vitro* для сортів фундука наведено нижче:

- труднощі стерилізації експлантів;
- недостатня адаптованість експлантів до умов in vitro;
- відсутність прописів надійних базових живильних середовищ для проліферації експлантів;
- відсутність прописів модифікованих живильних середовищ і технологій для індукування гемо - і ризогенезу *in vitro*;
- недостатня відпрацьованість технологій адаптації до умов *ex vitro* і дорощування вкорінених рослин – регенерантів;
- необхідність розмноження онтогенетично стиглих тканин рослин генеративного віку [31].

Кожна із зазначених проблем технологій мікроклонального розмноження важлива, однак остання з них спричинює додаткові труднощі.

Справа в тім, що протягом ювенільної фази росту (до якої належить і насіння, що проростає) більшість багаторічних деревних порід ввести в культуру *in vitro* значно легше, ніж у генеративному віці [8]. Однак у ювенільному віці багаторічних перехреснозапильних рослин, до яких належить фундук, найважливіші сортові ознаки не виявляються [10]. Це унеможливлює оцінювання і добір за багатьма господарсько цінними ознаками, отже, не сприяє ефективності добору за ознаками продуктивності і якості подів. Потреба в технології мікроклонального розмноження новоствореного генотипу в культурі *in vitro* виникає для селекціонера здебільшого після збирання другого – третього товарного врожаю, коли він переконується в перевагах цього генотипу. Необхідність розмноження зареєстрованих (комерційних) сортів-клонів, окремі з яких мають онтогенетичний вік, що обліковується десятками й сотнями років, ускладнює запровадження методів *in vitro* у промислове розсадництво. Адже у цьому випадку потрібно вводити в культуру *in vitro* онтогенетично стиглі тканини рослин генеративного віку [30], [63].

Напрацювання вітчизняних і зарубіжних вчених дають підстави рекомендувати для промислового розсадництва економічно доцільні технології мікроклонального розмноження фундука в культурі *in vitro* [55].

Стерилізація перед введенням в культуру належить до надзвичайно відповідальних етапів технології мікроклонального розмноження. Вона включає такі процеси :

- зрізування з обраної маточної рослини пагонів завдовжки 10–15 см;
- діагностування на відсутність – наявність вірусної інфекції;
- занурення в 0,1-% водний розчин сулеми на 10 хв;
- сполоскування у дистильованій стерильній воді;
- занурення в 70-% (в об’ємному відношенні) етиловий спирт на 1 хв;
- сполоскування у дистильованій стерильній воді;
- занурення в 0,8 % водний розчин гіпохлориду натрію *(NaCl*) на 30 хв;
- сполоскування у дистильованій стерильній воді [66].

РОЗДІЛ 2.
ОБЄКТ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1 Ботанічна і біологічна характеристика рослин фундука

Ліщина звичайна (*Corylus* L.) належить до сімейства березових. Культурні сорти ліщини, що мають промислове значення на півдні Росії (Чорноморське узбережжя Краснодарського краю), відомі як фундук. У дикому вигляді зарості ліщини широко поширені на півдні Росії, в нечорноземних областях, на середній Волзі, в гірських районах Кавказу. У найближчих до нас районах в природі вона зустрічається в Башкортостані, Татарстані, Південному Уралі, Кіровської області, Пермському краї, ще недавно невеликі її зарості зустрічалися в артінского лісгоспі Свердловської області [2, 56, 64]. Має ряд декоративних форм, що розрізняються забарвленням і формою листя, формою крони: біло-строката (*f.* albo-*variegata*) - з біло-облямованим листям; золотиста (*f. aurea*) — великий кущ або маленьке дерево заввишки до 4 м із золотисто-жовтим листям і жовтими пагонами, особливо яскраво забарвлення виявляється на освітлених місцях; золотисто-облямована (*f. aureo-marginata*) - з жовтою обламівкою по краю листа; розітнута (*f. laciniata*) — з перисторозсіченим листям, із загострено-зубчатими лопатями, що нагадують листя кропиви; дуболістная (*f. quercifolia*) — з листям, що нагадує листя дуба; плакуча (*f. pendula*) — штамбовая форма із зонтиковидною кроною і плакучими гілками, висота і діаметр крони — 2–3 м, росте швидко, тіньовитривала, віддає перевагу родючим ґрунтам, не переносить надлишку води [33, 34, 65]. Це дуже зимостійка і зовсім невибаглива рослина (плодоносить на збіднених ґрунтах без відчутного зниження врожайності), яка витримує навіть короткочасну посуху, у суворі зими іноді підмерзають кінці однорічних пагонів [57].

За екологічною вибагливістю стосовно потреби в родючості грунту і елементах живлення види *Corylus L*. можна віднести до мезо-мегатрофів, тобто до рослин з середньою та підвищеною потребою, а щодо до вологості ґрунту – до мезофітів, тобто середньо вибагливих [59].

Представники роду *Corylus L* здебільшого досить легко схрещуються між собою і дають плідне потомство. Всі вони належать до алогамних анемофільних рослин [70],[71]. Алогамія забезепчуєтьмя моноецією, за якої чоловічі і жіночі квітки формуються на одній і тій же рослині на певній відстані [70],[1].Чоловічі квітки зібрані в повислі суцвіття - сережки, м'які, жовті і схожі на сережки берези, вільхи. Вони закладаються в попередній цвітінню сезон в червні, липні і з осені вже сформовані і добре видно. Зимують і розпускаються рано навесні. Пилок переноситься вітром [35].

Жіночі суцвіття заховані усередині особливих нирок і складаються з дуже дрібних щільно розташованих квіток. Вони також формуються в попередній сезон. Їх не видно. Під час цвітіння листові луски на верхівці жіночих суцвіть (мають посвідку нирок) розсуваються і висовується пучок яскраво-червоних або темно-червоних рилець. Вони-то і уловлюють пилок, переноситься вітром [35].

Така власне роздільностатева однодомність є однією з найголовніших природних перешкод будь-якій формі самозапліднення [72]. Окрім того, алогамія в роді *Corylus L*. Підтримується дихогамією (неодночасним зацвітанням маточкових і тичинкових квіток). Внаслідок цього всі культивовані сорти фундука високо гетерозиготні, а значить їхні генотипи та сортові ознаки в статевих поколіннях не успадковуються [1],[62].

Плоди дозрівають у другій половині серпня - початку вересня. Вони зібрані в групу від 2 до 5 шт. Плід - однонасінний горіх, оточений обгорткою. Обгортка складається з двох на верху розсічених або лопатевих листочків, світло-зелена, опушена. Плоди різної форми — округлі, продовгуваті, незграбні, більш-менш плоско-стислі, здебільшого дрібні, висотою 10-15 мл і більше великі — 20 мм. На Свердловської селекційної станції садівництва серед сіянців виділені добірні форми з висотою плода 18–22 мм.[35].

Фундук розмножують насіннєвим і вегетативним способами. Перевагою вегетативного розмноження порівняно з насіннєвим є те, що воно дає змогу зберегти в потомстві всі господарсько – біологічні властивості материнської

рослини. Крім того, вегетативно розмножені рослини починають плодоносити на 2-3 роки раніше, ніж насіннєві [58].

2.2 Особливості досліджуваних генотипів фундука

Клиновидний. Сорт селекції Укр. НДІЛГА. Районований з 1988 року в Лісостеповій зоні. Кущ сильнорослий, висота 4,7 м, діаметр 5,0 м. Зимостійкий, стійкий до основних шкідників і хвороб. Цвіте рясно в кінці лютого – на початку квітня. Першими зацвітають жіночі суцвіття. Плоди дозрівають в кінці серпня на початку вересня.

Плоди зібрані у суплiддя по 2–5–7. Обгортка дуже щільно облягає плоди, майже закрита. Горіхи конічні, не крупні, з темно коричневою шкаралупою, вершина опушена. Маса 100 горіхів 170 г. Вихід ядра — 44 %.Урожайність в середньому за 5 років — 13,8 ц/га. Максимальна відмічена 21,4 ц/га (рис. 4.).



Рис. 4. Плоди фундука сорт Клиновидний

Шоколадний. Сорт селекції Укр. НДІЛГА. Кущ сильнорослий, трохи розлогий. Висота — 4,5 м, діаметр — 4,8 м. Цвіте в кінці лютого – квітні місяці.

Першими цвітуть жіночі квітки. Плоди зібрані по 2–4 шт., але бувають і поодинокі.

Обгортка горіха липка, в півтора рази довша за горіх, суцільна зрідка розсічена з одного боку, краї розділені на широкі з зубцями частки. Горіхи довгасті, середніх розмірів, гарного темно коричневого забарвлення з повздовжніми темнішими смугами. Шкаралупа середньої товщини. міцна. Ядро повністю виповнює шкаралупу. Воно щільне. жовто-кремового кольору, вкрите тонкою коричневою оболонкою. Вага 100 шт. горіхів — 180 г. Висота горіха — 19 мм, ширина — 15 мм, товщина — 13 мм. Вихід ядра — 50,2 %, вміст олії в ядрі — 69,8 %, протеїну — 16,2 %. Урожай горіхів з куща — 7 кг, в середньому за 5 років — 16,2 ц/га, максимальна — 24,9 ц/га (рис. 5.).



Рис. 5. Плоди фундука сорт Шоколадний

РОЗДІЛ 3.
УМОВИ ТА МЕТОДИКА ПРОВЕДЕННЯ ДОСЛІДЖЕНЬ

3.1. Ґрунтово-кліматичні умови

Клімат Черкаської області помірно-континентальний. Середньомісячна температура повітря в січні та лютому коливається від -4°С на заході до -8°С на сході. Спостерігаються досить тривалі інтенсивні відлиги. Літо характерне високими сталими температурами. Опади розподіляються нерівномірно.

Черкаська область належить до підзони нестійкого зволоження. Кожен третій рік у підзоні посушливий.

Основні ґрунтоутворювальні породи – леси та лесоподібні суглинки, які містять від 7–8 до 20–25% карбонатів. Не дивлячись на різну гранулометричну будову всі вони характеризуються пухким, пористим складом, пронизані густою мережею тонких капілярів, в яких добре утримується вода, а в більш крупних – повітря. Вміст гумусу в орному шарі становить 2,7–3,8 %, pH сольової витяжки — 6,0, сума ввібраних основ — 21,3 мг-екв. На 100 г ґрунту, вміст легкогідролізованого азоту за Корнфілдом — 8,9, рухомих сполук фосфору й калію за методом Чирикова відповідно 10,8–12,5 та 14,3–16,4 мг на 100 г ґрунту [36].

Територія зони в цілому рівнинна, широко хвиляста. Вододіли у вигляді плато, схили сильно порізані ярами, балками.

З щорічним деревним опаданням листя ґрунт збагачується основами (до 250 кг/га проти 10–45 кг/га в хвойних лісах). Тому розчинні кислоти, які утворюються від розкладу органічних решток деревних рослин, нейтралізується карбонатами кальцію та іншими основами і підзолистий процес під широколистяними лісами на карбонатних материнських породах не розвивається. На без карбонатних материнських породах складаються менш сприятливі умови для широколистяних порід.

Як відомо з даних місцевої метеостанції (м. Умань) в області такі погодні умови: помірно-холодна зима та помірно-тепла весна, літо іноді з посушливим вегетаційним періодом, помірно-тепла осінь [37].

У 2023 році вологість повітря у квітні 71% май же не поступається середньо багаторічній, яка становила 76%, низькими показниками, у порівнянні з середньо багаторічним значенням, характеризується серпень — 66%. За 2023р середня вологість повітря становила 74,9% (таблиця 1).

Таблиця 1

Вологість повітря за 2023–2024 рр., % (за даними метеостанції Умань)

місяць	Рік								Середня багаторічна
	2023			Середня за місяць	2024			Середня за місяць	
	декада				Декада				
	I	II	III		I	II	III		
Січень	90	85	88	88	84	93	85	87	76
Лютий	80	88	83	84	88	86	77	84	
Березень	80	71	73	74	75	78	71	75	
Квітень	72	78	64	71	74	66	53	65	
Травень	68	70	58	65	59	67	73	67	
Червень	64	59	60	61	78	65	74	72	
Липень	59	69	59	62	69	74	70	71	
Серпень	56	76	65	66	65	66	76	69	
Вересень	65	64	79	69	80	90	82	84	
Жовтень	72	88	83	81					
Листопад	86	93	93	91					
Грудень	90	87	85	87					
Середня за рік	74,9				74,8				

Низькою вологістю повітря у порівнянні з 2023 роком та середньо багаторічним показником характеризується 2024 рік — 74,8%. Найнижча вологість повітря спостерігається у квітні — 65%. За період вегетації найбільша вологість повітря була у червні — 72%, що наближено до середнього значення за рік.

За даними таблиці 2. сума опадів за 2023 рік становила 584 мм. У квітні був незначний дефіцит вологи – 38,4 мм за місяць, а у липні кількість опадів була –90,6 мм приблизно 10,3% від багаторічного показника - це зумовило формування потужної вегетативної маси. Критичним був серпень в середньому сума опадів за місяць становила28,9 мм.

Таблиця 2

Сума опадів за 2023–2024 р., мм (за даними метеостанції Умань)

Місяць	Рік								Середня багато–річна
	2023			Середня за місяць	2024			Середня за місяць	
	Декада				Декада				
	I	II	III		I	II	III		
Січень	3,1	6,8	23,2	33,1	10,2	26,6	21,3	58,1	633
Лютий	4,2	16,9	7,2	27,8	26,9	7,0	2,0	35,9	
Березень	6,9	1,9	15,9	24,7	14,2	16,8	29,7	60,7	
Квітень	7,4	27,4	3,6	38,4	25,6	10,9	0,0	36,5	
Травень	36,4	9,0	0,3	45,7	0,6	13,3	57,0	70,9	
Червень	9,4	0,4	14,4	24,2	18,9	13,0	45,9	77,8	
Липень	26,8	25,6	17,0	69,4	6,7	13,1	3,4	23,2	
Серпень	5,3	23,6	0,0	28,9	6,5	3,3	44,6	54,4	
Вересень	4,6	67,1	18,9	90,6	12,7	68,5	7,9	89,1	
Жовтень	7,1	12,6	15,3	65,0					
Листопад	27,7	2,2	0,8	30,7					
Грудень	70,9	57,2	7,4	135,5					
Середня за рік	584				506,6				

Середня сума опадів за 2024 рік складає 506,6 мм, що на 14,2% нижче середньо багаторічної, яка становить 633 мм. Значний дефіцит вологи спостерігався у квітні –36,5 мм, це 3,6% від середньо багаторічного показника. Надмірною кількість опадів була у вересні 89,1 мм, це сприяло росту рослин.

2023 рік характеризувався вищою температурою повітря на 1,2 % від середньо багаторічної, Характеризуючи 2023 рік по місяцях ми бачимо , що в червні, липні та серпні температура була значно вищою за середньо багаторічну.

Середня температура повітря за 2024 рік 10,9 ^{o}C, що значно більше середньо багаторічній 7,4 ^{o}C, За період вегетації була температура у квітні

10,9°С, але це на 6,7 % вище середньо багаторічного показника, Найвища температура спостерігалась у червні 20,5 °С (таблиця 3).

Таблиця 3

Середня температура повітря 2023–2024 р. ° С

Місяць	Рік								Середня багаторічна
	2023			Середня за місяць	2024			Середня за місяць	
	Декада				Декада				
	I	II	III		I	II	III		
Січень	0,9	-3,5	-9,6	-4,2	-3,8	-2,6	-5,2	-3,9	7,4
Лютий	-16,4	-12,9	-0,4	-10,2	1,6	-0,7	-0,1	0,3	
Березень	-3,4	4,0	5,6	2,2	0,4	0,5	-0,7	0,1	
Квітень	8,5	10,8	17,1	12,1	6,1	10,5	16,1	10,9	
Травень	19,1	17,1	17,7	18,0	18,2	19,5	17,6	18,4	
Червень	19,9	23,0	20,9	21,3	17,8	21,7	22,0	20,5	
Липень	24,7	21,3	24,0	23,4	21,6	19,4	19,2	20,0	
Серпень	24,4	17,4	20,6	20,8	21,6	21,2	16,8	19,8	
Вересень	17,4	16,5	15,8	16,5	13,9	14,0	8,8	12,3	
Жовтень	13,7	10,0	8,3	10,6					
Листопад	8,0	2,5	3,0	4,5					
Грудень	-0,8	-7,8	-6,9	-5,3					
Середня за рік	9,1				10,9				

Загалом, погодні умови за роки проведення дослідів були задовільними, що сприяло закладанню і проведенню дослідів у культурі *in vivo* досліджуваних рослин глоду.

3.2 Лабораторні умови

При проведенні мікроклонального розмноження в якості вихідного матеріалу використовували однорічні пагони досліджуваних видів з умов *in vivo*.

Рослинний матеріал перед введенням у культуру мили господарським милом та промивали проточною водою. Перед основною стерилізацією об’єкт

занурювали на 5 секунд в 96,0 % етанол. Стерилізували експланти стерилізаторами хімічного походження з різними експозиціями. Після завершення стерилізації живці тричі промивали в стерильній дистильованій воді і висаджували на живильні середовища.

Культивування рослинного матеріалу проводили при 16-годинному фотоперіоді з інтенсивністю освітлення 2 кЛк, температурному режимі 20–24^{0}С та відносній вологості повітря 75%. Тривалість одного пасажу становила 30–35 діб.

3.3 Схема досліду

Вивчення впливу дати поранення на інтенсивність не морфогенного калюсогенезу представників роду *Corylus* L. включає подекадні поранення (з березня до жовтня).

Ефективність різних стерилізаторів при різних експозиціях стерилізації експлантів рослин роду *Corylus* L., при введенні в культуру *in vitro* включатиме 12 варіантів для кожного генотипу: гіпохлорид натрію (*NaOCl*), 5%; дихлорид ртуті ($HgCl_2$), 0,1%; нітрат срібла ($AgNO_3$), 1,0%.

При безпосередньо мікроклональному розмножені вивчали базові живильні середовища Драйвера і Куніюкі (*DKW*) та Ллойда і Мак Коуна (*WPM*) з нашими модифікаціями (додаванням регуляторів росту) (табл. 4.).

Таблиця 4

Вміст регулюючих речовин у модифікованих живильних середовищах, мг/л

Живильне середовище	ІОК	ІМК	НОК	6-БАП
DKW 1	0,01	-	-	0,1
DKW 2	-	-	0,01	1,5
DKW 3	-	0,01	-	2,0
DKW 4	-	0,05	-	2,5
WPM 1	0,05	-	-	1,0
WPM 2	-	0,1	-	1,5
WPM 3	-	-	0,01	2,0
WPM 4	-	0,01	-	2,5

Кислотність середовища доводили до pH 5,7 і автоклавували за температури 120 °С упродовж 20 хв. під тиском 1,1 кг/см^2.

Досліди — одно- та двохфакторні, закладали в 3-кратній повторності.

3.4 Методика проведення досліджень

Першу серію досліджень було спрямовано на вивчення посттравматичну регенераційну здатність в умовах *in vivo* вивчали за методикою О.А. Опалко (2002) [44]. Для визначення регенераційної здатності в умовах *in vivo* на однорічних пагонах (приростах минулого сезону) робили надрізи спеціальним різцем. Різець виготовляли із сталевої трубки діаметром 3,00 мм, заточивши один її кінець і приробивши до другого кінця дерев'яну ручку. Ним вирізали ділянку периферійних тканин разом з камбіальним шаром так, щоб утворювалась ранка завдовжки 10–12 мм і завширшки 1,5 мм. Для захисту місця поранення від інфекцій та інших неконтрольованих впливів середовища місце надрізу закривали скотчом. За калюсогенезом спостерігали за допомогою лупи. У місці вирізування ділянки периферійних тканин на пагоні формувався калюс. Швидкість процесу калюсоутворення залежить від генотипу досліджуваної рослини і часу проведення операції. Протягом сезону ми робили надрізи, спостерігали за процесом калюсогенезу та оцінювали його інтенсивність за 9-бальною шкалою.

Шкала оцінювання:

- 1 бал — калюс не утворюється або його поверхня не перевищує 5% ранки;
- 2 бали — калюс займає від 5,1 до 12,5% поверхні ранки;
- 3 бали — калюс займає від 12,6 до 25,0% поверхні ранки;
- 4 бали — калюс займає від 25,1 до 37,5% поверхні ранки;
- 5 балів — калюс займає від 37,6 до 50,0% поверхні ранки;
- 6 балів — калюс займає від 50,1 до 62,5% поверхні ранки;
- 7 балів — калюс займає від 62,5 до 75,0% поверхні ранки;
- 8 балів — калюс займає від 75,1 до 87,5% поверхні ранки;
- 9 балів — калюс займає від 87,5 до 100,0% поверхні ранки.

Регенераційний коефіцієнт визначали за формулою:

$$R = \frac{S^2}{n_1 + n_2},$$

де R – регенераційний коефіцієнт;

S – інтенсивність калюсогенезу (бал);

n_1 – кількість діб від поранення до появи перших ознак калюсу;

n_2 – кількість діб від поранення до завершення, або припинення розвитку калюсу.

Розробку технологій мікроклонального розмноження розпочинали з обстеження маточних рослин і підбору типу експланта. Донорні рослини фундука вирощували в умовах розсадника НДП “Софіївка” та колекційній ділянці малопоширених плодових культур кафедри генетики, селекції рослин та біотехнолдогії. За експланти використовували апікальні меристеми висотою 0,5–0,7 мм, які виділяли з верхівкових та пазушних бруньок однорічних пагонів, та гібридне насіння власної селекції.

При відпрацюванні технології з мікроклонального розмноження селекційного матеріалу керувались загальними принципами та методиками роботи з культурами рослинних тканин, розробленими Р.Г. Бутенко (1989) [45], В.В. Калініним, В.В. Сарнацькою, В.Е. Поліщуком (1980) [46]. Для стерилізації рослинних матеріалів при введенні в культуру *in vitro* використовували водні розчини дихлориду ртуті (сулеми) 0,1 %, нітрату срібла 1 % та мертиолята натрію 0,1 % з різними експозиціями та обов’язковим додаванням 1–2 краплі Твину-80 для ефективнішої дії стерилізатора. Стерелізований рослинний матеріал висаджували на живильні середовища і вирощували при 16-годинному фотоперіоді з інтенсивністю освітлення 2 кЛк, температурному режимі 20–24^{0}С та відносній вологості повітря 75%. Тривалість одного пасажу становила 30–35 днів. На кожному етапі мікроклонального розмноження (введення рослинного матеріалу в культуру *in vitro*, розмноження, ризогенез) вивчали склад живильного середовища та його фітогормональну оптимізацію. В основу живильного субстрату входили макро- і мікроелементи за прописами Драйвера і Куніюкі (DKW) та Ллойда і Мак Коуна (WPM), що містили глюкозу та/або

сахарозу та 7–8 г/л агар-агару [47] (додаток А). Модифікували живильні середовища цитокінінами (6-бензиламінопурин (БАП), ауксинами (α-нафтилоцитова кислота (НОК), β-індолилмасляна кислота (ІМК), β-індолилоцитова кислота (ІОК) (додаток Б. 1, Б. 2, Б. 3).

Статистичну обробку результатів досліджень виконували методами дисперсійного, кореляційного та регресійного аналізу згідно рекомендацій Г.М. Зайцева (1981, 1984) [48, 49], В.О. Єщенка, з співавторами (2005) [50] з використанням прикладної програми «Statistica–6».

РОЗДІЛ 4.
РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Останнім часом у селекціонерів зростає інтерес до багатьох цінних малопоширених рослин. У зв’язку з тим, що вони не повністю відселектовані, а природне різноманіття ще далеко не вичерпано, необхідності у методах мутагенезу і поліплоїдії немає. Однак методи прискореного розмноження можуть стати перспективними в майбутньому. Важливим показником для планування строків вегетативного розмноження є регенераційний коефіцієнт, що вивчається в умовах *in vivo* [19].

4.1 Регенераційна здатність в умовах *in vivo*

Регенерація — відновлення цілісності травмованого організму (гоєння ран, відновлення втрачених органів) і його функцій.

Відомо, що регенераційні процеси відбуваються залежно філогенетичних особливостей, які у найбільш концентрованому вигляді можуть бути узагальнені в спадковості (генотипі) кожного виду, різновиду, форми чи сорту та онтогенетичних особливостей конкретної особини, її фізіологічного стану, а також ендогенних й екзогенних чинників [31].

Механічні травми, так само, як і інші місцеві пошкодження, супроводжують усі рослини, а особливо багаторічні, впродовж усього життя. Тому в процесі еволюції у них виробились механізми пристосування, захисту від травм, тобто здатність до гоєння. Спроможність рослини загоювати рани, які виникають при травмуванні її органів, оцінюють за їхнім регенераційним потенціалом [29].

Регенераційна здатність пагонів фундука залежить від віку маточних рослин. За даними досліджень І.С. Косенка [51] пагони, заготовлені з п’ятирічних рослин ліщини, заживали у 12–20 разів краще, ніж із 40-річних. У дослідах з фундуком найкращу регенераційну здатність показали однорічні пагони.

У наших дослідах вивчалась здатність до посттравматичної регенерації фундука *Corylus* L. Регенераційну здатність оцінювали за темпами і якістю заростання штучно виконаних надрізів на однорічних пагонах за методикою О.А. Опалка. Для цього на однорічних приростах минулого року протягом сезону робили надрізи завдовжки 10–12 мм і завширшки 1,5 мм.

Встановлено, що швидкість процесу формування калюсу залежала від генотипу досліджуваної рослини та строку проведення операції поранення (таблиці 5 і 6).

Таблиця 5

Динаміка регенераційного потенціалу сортів фундука у 2023 році

Дата поранення	Клиновидний	Шоколадний
18.03	0,31	0,54
28.03	0,98	0,78
8.04	1,56	1,76
18.04	1,38	1,58
27.04	1,23	1,63
6.05	2,07	2,09
16.05	2,18	2,34
28.05	2,02	2,45
8.06	2,13	3,52
18.06	2,73	3,18
28.06	2,32	2,53
10.07	0,93	1,89
21.07	1,37	1,43
1.08	1,63	1,72
11.08	1,98	1,84
21.08	1,95	2,25
3.09	0,21	0,09
16.09	0,02	0,02
26.09	0	0
6.10	0	0
Середнє	*1,35*	*1,58*

Протягом вегетації усі досліджені генотипи проявили підвищений регенераційний потенціал у період з травня по серпень.

Таблиця 6

Динаміка регенераційного потенціалу сортів фундука у 2024 році

Дата поранення	Клиновидний	Шоколадний
18.03	0,43	0,17
28.03	0,21	0,79
8.04	1,47	1,89
18.04	1,54	2,05
27.04	1,75	2,22
6.05	1,92	2,38
16.05	2,15	2,45
28.05	2,48	2,90
8.06	2,87	3,63
18.06	2,63	1,50
28.06	2,55	1,34
10.07	1,31	1,87
21.07	1,24	1,69
1.08	2,61	2,60
11.08	2,76	2,53
21.08	1,07	1,73
3.09	0,61	0,20
16.09	0,20	0,27
26.09	0,04	0,02
6.10	0	0,01
Середнє	1,49	1,61

При цьому показники регенерації підвищувалися у декілька хвиль. В першому варіанті (сорт Клиновидний) піки регенерації припадали на 16.05., 18.06. і 11.08. і коефіцієнти калюсоутворення становили відповідно 2,18, 2,73 і 1,98. В другому варіанті (сорт Шоколадний) максимуми коефіцієнтів регенерації спостерігалися 8.06. і 21.08. та становили відповідно 3,52 і 2,25. Середні значення регенераційного потенціалу у першому і другому варіантах складали 1,35 і 1,58 відповідно. У березні–квітні відбувалось поступове

зростання показників регенераційного потенціалу, а з вересня — зменшення аж до повного припинення регенераційних процесів.

У 2024 році підвищений регенераційний потенціал спостерігався в першому варіанті з травня, а в другому з квітня, але як і в попередньому році його можна було спостерігати до серпня. Показники регенерації також підвищувалися у декілька хвиль. В обох варіантах піки регенерації припадали на початок червня і I–II декаду серпня і складали у першому варіанті 2,87 і 2,76 та у другому варіанті 3,63 і 2,60 відповідно. Середній показник регенерації у першому варіанті становив 1,49, а у другому — 1,61.

Схоже до попереднього року показники коефіцієнта регенерації поступово збільшувалися на протязі березня–квітня і з вересня зменшувалися аж до повного припинення регенерації.

Порівнюючи дані за два роки можна стверджувати, що найбільший регенераційний потенціал у сортів фундука спостерігається у червні і серпні. Судячи з цих даних саме в цей період найкраще відбирати вихідний матеріал з маточних рослин для розмноження в умовах *in vitro*.

4.2 Регенераційна здатність в умовах *in vitro*

На відміну від трав’янистих рослин чагарники і дерева в культурі *in vitro* розмножуються зі значно більшими труднощами. Однак не зважаючи на це регенераційна здатність фундука є досить високою. Вона залежить від багатьох факторів: вибору маточної рослини, вибору експлантат, стерилізації, правильного введення в культуру вкорінювання і ін. Після підбору вихідного матеріалу етапи введення у культуру і розмноження значно впливають на процес регенерації [35].

4.2.1 Введення в культуру *in vitro*

Одним з перших етапів введення в культуру є стерилізація вихідного матеріалу перед тим, як він буде розміщений на живильне середовище. На поверхні вегетуючої рослини і її частин, пагонів, бруньок, проростків та інших

джерел експлантів, знаходиться велика кількість різноманітних мікроорганізмів. Ці мікроорганізми здатні рости і розмножуватись на живильному середовищі. В процесі свого росту і розвитку гриби і бактерії не тільки поглинають поживні речовини живильного середовища, а також гальмують ростові процеси в експлантах і в наступному, якщо рослина не загинула, всі біологічні процеси рослини. Тому стерилізація експлантів повинна бути виконана якомога якісніше.

При введенні живців фундука в культуру *in vitro* вихід стерильних експлантів залежав не тільки від експозиції, а й від стерилізаторів (табл. 7).

Таблиця 7

Ефективність стерилізації експлантів залежно від форми стерилізатора та експозиції

Стерилізатор і концентрація	Експозиція, хв	Отримано експлантів, %	
		стерильних	життєздатних
Гіпохлорид натрію (NaOCl), 5%	3	10,03	8,21
	5	26,23	23,34
	8	78,85	70,63
	10	89,75	38,48
Дихлорид ртуті ($HgCl_2$), 0,1%	3	9,36	5,47
	5	38,12	11,36
	8	46,56	25,78
	10	65,56	13,52
Нітрат срібла ($AgNO_3$), 1,0%	3	15,3	13,83
	5	35,55	28,39
	8	58,49	16,43
	10	92,03	29,62
$HIP_{0,5}$		*4,3*	*3,9*

За результатами стерилізації ми бачимо, що найбільше стерильних рослин отримано при використанні стерилізаторів гіпохлорид натрію (NaOCl) і нітрат срібла (AgNO3) за експозиції 10 хв. (відповідно 89,75% і 92,03%), але життєздатних з них було у першому варіанті 38,48%, у другому — 29,62%. Найбільший вихід життєздатних рослин був при стерилізації гіпохлорид натрію (NaOCl) за експозиції 8 хв. і становив 70,63%. При цьому стерильних рослин було 78,85%.

Найгірше як стерилізатор себе проявив дихлорид ртуті (HgCl2). Хоча показник стерильних рослин за експозиції 10 хв. і був досить високим – 65,56%, але життєздатних з них було лише 13,52%.

Після стерилізації експлантів проводять безпосередньо введення в культуру.

Розвиток меристем, експресія або пригнічення тотипотентності значною мірою залежали від умов, у які експланти потрапляли in vitro. Серед них найважливішими фізичними факторами є освітлення, температурний режим, вологість. У наших дослідженнях кращі результати були, коли після стерилізації рослинний матеріал висаджували на живильне середовище і культивували при температурі 24–26°С, 16-ти годинному фотоперіоді з інтенсивністю освітлення 3000-5000 люксів і відносній вологості 75%.

Вивчення і підбір фізичних умов вирощування рослин in vitro є важливим етапом роботи, проте основним і найскладнішим залишається підбір компонентів живильного середовища, концентрації та співвідношення регуляторів росту у їх складі, які і визначають напрями розвитку введеного біоматеріалу.

Для введення в культуру як основу використовували середовища DKW і WPM з обов'язковим підбором оптимальної концентрації гормонів.

При створенні живильного середовища враховували те, що живці будуть культивуватись не більше семи діб. В кращому випадку їх пересаджували на інше живильне середовищ, у гіршому їх вибраковували з досліду. В більшості випадків вибраковували ті, що були не стерильними або ж не життєздатними.

Для введення в культуру використовують живці довжиною близько 2–3 см (з однією пазушною брунькою кожен). Їх розміщують у пробірки з живильним середовищем, які вставляють у спеціальні штативи і переносять у культуральну кімнату (рис 7).



Рис. 7. Пробірки з введеними у культуру живцями фундука в культуральній кімнаті

Саме там за певних умов пробуджуються бруньки і дають початок мікропагону. Але і це ще не все. Після того, як мікропагін досягає завдовжки 3–4 см обов'язково проводили тестування на відсутність бактеріальної інфекції. Це проводять на середовищі ДПГА (дріжджі, пептон глюкоза агар).

Саме після введення рослин в культуру відбирають оздоровлений і достатньо розвинений матеріал для подальшого його розмноження.

4.2.2 Розмноження фундука в культурі

Для подальшого розмноження перевірений матеріал (пробірки з мікроживцями) переносять у спеціальну ламінарну шафу із стерильними умовами для роботи, у якій мікроживці клонують і розсаджують на свіжі середовища. Як експланти використовували живці, які одержували при розділенні основного пагону меристемних рослин на фрагменти довжиною 10–

15 мм з однією-двома бруньками та відокремленні додаткових пагонів довжиною 10–15 мм з однією-двома бруньками.

Для проліферації було використано по чотири модифікації тих же середовищ, які використовувалися при введенні в культуру, а саме DKW і WPM. Такі середовища використовувалися для прискорення розмноження мікроживців. Один раз на 4-5 тижнів новоутворені мікроживці повторно клонувалися і розсаджувалися на свіже середовище до одержання бажаної кількості.

У наших дослідах було випробувано різні поєднання фітогормонів, які відіграють основну роль у регуляції росту рослин.

Коефіцієнти розмноження фундука в усіх модифікаціях середовищ наведені в таблиці 8.

Таблиця 8

Коефіцієнт розмноження сортів фундука залежно від живильного середовища

Вид	Модифіковані живильні середовища							
	DKW				WPM			
	1	2	3	4	1	2	3	4
Клиновидний	1,6	1,5	2,6	3,8	1,8	2,7	3,6	4,3
Шоколадний	2,4	2,6	3,5	3,8	2,0	5,1	4,7	3,0

За результатами досліджень можна стверджувати, що кращі коефіцієнти розмноження показав сорт Шоколадний порівняно з Клиновидним. В загальному по середовищах кращі показники були у четвертої модифікації DKW для обох сортів — 3,8, четвертої модифікації WPM для сорту Клиновидний — 4,3 і другої та третьої модифікацій WPM для сорту Шоколадний — 5,1 і 4,7 відповідно. Інші варіанти середовищ показали дещо нижчі коефіцієнти розмноження. Найвищий коефіцієнт був зафіксований у сорту фундука Шоколадний на середовищі WPM2 і становив 5,1.

Отже, розмноження мікроживців найкраще проводити на живильних середовищах *WPM2* і *WPM4*, адже саме вони показали найвищі коефіцієнти регенерації фундука в умовах *in vitro*.

РОЗДІЛ 5.
ОХОРОНА ПРАЦІ ТА НАВКОЛИШНЬОГО СЕРЕДОВИЩА

В сучасних умовах, коли широко впроваджуються нові технології та нові технічні засоби механізації виробничих процесів, індустріальні технології виробництва сільськогосподарської продукції, використовують новітні біотехнологічні методи, особливого значення набула проблема охорони праці.

Охорона праці — це система правових, соціально-економічних, організаційно-технічних, санітарно-гігієнічних і лікувально-профілактичних заходів та засобів, спрямованих на збереження життя, здоров'я і працездатності людини у процесі трудової діяльності [52].

Законодавча база охорони праці України налічує ряд законів, основними з яких є Закон України «Про охорону праці» та Кодекс законів про працю (КЗпП). До законодавчої бази належать також закони України: «Про загальнообов’язкове соціальне страхування від нещасних випадків на виробництві та професійних захворювань, які спричинили втрату працездатності», «Про охорону здоров’я» і «Про загальнообов’язкове соціальне страхування у зв’язку з тимчасовою втратою працездатності та витратами, зумовленими народженням та похованням». Їх доповнюють державні міжгалузеві й галузеві акти — це стандарти, інструкції, правила, норми, положення, статути та інші документи, яким надано чинність правових норм, обов’язкових для виконання усіма установами і працівниками України [53].

Безпека робіт в лабораторіях мікробіологічного профілю (далі лабораторії) повинна забезпечуватись відповідно до вимог ГОСТ 12.3.00275, 12.1.008–76. ДСП №9.9.5.035.99, цих правил та інших чинних нормативних актів [54].

При виконанні робіт в лабораторії на працюючих можуть впливати небезпечні та шкідливі виробничі фактори:

- біологічні (мікроорганізми: бактерії, віруси, рикетсії, спірохети, хламідії, гриби; гельмінти, найпростіші та ін., а також продукти їх

життєдіяльності; макроорганізми: тварини, людина і продукти їх життєдіяльності; культури клітин і тканин, генетичні фрагменти, діагностичні препарати, тощо);

- хімічні (реактиви, дезінфекційні засоби, канцерогенні, подразнюючі, сенсибілізуючі, мутагенні, алергенні та інші речовини);
- механічні: виробниче обладнання (обладнання, що працює під тиском, центрифуги, лабораторне скло, ріжучий, колючий інструментарій, гострі краї, задирки та ін.);
- фізичні (електричний струм, ультрафіолетове, електромагнітне випромінювання, недостатня освітленість, відхилення вологості і температури робочої зони від встановлених норм, підвищена (занижена) рухомість повітря, підвищений вміст шкідливих речовин у повітрі робочої зони, підвищений шум, гаряча вода та пара);
- людські (нервово-психічні, фізичні (перевантаження персоналу), акти вандалізму та ін);
- пожежонебезпека.

Для запобігання нещасним випадкам під час роботи в лабораторії всі працівники повинні обов’язково дотримуватись правил охорони праці і проводити профілактичні заходи для їх попередження.

Рівні концентрацій шкідливих виробничих факторів повинні відповідати чинним санітарним нормам, лабораторія — забезпечена водопроводом, каналізацією, електрикою, засобами зв'язку, вентиляцією, опаленням, газифікована.

При роботі з культурами мікроорганізмів, та в усіх інших випадках, пов'язаних з їх зберіганням і рухом в межах та поза межами лабораторії, працівники повинні керуватися « Положенням про порядок обліку, зберігання, обігу, відпуску та пересилки культур бактерій, вірусів, рикетсій, грибів, найпростіших, мікоплазм, бактерійних токсинів біологічного походження».

Особливими повинні бути також вимоги до приміщення лабораторії. Поверхня стін у лабораторних приміщеннях повинна бути водостійкою, легко

митися; на висоту 1,5 м стіни облицовують глазурованою плиткою або фарбують олійною фарбою світлих тонів; у автоклавних, боксах, віварії — на всю висоту — світлою глазурованою плиткою або іншими облицювальними матеріалами, дозволеними МОЗ України для цієї мети. Підлога в лабораторних приміщеннях має бути гладкою, легко митися, стійка до дії деззасобів, при цьому покриття не повинно бути слизьким. Лінолеумні покриття не повинні мати дефектів (щілини, тріщини, дірки, тощо). Шви листків лінолеуму, що прилягають один до одного, повинні бути ретельно пропаяні. Стики опорядження стін, підлоги, стелі повинні мати закруглення (галтелі) для зручності санітарної обробки та прибирання. Підвісні стелі повинні бути герметичними. При цьому конструкція підвісної стелі повинна забезпечувати можливість її прибирання, очищення, дезінфекції. Ширина основних проходів до робочих місць або між двома рядами обладнання має бути не менше 1,5 м з урахуванням виступаючих конструкцій. Двері всіх виробничих приміщень повинні бути гладкими, без виступів. Вікна і двері приміщень "заразної" зони повинні бути герметичними [54].

Бокс для досліджень повинен бути з двох відділень: бокс і передбоксник, відділені скляною перегородкою. Передбоксник призначається для одягання стерильного одягу і проведення допоміжних робіт. В ньому розміщують медичну шафу для зберігання стерильного матеріалу та шафу для спецодягу. Бокси обладнують припливно-витяжною вентиляцією, в них подається стерильне повітря, що проходить через бактеріальні фільтри. Місця роботи з мікробіологічним матеріалом обладнують ультрафіолетовими лампами. Вимикачі їх повинні знаходитися поза боксом і передбоксником. Знаходитися в приміщенні під час роботи ультрафіолетових ламп забороняється.

Персонал лабораторій забезпечується медичними халатами, шапочками, змінним взуттям та іншими засобами індивідуального захисту залежно від характеру робіт, що виконуються, згідно діючих галузевих норм. Спеціальний одяг, взуття та інші засоби індивідуального захисту повинні відповідати

характеру та умовам роботи, забезпечувати безпеку праці, підбиратися індивідуально для кожного працівника, закріплюватися за ним і зберігатися окремо від особистого одягу. Спеціальний одяг підбирається таким чином, щоб краї подолу та рукавів повністю закривали власний одяг. Взуття повинно бути з таких матеріалів, що легко миється та обробляється. Забороняється носити взуття із тканини та з відкритим носком. Зміна робочого одягу повинна проводитись в міру забруднення, але не рідше ніж 1 раз на тиждень. Для роботи в боксі, крім основного спецодягу, необхідно мати стерильний комплект: халат, шапочку, маску, гумові рукавички, бахіли, які зберігаються у передбокснику. Оптимальним є використання одноразового стерильного одягу [54].

Зберігання хімічних реактивів здійснюють згідно методичних вказівок №2684-73.

Особи, які не досягли 18-річного віку, а також вагітні до роботи не допускаються. Працівники, які мають безпосереднє відношення до експлуатації автоклавів або балонів із стиснутим або скрапленим газами, повинні пройти підготовку і мати посвідчення про допуск їх до роботи з автоклавами (балонами). Навчання та атестація персоналу, який обслуговує посудини, що працюють під тиском, проводяться у професійно-технічних училищах, учбово-курсових комбінатах (курсах) або на спеціальних курсах, створених за узгодженням з місцевими органами Держнаглядохоронпраці. Індивідуальна підготовка не допускається [55, 56].

Відповідальність за організацію та додержання біологічної безпеки в установі несе керівник, а в підрозділах — їх завідувачі (керівники). Контроль за виконанням вимог даних правил покладається на заступника керівника установи [55, 56].

Відповідно до Закону України «Про охорону праці» керівник установи (власник) зобов'язаний забезпечити:

- дотримання правил чинного законодавства, з питань охорони праці, техніки безпеки, протиепідемічного режиму та виробничої санітарії, створення безпечних умов праці у цілому по установі і в лабораторіях;

- складання планів (узгоджень) на проведення заходів з охорони праці, протиепідемічного режиму, техніки безпеки та виробничої санітарії і контроль за їх виконанням і звітністю;
- здійснення контролю за підготовкою та виконанням працівниками лабораторій правил та інструкцій з протиепідемічного режиму і техніки безпеки;
- проведення передбачених чинним законодавством обов'язкових попередніх та періодичних медичних оглядів працівників;
- забезпечення працюючих спецодягом, спецвзуттям, засобами індивідуального захисту, спецхарчуванням, дезінфікуючими та миючими засобами у відповідності до затверджених норм;
- своєчасне розслідування та облік нещасних випадків і професійних захворювань в лабораторіях відповідно до "Положення про порядок розслідування та ведення обліку нещасних випадків, професійних захворювань і аварій на виробництві", затв. Постановою Кабінету Міністрів України від 30.11.11, №1232.

На завідуючого (керівника) лабораторії покладається:

- контроль за дотриманням працівниками лабораторії правил охорони праці, біологічної та пожежної безпеки і прийняття заходів до порушників згаданих правил (через керівника установи);
- розробка і забезпечення робочих місць відповідними інструкціями та правилами, що визначають безпеку роботи;
- систематичне проведення на робочому місці інструктажу з працюючими щодо безпечних методів роботи;
- створення умов безпечної експлуатації лабораторного обладнання, заборона роботи на несправному або не оснащеному пристроями, що забезпечують безпечність роботи, обладнанні;
- організація та проведення систематичного профілактичного огляду, ремонту обладнання лабораторії з реєстрацією;

- контроль за безпечним отриманням, транспортуванням, зберіганням, видачею біологічного матеріалу, сильнодіючих отруйних хімічних речовин, концентрованих кислот та лугів;
- своєчасне розслідування (протягом 24 годин) обставин та причин нещасних випадків, що мали місце в лабораторії, вживання заходів щодо попередження виробничого травматизму та професійних отруєнь і захворювань;
- недопущення до роботи осіб, які не пройшли відповідної підготовки та інструктажу і не мають (або мають прострочені) посвідчення про допуск до роботи, а також осіб, які не пройшли медичний огляд; контроль за правильним застосуванням, зберіганням, пранням та ремонтом спеціального (захисного) одягу і спецвзуття;
- контроль наявності укомплектованої аптечки першої медичної допомоги.

Для того, щоб підвищити рівень роботи і усунути недоліки та покращити умови праці необхідно:

1. Відновити техніку, щоб підвищити її надійність;
2. Після проведення інструктажів організувати перевірку знань працівників;
3. Організувати зберігання спецодягу і засобів індивідуального захисту в легкодоступних місцях і у достатній кількості;
4. Провести атестацію умов праці з метою виявлення показника шкідливості роботи для виплати грошової компенсації за шкідливі умови;
5. Покращити якість харчування та умови відпочинку в зв’язку з складними умовами праці;
6. Посилити контроль за дотриманням правил безпеки праці працівниками під час проведення робіт в біотехнологічній лабораторії.

ВИСНОВКИ ТА РЕКОМЕНДАЦІЇ СЕЛЕКЦІЙНІЙ ПРАКТИЦІ

1. Мікроклональне розмноження фундука *Corylus* L. є досить перспективним у наш час. І дивлячись на результати наших дослідів на протязі 2023–2024 рр. можна стверджувати, що такий спосіб розмноження здатний забезпечити сучасну промисловість з вирощування продукції горіхівництва якісним посадковим матеріалом фундука у достатній кількості.

2. Найкращим періодом для відбору вихідного матеріалу для розмноження *in vitro* є червень і серпень, оскільки саме в цей час коефіцієнти калюсоутворення були найвищими — від 2,18 до 3,63.

3. Для стерилізації експлантів потрібно використовувати 5%-й розчин гіпохлорид натрію (*NaOCl*), адже за результатами наших досліджень саме він дає найбільшу кількість життєздатних стерильних експлантів — 70,63%.

4. Для розмноження сорту фундука Клиновидний доцільно використовувати модифіковане нами живильне середовище WPM_4 з додаванням 0,01 мг/л ІМК і 2,5 мг/л 6-БАП, при чому коефіцієнт розмноження становив — 4,3.

5. Найбільший коефіцієнт розмноження для сорту Шоколадний — на WPM_2 з додаванням 0,1 мг/л ІМК і 1,5 мг/л 6-БАП — складає 5,1.

Для успішного культивування в культурі *in vitro* фундука сорту Клиновидний та Шоколадний потрібно:

- введення в культуру проводити у червні і серпні місяцях, коли відбувається активний ріст пагонів;
- контролювати концентрацію стерилізатора і експозицію стерилізації;
- за основу використовувати базові живильні середовища Драйвера-Коньюкі і Лойда і Маккоуна.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Косенко І.С. Фундук: прикладна генетика, селекція, технологія розмноження і виробництва / І.С. Косенко, А.І.Опалко, О.А.Опалко. — Київ: Наук. думка, 2008. — 256 с.

2. Косенко І.С. Ліщини в Україні / І.С. Косенко. — К.: Академперіодика, 2002. — 266 с.

3. Михалець О.В. Фундук/О. Михалець, Л. Михалець // Огородник. — 2010. — № 8. — С. 23–24.

4. Поздняк В. Чтобы быть с орехами / В. Поздняк // Фермерське господарство. — 2013. — № 19. — С. 16.

5. Волков В. Фундук /В. Волков, Н. Волкова // Настоящий хозяин. — 2007. — № 7–8. — С. 27–28.

6. Чопик В.И. Дикорастущие полезные растения Украины. Справочник / В.И. Чопик, Л.Г. Дудченко, А.Н. Краснова. — Київ: Наукова думка, 2005. — 400 с.

7. Кірмікчій П.Г. Фундук в Україні / П.Г. Кірмікчій // Сад, виноград і вино України. — 2002. — № 11. – С. 88.

8. Моргун О.В. Господарсько-біологічна оцінка нових сортів фундука в умовах північного Лісостепу України: Автореф. дис. на здобуття наук. ступеня кандидата с.–г. наук / В. Моргун. — К., 2006. — 20 с.

9. Бублик М.О. Особливості розмноження фундука в умовах Лісостепу України / М.О. Бублик, О.В. Моргун, Н.В. Шевчук // Садівництво: міжвід. темат. наук. зб. Інституту садівництва УНААН. — 2002. — Вип. 54. — С. 266–272.

10. Косенко І.С. Специфічність біології цвітіння і запліднення фундука / І.С. Косенко, А.І. Опалко // Матер. міжнар. наук. конф., присвяченої 210–річчю НДП «Софіївка». — К.: Академперіодика, 2006. — С. 402–408.

11. Семенов В. Особенности выращивания фундука / В. Семенов // Фермерське господарство. — 2011. — № 44. — С. 9.

12. Моргун О.В. Ростові процеси фундука в умовах північного Лісостепу / О.В. Моргун // Вісник аграрної науки. — 2010. — № 8. — С.26–30.

13. Мазур П. Болезни и вредители грецкого ореха и фундука / П. Мазур// Нескучный сад. — 2010. — № 11. — С. 34–36.

14. Ментух О. Шкідники і хвороби фундука / О. Ментух // Вісник Львівського державного аграрного університету: агрономія. — 2001. — № 5. — С. 330–334.

15. Кириченко І. У пошуках своїх «золотих горішків» / І. Кириченко // Земля моя кормилица. — 2014. — № 3(733). — С. 7.

16. Аль–Бадарат Омар Екологічні основи захисту фундука та ліщини від пошкодження комахами: Автореф. дис. на здобуття наук. ступеня кандидата с.–г. наук / Аль–Бадарат Омар. — Харків, 2004. — 20 с.

17. Івченко Т.В. Новітні біотехнології — неймовірні можливості / Т.В. Івченко, В.П. Мірошниченко // Агровісник Україна. — 2007. — № 1. — С. 80–82.

18. Приставський М.С. Мікроклональне розмноження рослин *in vitro* / М.С. Приставський // Дім, сад, город. — 2010. — № 11. — С. 33–34.

19. Кушнір Г.П. Мікроклональне розмноження рослин / Г.П. Кушнір, В.В. Сарнацька. — К.: Наукова думка, 2005. — 267 с.

20. Россихин В.В. Биотехнология — введение в науку будущого / В.В. Россихин. — Х.: Колорит, 2005. — 288 с.

21. Самаріна І. Горіхівництво — філософія та бізнес / І. Самаріна // Агробізне сьогодні. — 2012. — № 9. — С. 27–37.

22. Корнацкий С.А. Клональное размножение может быть рентабельным / С.А. Корнацкий // Достижения науки и техники АПК. — 2004. — № 4. — С.20–21.

23. Пристанський М. *in vitro* — технологія сучасного агробізнесу / М. Пристанський // Пропозиція. — 2015. — № 5. — С. 56–58.

24. Наукове забезпечення сталого розвитку сільського господарства в Лісостепу України: в 2–х т. Т. 1 / Кабінет Міністрів України, Національний аграрний університет України; Редкол.: Відп. ред. Д.О. Мельничук; Редкол.: І.Г. Кириленко, С.М. Рижук. — Київ: Алефа, 2003. — 885 с.

25. Копань І.П. Результати і перспективи селекції плодових і ягідних культур в Інституті садівництва УНААН / [В.П.Копань, К.М. Копань, О.М. Ярещенко та ін.] // Сад, виноград і вино України. — 2005. — № 6–7. — С.12–31.

26. Моргун О.В. Фундук в умовах Лісостепу України / О.В. Моргун, М.О. Бублик // Зб. наук. пр. Уманського національного університету садівництва. — Умань, 2010. — Вип. 74. — С. 330 — 341.

27. Косенко И.С. Вопросы генетики самонесовместимости *Corylus* L. / И.С. Косенко, А И. Опалко // Матер. междур. науч. конф., посвященной 165–летию Сухумского ботанического сада и 110–летию Сухумского субтропического дендропарка Института ботаники АН Абхазии. — Сухум, 2006. — С.267–269.

28. Лоай Сахіб Рахді Аль Маршді Розмноження, ріст і плодоношення фундука в Лівобережному Степу України: Автореф. дис. на здобуття наук. ступеня кандидата с.–г. наук / Лоай Сахіб Рахді Аль Маршді. — Умань, 2014. — 19 с.

29. Селекція плодових і овочевих культур / [А.І. Опалко, А.О. Яценко, О.А. Опалко та ін.]; За ред. А.І. Опалка. — К.: Науковий світ, 2004. — 307 с.

30. Гібайло В.М. Фундук. Технологія вирощування / В.М. Гібайло, Н.А. Москаленко // Фермерське господарство. — 2013. — № 19. — С. 16.

31. Косенко І.С. Перспективи мікроклонального розмноження представників роду *Corylus* L. / І.С. Косенко, А.І. Опалко // Зб. наук. пр. Українського товариства генет. і селекц. ім. М. Вавилова. — К.: Логос, 2007. — Т. 2. — С. 512–516.

32. Косенко І С. Найважливіші досягнення у науковій роботі національного дендрологічного парку «Софіївка» НАН України у 2010 році / І.С. Косенко // Автохтонні та інтродуковані рослини: Зб. наук. пр. НДП «Софіївка» НАН України. — 2010. — Вип. 6. — С. 33 — 41.

33. Шевченко І. Біолабораторія, де продукують «зелений» потенціал України [про лабораторію фітовірусології та біотехнологій НАУ] / І. Шевченко// Сільський час. — 2004. — № 29. — С. 1–5.

34. Опалко О.А. Ефективність ростових речовин для укорінення стеблових живців малопоширених плодових рослин / О.А. Опалко, А.О. Балабак // Зб. наук. пр. Уманського державного аграрного університету. — 2001. — Вип. 51. — С. 151–154.

35. Косенко І.С. Удосконалення способів мікроклонального розмноження *Corylus colurna* L. / І.С. Косенко, А.І. Опалко, М.В. Небиков // Автохтонні та інтродуковані рослини: Зб. наук. пр. НДП «Софіївка» НАН України. — 2009. — Вип. 5. — С. 119–126.

36. Грибало В.М. Біологічні особливості сортів фундука в Лісостепу України / В.М. Грибало // Зб. наук. пр. Уманського державного аграрного університету. —2008. — Вип. 67, Ч. 1. — С. 256–261.

37. Грибало В.М. Екологічно пристосовані сорти фундука (*Corylus* L.) для Лісостепу України / В.М. Грибало // Садівництво: міжвід. темат. наук. зб. Інституту садівництва УНААН. — 2008. — Вип. 56. — С. 58–65.

38. Косенко І.С. Динаміка роду *Corylus* L. Як підтвердження закону М.І. Вавилова про гомологічні ряди у спадковій мінливості / І.С. Косенко, А.І. Опалко // Матер. міжнар. наук. конф., присвяченої 120–річчю з дня народження академіка М.І. Вавилова. — К.: Фітоцентр, 2007. — С. 70–74.

39. Сергієнко М.В. Специфічність пагоноутворення *in vitro* у представників роду *Corylus* L. / М.В. Сергієнко // Автохтонні та інтродуковані рослини: Зб. наук. пр. НДП «Софіївка» НАН України. — 2010. — Вип. 4. — С. 98–117.

40. Пічний М.Ю. Фундук — окультурена ліщина / П.Ю. Пічний // Дім, сад, город. — 2006. — № 8. — С. 12.

41. Надточій І.П. Розмноження фундука / І.П. Надточій // Дім, сад, город. — 2004. — № 8 С. 14–15.

42. Постригань В.С. Агрометеорологічний огляд по території Черкаської області за 2012–2013 сільськогосподарський рік / В.С. Постригань, Т.В. Базаєва. – Черкаський обласний центр з гідрометеорології, 2013. – 41 с.

43. Постригань В.С. Агрометеорологічний огляд по території Черкаської області за 2013–2014 сільськогосподарський рік / В.С. Постригань, Т.В. Базаєва. – Черкаський обласний центр з гідрометеорології, 2014. – 42 с.

44. Опалко О.А. Динаміка регенераційного потенціалу яблуні / О.А. Опалко // Зб. наук. пр. Уманського державного аграрного університету. — 2002. — Вип. 55. — С. 182–188.

45. Бутенко Р.Г. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнологии на их основе / Р.Г. Бутенко. — М.: ФБК-Пресс, 1999. — 160 с.

46. Калинин Ф.Л. Методы культуры тканей в физиологии и биохимии растеней / Ф.Л. Калинин, Л.А. Сарнацька, К.П. Полищук. — К.: Накова думка, 1980. — 488 с.

47. Mosyakin S.L. Vascular plants of Ukraine. / S.L. Mosyakin, M.M. Fedoronchuk // A nomenclatural checklist. — Kyiv. — 1999. — 345 p.

48. Зайцев Г.Н. Математическая статистика в экспериментальной ботанике / Г.Н. Зайцев. — М.: Наука, 1984. — 424 с.

49. Зайцев Г.Н. Фенология древесных растений / Г.Н. Зайцев. — М.: Наука, 1984. — 120 с.

50. Основи наукових досліджень в агрономії: [Підручник] / В.О. Єщенко, П.Г. Копитко, В.П. Опришко, П.В. Костогриз. — К.: Дія, 2005. — 286 с.

51. Косенко І.С. Неморфогенна регенераційна здатність представників роду *Corylus* L. / І.С. Косенко, О.А. Опалко, Н.В. Горобець // Зб. наук. пр.

Українського товариства генет. і селекц. ім. М. Вавилова. — К.: Логос, 2008. — Т. 5. — С. 74–78.

52. Пістун І.П. Охорона праці в галузі сільського господарства / І.П. Пістун, А.П. Березовецький, С.А. Березовецький. — Суми: ВТД «Університетська книга», 2009. — 369с.

53. Васильчук М.В. Збірник нормативних документів з безпеки життєдіяльності / [упоряд.: М.В.Васильчук, Н.У. Дубова]. — К.: Основа, 2004. — 880 с.

54. Марчишина Є. нові правила охорони праці у лабораторіях, де проводять дослідження з використанням хімічних речовин / Є. Марчишина, В. Мельник, Р. Гайдученко // Безпека праці. — 2013 — № 9(130). — С. 26–29.

55. Даньків Й. Охорона праці на підприємстві / Й. Даньків, М. Остап'юк, В. Даньків // Бухгалтерський облік і аудит. — 2013. — № 6. — С. 47–51.

56. Гогіташвіллі Г.Г. Основи охорони праці / Г.Г. Гогіташвіллі, В.М. Лапін. — К.: Знання, 2008. — 302 с.

ДОДАТКИ

Додаток А
Склад базових живильних середовищ

Елемент середовища	DKW, мг/л	WPM, мг/л
Макроелементи		
NH_4NO_3	1416,0	400,0
$(NH_4)_2SO_4$	–	–
KNO_3	–	–
$CaCl_2 \times 2H_2O$	149,0	72,5
$MgSO_4 \times 7H_2O$	740,0	180,5
KH_2PO_4	265,0	170,0
$Ca(NO_3)_2 \times 4H_2O$	196,9	386,8
K_2SO_4	155,9	990,0
$FeSO_4 \times 7H_2O$	33,8	–
$Na_2EDTA \times 2H_2O$	45,4	–
FeNaEDTA	–	36,7
Мікроелементи		
H_3BO_3	4,0	6,2
$MnSO_4 \times 4H_2O$	33,4	22,3
$CoCl_2 \times 6H_2O$	–	–
$CuSO_4 \times 5H_2O$	0,025	0,025
$ZnSO_4 \times 7H_2O$	–	8,6
$Na_2MoO_4 \times 2H_2O$	0,39	0,25
KJ	–	–
$Zn(NO_3)_2 \times 6H_2O$	17,0	–
Амінокислоти		
Гліцин	0,1	2,0
Вітаміни		
B_1	0,1	1,0
B_6	0,1	0,5
PP	0,1	0,5
Джерело вуглеводів		
Глюкоза	–	
Сахароза	30000,0	20000,0
pH — 5,6–5,8		

Додаток Б 1
Коефіцієнт регенераційної здатності сорту Клиновидний у 2023 році

Дата поранення	Повторність		
	I	II	III
18.03	0,30	0,30	0,27
28.03	0,97	0,90	1,01
8.04	1,45	1,39	1,57
18.04	1,44	1,38	1,38
27.04	1,19	1,25	1,22
6.05	2,06	2,10	2,11
16.05	2,20	2,12	2,10
28.05	2,03	2,12	2,06
8.06	1,99	2,01	2,07
18.06	2,63	2,73	2,69
28.06	2,22	2,24	2,23
10.07	1,00	0,95	0,93
21.07	1,27	1,30	1,51
1.08	1,61	1,62	1,33
11.08	1,83	1,99	1,85
21.08	1,95	1,95	1,83
3.09	0,21	0,21	0,21
16.09	0,02	0,02	0,02
26.09	0,00	0,00	0,00
6.10	0,00	0,00	0,00
Середнє			

Додаток Б 2
Коефіцієнт регенераційної здатності сорту Клиновидний у 2024 році

Дата поранення	Повторність		
	I	II	III
18.03	0,41	0,43	0,48
28.03	0,22	0,22	0,20
8.04	1,37	1,47	1,39
18.04	1,56	1,51	1,61
27.04	1,85	1,64	1,73
6.05	1,82	1,93	1,88
16.05	2,38	2,33	2,10
28.05	2,48	2,43	2,44
8.06	2,72	2,87	2,87
18.06	2,59	2,50	2,65
28.06	2,59	2,48	2,73
10.07	1,39	1,35	1,26
21.07	1,37	1,23	1,27
1.08	2,65	2,35	2,50
11.08	2,59	2,61	3,02
21.08	1,10	1,08	1,09
3.09	0,61	0,66	0,69
16.09	0,21	0,21	0,22
26.09	0,04	0,04	0,04
6.10	0,00	0,00	0,00
Середнє			

Додаток Б 3
Коефіцієнт регенераційної здатності сорту Шоколадний у 2023 році

Дата поранення	Повторність		
	I	II	III
18.03	0,49	0,51	0,56
28.03	0,76	0,86	0,81
8.04	1,83	1,68	1,78
18.04	1,49	1,46	1,52
27.04	1,53	1,61	1,75
6.05	2,10	2,10	1,92
16.05	2,26	2,39	2,28
28.05	2,29	2,28	2,51
8.06	3,10	3,14	3,63
18.06	3,13	3,11	2,88
28.06	2,47	2,46	2,79
10.07	1,88	1,84	1,69
21.07	1,44	1,51	1,40
1.08	1,84	1,85	1,56
11.08	1,93	1,89	1,85
21.08	2,24	2,26	2,25
3.09	0,08	0,10	0,09
16.09	0,02	0,02	0,02
26.09	0,00	0,00	0,00
6.10	0,00	0,00	0,00
Середнє			

Додаток Б 4
Коефіцієнт регенераційної здатності сорту Шоколадний у 2024 році

Дата поранення	Повторність		
	I	II	III
18.03	0,17	0,18	0,19
28.03	0,83	0,80	0,77
8.04	1,97	2,01	1,75
18.04	2,15	2,07	2,04
27.04	2,09	2,21	2,00
6.05	2,32	2,28	2,48
16.05	2,46	2,40	2,73
28.05	2,98	2,91	3,12
8.06	3,65	3,67	4,18
18.06	1,55	1,42	1,55
28.06	1,34	1,36	1,26
10.07	1,70	1,73	1,91
21.07	1,57	1,57	1,81
1.08	2,59	2,29	2,48
11.08	2,33	2,31	2,71
21.08	1,72	1,76	1,71
3.09	0,21	0,23	0,22
16.09	0,26	0,26	0,27
26.09	0,02	0,02	0,02
6.10	0,01	0,01	0,01
Середнє			