МОН УКРАЇНИ
УМАНСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ САДІВНИЦТВА
(УНУС)

Факультет агрономії
Кафедра генетики, селекції рослин та біотехнології

Допущено до захисту

«____» _____ 2023 р.

Зав. кафедри, д. с.-г. н., професор

_____ Людмила РЯБОВОЛ

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА
ступеня вищої освіти магістр

СТВОРЕННЯ ТА ПРИСКОРЕНЕ РОЗМНОЖЕННЯ ВИХІДНОГО МАТЕРІАЛУ В СЕЛЕКЦІЇ ХУРМИ (*DIOSPYROS SPP.*) В УМОВАХ УМАНСЬКОГО НУС

Виконав: студент ІІ курсу, групи 21 м-а
спеціальності 201 Агрономія
ТЕРТИЧНИЙ Дмитро Ігорович
Керівник:
СЕРЖУК Олександр, к. с.-г. н., доцент

Умань – 2023

ЗМІСТ

		стор.
ВСТУП		3
РОЗДІЛ 1.	**СУЧАСНИЙ СТАН ТА ПЕРСПЕКТИВИ РОЗВИТКУ ХУРМИ В УКРАЇНІ (огляд літератури)**	5
	1.1. Хурма та перспективи розвитку її садів в Україні	5
	1.2. Прискорене розмноження хурми в культурі *in vitro*	7
РОЗДІЛ 2.	**ОБЄКТ ДОСЛІДЖЕНЬ**	14
	2.1. Ботанічна і біологічна характеристика хурми	14
	2.2. Особливості досліджуваних видів хурми	17
РОЗДІЛ 3.	**УМОВИ ТА МЕТОДИКА ПРОВЕДЕННЯ ДОСЛІДЖЕНЬ**	20
	3.1. Лабораторні умови й методика проведення досліджень.	20
	3.2. Схема досліду	22
РОЗДІЛ 4.	**РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ**	23
	4.1. Індукція морфогенезу хурми в культурі *in vitro*	23
	4.2. Індукція ризогенезу хурми в культурі *in vitro*	32
РОЗДІЛ 5.	**ОХОРОНА ПРАЦІ ТА НАВКОЛИШНЬОГО СЕРЕДОВИЩА**	39
ВИСНОВКИ		47
РЕКОМЕНДАЦІЇ СЕЛЕКЦІЙНІЙ ПРАКТИЦІ		48
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ		49
ДОДАТКИ		55

ВСТУП

Коли йдеться про хурму як про плодову культуру, то слід зважати, що переважна більшість її сортів належать до *Diospyro skaki* Thunb., найціннішого для плодівництва виду *Diospyros* з найбільш якісними плодами, однак недостатньо зимостійкого. З поміж інших відомих *Diospyro* sspp. в Україні найбільш досліджені *D. Lotus* L. та *D. Virginiana* L., з яких найвищою морозостійкістю характеризується *D. virginiana*. Рід *Diospyros* L. належить до родини Ебенові *Ebenaceae* Gürke. У підтримуваній унаслідок співпраці Королівських ботанічних садів К'ю (Великобританія) та Ботсаду штату Міссурі (США) електронній базі даних «ThePlantList...» наразі нараховується 1558 видових назв цього роду (без внутрівидових таксонів), з яких у статусі визнаних (accepted)—725. Решта 825—синоніми та 38 назв невизначеного статусу. З усього цього різноманіття найбільше значення мають лише чотири види. Крім уже названих *D. kaki, D. Lotusma, D. virginiana* певне значення має ще *D. Oleifera* W. C. Cheng, що використовується у країнах Східної Азії за підщепу. Невеличкі зеленувато-жовті опушені плоди *D. oleifera* у дуже обмежених кількостях також споживаються у Китаї, можна натрапити на них і на місцевих ринках Східного Середземномор'я, а плоди сорту 'Yeşil hurma' використовуються за джерело виробництва таніну. Натомість *D. kaki*, що виник у гірській зоні південного Китаю і був одомашнений як важлива плодова культура в Китаї, Кореї та Японії протягом сторічь, нині під назвою хурма східна, або японська, культивується в багатьох теплих регіонах світу, включаючи Китай, Корею, Японію, Бразилію, Іспанію, Туреччину, Італію та Ізраїль. Ще у середині минулого сторіччя загальне виробництво хурми у світі було невисоким: від 990 тис. тонн у 1961 р. до 1 млн. 290 тис. тонн у 1993 р. Проте з 1995 р. світове виробництво хурми почало різко зростати і у 2014 р. вже перевищило п'ять млн. тонн, з яких понад 3 млн. 730 тис. тонн вирощується у Китаї. В Україні хурма вважається нетрадиційною плодовою культурою, однак слід зазначити, що ще у 1994 р. до Державного реєстру сортів

рослин, придатних для поширення в Україні був занесе-ний перший вітчизняний сорт ‘Супутник’ селекції Нікітського ботанічного саду — Національного наукового центру НААН України. Пізніше, з 2010 до 2015 рр., у Реєстрі було ще вісім сортів хурми цієї ж установи: ‘Зірочка’, ‘Золотиста’, ‘Мрія’, ‘Нікітська бордова’, ‘Південна красуня’, ‘Росіянка’, ‘Сувенір осені’ та ‘Українка’, однак у наступних і цьогорічному реєстрі наразі немає сортів хурми. Зважаючи на те, що для адаптації хурми як плодової культури у степовій і лісостеповій зонах України необхідно підвищити зимо- й холодостійкість та ранньостиглість високоякісних сортів D. kaki зі збереженням споживчої цінності їхніх плодів.

Метою наших досліджень було визначено проведення широкомасштабного пошуку вихідного матеріалу для селекції хурми та вивчення технологій мікроклонального розмноження для особливо цінних генотипів.

Апробація результатів досліджень. Основні результати досліджень обговоренні на студентських гуртках та засіданні кафедри генетики, селекції рослин та біотехнології. Опубліковано у збірнику тез Генетика і селекція в сучасному агрокомплексі // Матеріали VI всеукраїнскої науково-практичної конференції / [Редкол.: О. О. Непочатенко (відп. ред.) та ін.]. Умань, 2021.

РОЗДІЛ 1.
СУЧАСНИЙ СТАН ТА ПЕРСПЕКТИВИ РОЗВИТКУ ХУРМИ В УКРАЇНІ
(огляд літератури)

1.1. Хурма та перспективи розвитку її садів в Україні

У збагаченні асортименту плодових культур України та покращенні їхніх якісних показників (хімічний склад, здатність зберігатись, урожайність, стійкість щодо несприятливих метеорологічних чинників, шкідників та збудників хвороб) провідна роль належить селекції. Стосовно традиційних вітчизняних плодових культур, що формують дерева великого габітусу, селекційна робота потребує великих площ, значних зусиль на вирощування в очікуванні першого врожаю, і відповідно великих затрат матеріальних і трудових ресурсів з далеко не завжди запланованим результатом. Інтродукція ж окремих нових плодових культур, які донедавна вважалися неперспективними для впровадження в агрокліматичних умовах України у поєднанні з селекційною роботою дає досить обнадійливі результати.

До однієї з таких культур в Україні належить хурма (*Diospyros* spp.), насамперед хурма східна (*Diospyros kaki* Thunb.) та хурма вірджинська (*D. virginiana* L.). Перша, у зв'язку з її недостатньою зимостійкістю, за межами Південного узбережжя Криму може культивуватися в Україні лише в кліматичних нішах Закарпаття, Одеської обл. та АР Крим, та й то з певними ризиками підмерзання. Натомість хурма вірджинська значно більш зимостійка. Її кращі сорти, в умовах України, здатні без пошкоджень витримувати зниження температури до -30…-32°С, тобто за морозостійкістю вона не поступається зимостійким сортам абрикоси, які культивуються на значній території України.

Крім того, на відміну від донорів зимостійкості інших плодових культур, які зазвичай разом з витривалістю до морозів та інших несприятливих умов зимівлі передають гібридам багато небажаних характеристик, так званих ознак дикості, плоди хурми вірджинської мають досить велику масу (до 70 г),

чудовий смак, високий вміст біологічно-активних речовин, значно вищий, ніж у більшості традиційних плодових культур, і навіть переважають за цими показниками сорти хурми східної. Хурма вірджинська надзвичайно врожайна, має дуже ранні форми, які в умовах Нової Каховки починають дозрівати вже в другій декаді вересня і дають насіння з високою схожістю.

І хурма східна, і хурма вірджинська мають сильні й слабкі сторони. Переваги хурми східної полягають у формуванні високоякісних плодів, маса яких може досягати 500 г; у хурми східної є сорти, плоди яких здатні зберігатися до кількох місяців, є сорти з плодами без терпкості навіть у недостиглому стані; в неї є однодомні форми з чоловічим і жіночими та гермафродитними квітками на одному дереві, спроможні до самозапилення, є також партенокарпічні форми, які утворюють плоди взагалі без запилення. Однак зимостійкість хурми східної значно нижча, ніж хурми вірджинської, особливо в другій половині зими та навесні, а також значно менший вміст біологічно активних речовин у плодах. Хурма вірджинська істотно переважаючи хурму східну за зимостійкістю протягом усього морозного періоду, маючи хороший смак плодів та високий вміст біологічно-активних речовин, поступається хурмі східній за масою плода, в неї практично відсутні партенокарпічні та однодомні форми, форми з плодами без терпкості та ін. Є в обох видів дуже цінні спільні ознаки: навіть на батьківщині цих видів у досить вологому кліматі Китаю, Японії та Північної Америки у них, на відміну від більшості наших традиційних плодових культур, особливо яблуні, дуже мало шкідників і хвороб. А в умовах більш сухого клімату України при вирощування обох видів поки що не виникало потреби використання пестицидів. Зважаючи на це вчені-селекціонери багатьох країн намагалися поєднати цінні особливості обох видів. Є дані, що перший у світі міжвидовий гібрид між ними отримав Лютер Бербанк (Luther Burbank) ще понад сто років тому. В Україні перший такий гібрид (першого покоління) в Нікітському ботанічному саду в 1959 році отримав А. К. Пасєнков. Материнською формою була хурма вірджинська, а батьківською — хурма східна. Зараз цей гібрид відомий як сорт 'Росіянка'. За

даними автора сорту маса плодів 'Росіянки' була від 47–60 до 90–100 г. На щеплених деревах у Новій Каховці в січні 2006 року цей сорт витримав зниження температури до -27°С лише з незначними пошкодженнями однорічних приростів, однак з повною втратою урожаю. Слід при цьому зазначити, що тоді ж персик, абрикос, окремі сорти аличі й черешні були в такому ж або навіть гіршому стані (Дерев'янко, 2007). Там же, від вільного запилення цього гібриду пилком хурми східної, О. Н. Казасом було отримано кілька гібридних сіянців, з яких відібраний один, нині відомий як сорт 'Нікітська бордова'. Він дещо поступається 'Росіянці' за зимостійкістю, але переважає в цьому відношенні сорти хурми східної, має масу плодів до 135 г з надзвичайно хорошим смаком. З потомства від запилення 'Нікітської бордової' пилком хурми вірджинської в ДПДГ «Новокаховське» були отримані гібридні сіянці третього покоління, з яких були відібранні сорти: 'Соснівська' з масою плодів до 50–90 г та з високою зимостійкістю і раннім дозріванням плодів (у Новій Каховці 15–20 вересня) та з досить високим рівнем самоплідності; 'Чучупака' — з дещо пізнішим дозріванням плодів та трішки меншою їх масою, проте з дуже хорошим смаком та лежкістю і високим вмістом сухих речовин (30%); 'Божий дар' — однодомний, хоч і менш врожайний сорт, однак гарний запилювач для обох видів хурми і їхніх гібридів, має порівняно невеликий розмір дерев, проте за зимостійкістю дещо поступається попереднім сортам. З гібридного потомства, теж третього покоління, від запилення їх пилком сортів хурми східної, в м. Феодосія аматором Ю. Є. Богдановським були відібрані великоплідні (з масою плодів до 270 г) і більш зимостійкі, ніж сорти хурми східної, сорти 'Гора Говерла', 'Гора Роман-Кош' та 'Гора Роджерс'. Очевидно, що таке ж походження мають і великоплідні сорти 'Колгоспниця' та 'Пам'ять Черняєва'. Перша, при масі плодів до 270 г і зимостійкістю на рівні 'Росіянки', та друга, при масі плодів до 330 г із зимостійкістю на рівні 'Гори Говерли', були відібрані з гібридних сіянців вирощених з насіння, що нам передав В. П. Черняєв. Від схрещування між собою гібридів третього покоління різного походження було отримано близько 150 гібридних сіянців, з яких уже

зареєстровано сорт 'Дар Софіївки', який при масі плодів до 150 г, в умовах Нової Каховки дозріває до 10–15 жовтня, тобто раніше, ніж всі інші, та має зимостійкість навіть дещо вищу, ніж 'Росіянка' (Дерев'янко та ін., 2020).

Нині у Державній службі з охорони прав на сорти рослин проводиться кваліфікаційна експертиза сортів 'Ювілейна Косенка' та 'Адольф Ліщук'. Рослини сорту 'Ювілейна Косенка' формують плоди середньою масою до 140 г, характеризуються порівняно меншою силою росту, ніж 'Дар Софіївки' та дещо вищою зимостійкістю, особливо в другій половині зими. Не менш цінний сорт 'Адольф Ліщук', з зимостійкістю на рівні сортів хурми вірджинської та масою плодів до 135 г. Почали плодоносити вже перші гібриди п'ятого покоління, серед яких є цінні для вітчизняного садівництва форми. Крім названих вже почали плодоносити близько 20 перспективних гібридних форм, окремі з яких відзначаються високою зимостійкістю (на рівні хурми вірджинської), раннім достиганням (вересень–перша половина жовтня), партенокарпією та цілком прийнятною масою плодів. Протягом одного–трьох років очікується вступ у плодоношення ще близько 100 гібридних сіянців.

Тож перспективи господарського використання хурми (*Diospyros* spp.) в Україні нині пов'язані з подальшою селекцією на зимостійкість і якість плодів, а також зі створенням нових клонових підщеп для отримання одномірного за габітусом садивного матеріалу.

Підсумовуючи викладене необхідно зазначити, що автори зупинились лише на рослинах, які донедавна вважалися екзотичними для вирощування в умовах України, сорти яких занесені до Державного реєстру сортів рослин, придатних для поширення в Україні. Проте, плодово-ягідних культур, вирощування яких ведеться успішно в приватних садах, є набагато більше. Народна селекція давно вже перетворила далеке й бажане за дійсне і втілила мрії садівників у реальність. Тому в садах аматорів можна побачити й скуштувати зовсім уже екзотичні рослини. Отже, все можливе, якщо бажати і щось для цього робити.

1.2. Прискорене розмноження хурми в культурі *in vitro*

Diospyros virginiana L. (Ebenaceae), також відомий як звичайна хурма, американське чорне дерево або поссумвуд, є листопадним деревом середнього розміру (12-18 м), що походить із східно-центрального та південно-східного регіонів США. Хурма звичайна тіньовитривала і віддає перевагу вологим, добре дренованим, низинним або алювіальним ґрунтам, але може рости майже на будь-якому типі ґрунту. Його глибокий стрижневий корінь робить його корисним для боротьби з ерозією. Звичайна хурма класифікується як типово дводомна, хороші плоди дають кожні 2 роки з оптимальним плодоношенням у віці від 25 до 50 років. У дикій природі плоди споживають птахи, олені та дрібні ссавці. *Diospyros kaki*, також відомий як японська або східна хурма, є важливою садовою культурою, тоді як *D. Virginiana* вважається другорядним, але бажаним видом фруктових дерев і спеціальних деревних продуктів. Їстівні плоди культивованих сортів звичайної хурми продаються у вигляді м’якоті для приготування пудингів, печива, тістечок і кремів. Зазвичай хурму розмножують щепленням. Клонова хурма з власним корінням може запропонувати кілька переваг спеціалізованим виробникам фруктів, таких як усунення щеплення (пом’якшення варіації підщепи саджанців), проблеми несумісності щеплення та виробництво покращених підщеп для сортовипробування. Розмноження звичайної хурми *in vitro* було б цінним для розробки комерційних підщеп для розсадництва. Метою цього дослідження була розробка протоколу розмноження *in vitro* для чотирьох зрілих сортів хурми звичайної та одного гібридного генотипу. Наскільки нам відомо, це перший звіт про культуру *in vitro* цих сортів хурми звичайної та цього гібриду.

Тверда, міцна, дуже дрібнозерниста деревина звичайної хурми (*Diospyros virginiana* L.; Ebenaceae) бажана для спеціальних виробів, таких як головки ключок для гольфу, перкусійні ключки, більярдні киї та для токарної обробки деревини. Їстівні плоди культивованих сортів продаються як м’якоть для використання в пудингах, печивах, тістечках і заварних кремах. Зазвичай

хурму розмножують щепленням. Клонова хурма з власним корінням може запропонувати кілька переваг для спеціалізованих виробників фруктів, таких як усунення щеплення, проблеми несумісності щеплення та покращені підщепи для сортовипробування. Чотири зрілі щеплені (чоловічі та жіночі) генотипи хурми та один гібрид використовували для культури нодального експланта. Вузлові стовбурові експланти культивували на середовищі Мурасіге та Скуга (MS), що містило 10 мкМ зеатину, 3% (маса/об'єм) сахарози та 0,7% (маса/об'єм) Bacto agar. Експланти регулярно переносили у свіже середовище кожні 3 тижні, доки не було створено культури пагонів. Усі вузлові експланти, вирізані з щеплених тепличних рослин, дали принаймні один життєздатний пагін. Для укорінення мікропагонів *in vitro* використовуйте середовище MS половинної міцності з 0, 5, 10 або 15 мкМ індол-3-масляної кислоти (IBA), 0,1 г·л -1 флороглюцинолу , 3% (мас./об.) сахарози та 0,7% (маса/об'єм) Bacto agar були протестовані за допомогою 10-денної обробки темної культури з наступним культивуванням на світлі. Найкраще вкорінення (від 14% до 87%) було досягнуто на середовищі, що містить 5 мкМ IBA для звичайних генотипів хурми із середнім значенням від 0,5 до 3,9 коренів на пагін. У гібрида хурми досягнуто 91% укорінюваності з 5,3 ± 2,6 коренів на пагін. Вкорінені рослини успішно акліматизувалися в теплиці.

РОЗДІЛ 2.
ОБЄКТ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Ботанічна і біологічна характеристика хурми

Рід *Diospyros* L. належить до родини Ебенові Ebenaceae Gürke. З великого внутрішньо-родового різноманіття, в котрому різні автори нараховують від семисот до понад півтори-тисячі ботанічних найменувань різного статусу, найбільше значення мають лише чотири види. Це D. kaki Thunb., D. lotus L., D. virginiana L. та до певної міри D. oleifera W. C. Cheng, що використовується у країнах Східної Азії за підщепу і джерело виробництва таніну.

Характерний для тропіків, лише кілька видів походять з помірного поясу. Рід налічує близько 400-500 видів листопадних або вічнозелених дерев і кущів теплолюбивих рослин і тому широко поширений у багатьох країнах Євразії, Америки, в Австралії і навіть на півдні Україні. До найвідоміших у наших краях відносять терпку кавказьку, нетерпку японську і солодку шоколадну, відому як корольок. По формі нагадують яблуню, а її оранжеві або червоні плоди здалека нагадують апельсини.

Хурма - велика солодка ягода з соковитою серцевиною і шкіркою оранжевого, червоного або жовтого кольору, масою від 100-500г. Плоди поділяють на дві категорії: в'яжучі на смак (за дозрівання ця властивість плоду зникає) і не в'яжучі. Незрілий плід гіркий через велику кількість дубильних речовин. Японці називають плід хурми «плодом із плодів».

Селекціонери наразі працюють над створенням холодостійких форм, проте і наявні сорти хурми можна вирощувати у помірніших районах країни. Для цього небхідно застосувати відповідну технологію вирощування.

Вперше сорти хурми східної заявлені до державної реєстрації прав у 2005 р. З того часу до Реєстру сортів занесено 12 нових, які є пластичними для умов вирощування в Україні. Всі сорти захищені патентом. Вітчизняними селекціонерами створені сорти: Гора Роджерс, Гора Роман Кош, Гора Говерла,

Новінка - власник ДПДГ "Новокаховське"; сорти Нікітського ботанічного саду: Золотиста, Зірочка, Мрія, Нікітська бордова, Південна красуня, Росіянка, Сувенір осені, Українка.

2.2. Особливості досліджуваних видів хурми

Хурма кавказька (*Diospyros lotus* L.). Це найдревніший субтропічний представник роду Diospyros єдиний здичавілий представник цього роду на території колишнього СРСР. Дерево до 30 м висотою і до 45 см діаметр стовбура. Розмножується насінням і пеньковими паростками. Кореневої порості майже не спостерігається. Сильна коренева система, на проникаючих ґрунтах знаходиться на глибині до півтора метри, а однорічні сіянці дають добре розгалужені корені на глибині до 50 см. Коренева система дорослих дерев – добрий берегоукріплювач, з успіхом протистоїть змиву ґрунту, а також зсувам [17]. Листки прості, цільні, видовжені, з загостреною верхівкою, темно-зелені, зверху гладенькі, знизу опушені. Восени набувають світло-жовтого забарвлення. Бруньки на однорічному прирості витягнуто-конічні, з опушеною верхівкою, притиснуті до пагону. Бокові горизонтальні пагони зверху коричневі, знизу – світло-зеленуваті. Рослини дводомні, або полігамні. Квітки, в основному, ентомофільні (запилюється комахами), можливий переніс пилку вітром. Квітки пазушні розташовані на прирості поточного року, червонувато-білі. Чоловічі квітки — в суцвіттях з трьох дрібних квіток, а жіночі — поодинокі і мають більший розмір. Тип квітки — чотирьохчленний. У чоловічій квітці знаходиться 8 – 16 тичинок (можлива більша кількість тичинок — до 50) і рудимент зав’язі. Жіночі квітки з рудиментами тичинок. Плід — округла, або злегка еліптична ягода жовтого кольору, яка поступово темніє до антоціанового забарвлення. Плоди дрібні, до 2 см в діаметрі, з великою кількістю насіння, при повному достиганні смачні без терпкості. Плоди достигають у жовтні – листопаді. У суху теплу осінь легко пров’ялюються на дереві. У природніх умовах хурма кавказька росте в гірських лісах півдня Європи і Кавказу, Центральної Азії, північної гірської Індії та Китаю. У

культурі — від Піренеїв на заході Європи до Туреччини та Ірану в центрі, включаючи і Крим, до східного Китаю. Зимостійкість її невелика, і вже при температурі −20 °С гинуть як кореневласні дерева, так і щеплені. Старі дерева в умовах південних областей України та Криму достатньо морозостійкі, тоді як молоді часто пошкоджуються в холодні зими. На сьогодні в колекційних насадженнях Державного підприємства «Дослідне господарство «Новокаховське» Інституту рису НААН» нараховується дев'ять зразків хурми кавказької, всі вони насіннєвого походження. Насіння було отримано зі Словаччини в 2008 році. Перші роки сіянці підмерзали до рівня грунту, але в наступному вегетаційному році відновлювались, згодом їх зимостійкість підвищувалась. Зараз це багатостовбурні дерева — з 3 –5 стовбурів, з діаметром стовбура 8 – 12 см і заввишки 3 – 5 м. Дерева цвітуть і плодоносять, але не щорічно. Хурма кавказька потребує рясного регулярного зрошення і високої вологості повітря. Сіянці хурми кавказької вважаються чудовим підщепним матеріалом, завдяки своїй мичкуватій кореневій системі, використовуються як підщепа в умовах південного узбережжя Криму і на Кавказі, в умовах південного степу України, як підщепа не використовується Особливого інтересу для садівників-любителів не представляє, проте люди, які виросли на Кавказі відчувають ностальгію і з задоволенням вирощують у себе в саду і ці дерева. Ріст набагато інтенсивніший, ніж у хурми віргінської.

Хурма віргінська (*Diospyros virginiana* L.). Дерево висотою 15–25 м, у сприятливих умовах і більше, з товстим (до 50 см) стовбуром і рихлою кроною. Дерево світлолюбне, стовбур добре зчищається від нижніх гілок, які погано освітлюються. Має потужну стержневу кореневу систему, яка менш розгалужена ніж у кавказької, тому вона гірше переносить пересадку, але все ж таки вона все ширше використовується як сама морозостійка підщепа у всіх регіонах України крім Південного берегу Криму. Коренева система однорічних сіянців з довгим потужним стержневим коренем до 50–70 см довжиною з ламкими, слабкими боковими коренями. Віргінська хурма часто дає кореневу порость, особливо при пошкодженні коренів. Розмножується насінням,

можливе розмноження і кореневими паростками. Ріст сіянців слабкіший, ніж у хурми кавказької і вони готові до окулірування лише на другий рік [16] . Віргінська хурма походить з гірських лісів південно-західних районів США. ЇЇ природній ареал від Флоріди до штату Коннектикут і на захід до Канзасу і Техасу. В культурі північніше — до Великих озер і південно-східного кордону. Листки — овальні, еліптичні, із загостреною верхівкою, темно-зеленого кольору, зверху — блискучі, знизу опушені, довжиною 8–14 см. Бруньки конічні, загострені, верхівки злегка відігнуті від пагону. Однорічні пагони коричневого кольору, у сортових чітко виділяється сірий відтінок. Рослини дводомні або полігамні. Чоловічі квітки дрібні і зібрані в суцвіття з трьох, рідше з п’яти квіток, тичинок 16 і рудимент зав’язі, жіночі квітки поодинокі, більш крупні з рудиментами тичинок. На чоловічих деревах іноді зустрічаються жіночі квітки і з них утворюються дрібні плоди. Також жіночі дерева можуть утворювати безнасінні (партенокарпічні) плоди. Плід — конічна або кулеподібна ягода близько 2–3 см в діаметрі у диких форм і до 4–5 см у культурних сортів, зазвичай жовта з червоним рум’янцем, при повному дозріванні зустрічаються форми з антоціановим забарвленням. Плоди дрібні, але набагато більші, ніж у хурми кавказької. У плодах багато насіння. До достигання плоди дуже терпкі у зв’язку з високим вмістом дубильних речовин (танідів), при достиганні і розм’якшенні плоди втрачають терпкість і стають дуже солодкими з насиченим смаком. По насиченості мікроелементами, вітамінами і поживності хурма віргінська на першому місці. При достиганні і розм’якшенні плоди хурми віргінської опадають, а чашечка залишається на дереві. Такі плоди довго не зберігаються і не транспортабельні, що в плодівництві вважається великим недоліком даного виду. У різних форм і сортів плоди достигають у різний час, в умовах Херсонської області з вересня по листопад. У США з форм дикої віргінської хурми виведені культурні сорти різних термінів достигання і різним ступенем самоплідності, з масою плодів до 40 – 80 г. Насіння її більше, ніж у кавказької. За формою, забарвленням шкірки та хімічному складу воно близьке до кавказької і східної, але має більш щільну

оболонку. Легше переносить висихання, зберігає схожість. Для одночасного проростання потребує стратифікації. У культурі: в Європі — з 1629 року, у Нікітському ботанічному саді — з 1813 року. Хурма віргінська серед інших видів є найбільш морозостійкою. Вона має найбільш довгий і глибокий період спокою. Кореневласна віргінська хурма витримує морози до −35 – 37°С, а щеплена — до −30°С і нижче. Перші насадження хурми віргінської в Державному підприємстві «Дослідне господарство «Новокаховське» Інституту рису НААН» відбувались з 1988 року і отримана вона була сіянцями з Нікітського ботанічного саду. З цього матеріалу було відібрано, за морозостійкістю, посухостійкістю і стійкістю до шкідників і хвороб, перспективний зразок, який сьогодні використовується для отримання насіння, і подальшого вирощування підщепного матеріалу. Зараз у колекційних насадженнях господарства нараховується близько 30 зразків хурми віргінської, з них 11 сортів американського походження. Дерева хурми віргінської мають вік від 5 до 33 років. За всі роки спостережень на них не було відмічено жодного підмерзання приростів. Найстарші дерева заввишки 5 – 8 м, та мають стовбур завтовшки 17–22 см. Дерева мають щорічне рясне плодоношення, плоди не крупні від 25 до 90 г, залежно від сорту, але вони дуже смачні при повному дозріванні, яке відбувається з кінця вересня безпосередньо на деревах. Розмноження перспективних зразків хурми віргінської, для поширення її в більш північні регіони України — вегетативне. В теперішний час господарством поширюються відомі сорти хурми віргінської: Мідер (Meeder), Джон Рік (John Rick), Вебер (Veber), Прок (Prok), а також відселектовані нами зразки: Віргінська крупноплідна, Янтарна.

Хурма східна (*Diospyros kaki* Thunb.). Та, яку ми купуємо на ринку. Іноді її називають японською. Дуже велика. Дуже теплолюбна. Смак приємний, не дуже насичений. У теперішній час культурні сорти хурми східної становлять інтерес не тільки для районів південного узбережжя Криму, але і теплих регіонів Закарпатської області. Окремі сорти зустрічаються в інших південних областях України, в самих теплих місцях. Дерева хурми східної по силі росту

мають варіацію від слаборослих, висота біля 3 – 4-х метрів до сильнорослих, де висота дерева може бути 10 – 12 м [16]. Рослини хурми східної довговічні, термін продуктивного життя 100-150 років. У Китаї, на батьківщині хурми східної, зустрічаються дерева у віці до 400-500 років. На південному березі Криму є дерева хурми східної, які регулярно плодоносять у віці близько 100 років. Листки — овальної, яйцеподібної форми з загостреною верхівкою, цілокраї, темно-зелені, глянцеві зверху та мають темно-коричневе опушення з нижнього боку. Дерева дводомні або полігамні. Квітки з'являються на пагонах поточного року після 3 – 4-ої бруньки від основи пагона. Чоловічі квітки дрібні і зібрані в суцвіття з трьох, рідше з п'яти квіток, на тонких , слабких квітконіжках, тичинок 16 – 24. Жіночі квітки поодинокі, більш великі ніж чоловічі, з рудиментами тичинок. Чашолистики великі, листкоподібні. На однодомних деревах іноді зустрічаються квітки трьох типів: чоловічі (тичинкові), жіночі (маточкові) і двостатеві. Також жіночі дерева можуть утворювати безнасінні (партенокарпічні) плоди. Плід — велика, м'ясиста ягода, яка сильно варіює за багатьма ознаками: розміром, формою (кулеподібні, конічні, циліндричні та ін.), кольором шкірки (жовті, оранжеві, червоно-оранжеві, червоні), консистенцією і кольором м'якуша, за смаком, ступенем терпкості, строками достигання й лежкістю. Маса плоду коливається від 60 – 70 і до 500 г і залежить від сорту, кількості плодів на дереві, а також від зовнішніх умов і агротехнічного фону. В плоді може розвиватись від 1 до 10 насінин. За якістю плодів зразки поділяться: на константні, варіюючі, нетерпкі. — константні сорти — плоди терпкі в твердому стані, стають придатними до вживання при повному достиганні, протягом від 10 до 40 – 50 днів після збору; — варіюючі сорти — тверді плоди солодкі при наявності трьох і більше насінин, безнасіннєві плоди терпкі в твердому стані; — нетерпкі сорти — їх плоди стають солодкими після набування характерного окрасу незалежно від наявності насіння і ступеню стиглості. Насіння — набагато крупніше ніж в інших видів хурми, розмір його (за довжиною) коливається від 1,5 до 3,0 см, а форма сильно варіює в залежності від сорту. При дозріванні шкірка насіння

коричнева, менш щільна, ніж в інших видів хурми, тому на повітрі воно швидко висихає і втрачає схожість.

Зразки хурми східної мають різну морозостійкість. Дорослі дерева переносять зниження температури до −16 – 18°С і рідше до −22°С, зберігаючи врожай в наступній вегатації. Сьогодні кількість зразків хурми східної в колекційних насадженнях Державного підприємства «Дослідне господарство «Новокаховське» Інституту рису НААН» не багаточисельне, але ті що є, найбільш витривалі. Хурма східна щеплена в крону та на високий стовбур хурми віргінської, що дає їй можливість підвищити зимостійкість. Сорти: Костата, Нітарі, Шоколадна, Батумський II витримали зниження температури до −26,7°С в зиму 2005–2006 років. з різними ступенями пошкодження багаторічної деревини, але вони відновились в наступному вегетаційному році і через рік були з врожаєм. Зараз це 20-ти річні дерева заввишки 3,5 – 4,0 м, з діаметром крони від 1,5 до 3,5 м, мають не регулярне плодоношення, останні 3 роки — щорічне. Знімання врожаю відбувається в другій половині жовтня, коли плоди набувають знімальної стиглості, але не потрапляють під перші приморозки, вони придатні до вживання після повного дозрівання, яке відбувається в лежці. У теперешній час ведеться робота з інтродукції зразків хурми східної з Закарпаття з метою поповнення колекції.

Хурма гібридна (*Diospiros kaki* × *Diospiros virginia*). Уперше в світі, вченим з Нікітського ботанічного саду А. К. Пасенковим у 1957 році, було отримано міжвідовий гібрид між східною і віргінською хурмою, який отримав назву «Росіянка». Досягнення А. К. Пасенкова полягає в тому, що хурма Росіянка та її нащадки легко схрещуються з хурмою східною і віргінською [17]. Морозостійкість цього сорту дуже висока, він може витримувати короткочасне зниження температури до −27 °С. Єдиний недолік цього сорту, це не дуже крупні плоди 50 – 90 г, інколи зустрічаються плоди, маса яких сягає 110 г. У подальшому «Росіянку» схрещували з хурмою східною – були отримані О.Н. Казасом «Нікітская Бордовая» і «Новінка». Морозостійкість цих двох сортів нижча, ніж у Росіянки, −24°С і −20°С відповідно. Плоди Нікітської Бордової

більші за Росіянку і смакові якості плодів значно вищі. Новінка ж є однодомним сортом і може бути запилювачем як для хурми східної так і для гібридної. Створення українськими вченими міжвидового гібрида східної і віргінської хурми стало ключовою умовою для початку просування культури хурми на територію України, Молдови, півдня Росії. Гібридна хурма успадкувала краще від своїх батьків — розмір плоду (50 – 250 г), а головне, морозостійкість (від −20 до −27°С) залежно від сорту. Смакові якості батьків (пустуватість східної і насиченість віргінської) гармонійно поєдналися в хурмі гібридній. Сьогодні селекційна робота ведеться переважно з Нікітською Бордовою та з її нащадками, а також і з хурмою східною. За результатом цієї роботи вже отримано декілька перспективних зразків, які значно перевищують за морозостійкістю, великоплідністю і смаковими якостями батьківські зразки. Результати багаторічних досліджень оцінки успішності інтродукції та адаптації зразків хурми в колекції «Державного підприємства «Дослідне господарство «Новокаховське» Інституту рису НААН» занесені до таблиці 1. Зразки хурми поділяються на досить перспективні (хурма віргінська: Meeder, Djon Rik, NC-10, Korp, Prok, Evelin, Szukis; хурма гібридна: Росіянка, Нікітська Бордова, Соснівська, Подарунок осені), перспективні (хурма гібридна: Гора Говерла, Гора Роман Кош, Гора Роджерс, Універсал, Аграрна, Степова Красуня; хурма східна: Нітірі, Костата, Шоколадна), а також не достатньо перспективна (хурма гібридна: Новінка; хурма східна Батумський II, Хіакуме). Також ми встановлено різну ступінь адаптації: повна (зразки: Meeder, Djon Rik, NC-10, Korp, Prok, Evelin, Szukis, Росіянка, Нікітська Бордова, Соснівська, Подарунок осені, Універсал), добра (зразки: Гора Говерла, Аграрна, Степова Красуня, Нітірі, Костата, Шоколадна) і задовільна (зразки: Гора Роман Кош, Гора Роджерс, Новінка, Батумський II, Хіакуме).

РОЗДІЛ 3.
УМОВИ ТА МЕТОДИКА ПРОВЕДЕННЯ ДОСЛІДЖЕНЬ

Дослідження проводили протягом 2022–2023 рр. в умовах *in vitro* в лабораторії мікроклонального розмноження кафедри генетики, селекції рослин та біотехнології Уманському НУС — та у лабораторії мікроклонального розмноження відділу фізіології, генетики, селекції та біотехнології рослин та умовах *in vivo* в колекційній ділянці нетрадиційних плодових культур кафедри генетики, селекції рослин та біотехнології та в інтродукційно-виробничому розсаднику НДП „Софіївка", які розміщенні в околиці м. Умань, що у південно-західній частині Черкаської області.

3.1. Лабораторні умови й методика проведення досліджень

Матеріалом для біотехнологічних досліджень послужили 4 сорти хурми, що вирощуються у колекції НДП „Софіївка",. В умови *in vitro* були введені вегетативні бруньки сортів хурми, що вивчаються. Вегетативні бруньки хурми стерилізували 1 хв у 70 %-му етанолі, 15 хв у розчині, що містить 0,3–0,4 % Cl2 (Дез ТАБ, Китай), потім у 1 %-му розчині Thimerosal (Sigma, США) з додаванням 2-3 краплі детергенту Tween 20 (Sigma, США). Після кожного реагенту експланти промивали 3 рази стерильною дистильованою водою. Усі операції виконували за допомогою пінцетів, скальпелів та одноразових стерильних лез (Medec Instrument Group Co., Німеччина). Для стерилізації інструментів використовували стерилізатор Tau Quartz 500 (Італія). Ізольовані вегетативні нирки поміщали на середовище МС (Murashige, Skoog, 1962) [17], доповнене 30 г/л сахарози та 10 г/л агарагара (Panreac, Іспанія), а також регуляторами росту: 1,0–5,0 мг/ л 6-бензиламінопурину (БАП), 0,7–2 мг/л зеатину та 0,1–0,3 мг/л β-індоліл3-масляної кислоти (ІМК) (Sigma, США). pH живильного середовища значення 5,7 доводили 1 н. розчином NaOH (pH/Ion meter S220 Mettler Toledo AG, Швейцарія). Живильні середовища автоклавували при 120 °C протягом 5 хв в автоклаві/стерилізаторі LAC 5060S

(Daihan Labtech, Південна Корея). Регулятори росту вводили в середовища після автоклавування в стерильних умовах боксу біологічної безпеки SC2 (ESCO, Сінгапур) за допомогою стерильних фільтрів Millex-GP (Німеччина). Для оздоровлення від вірусної інфекції застосовували віроцид рибавірин (віразол, 1-бетаD-рибофуранозил-1H-1,2,4-триазол-3-карбоксамід) (Sigma, США), введений безпосередньо в живильне середовище в концентрації 10 мг/л. Експланти культивували на стелажах при температурі 24±1 °С у 16-годинному фотоперіоді та інтенсивності освітлення 37,5 мкМ-2 з -1. Висічення листя розміром 1×1 см поміщали на середовище МС з додаванням 0,2; 0,6; 1,1; 1,7 та 2,2 мг/л 3-(1,2,3-тіадіазолін-5)-1-фенілсечовини – ТДЗ (Duchefa Biochemie, Голландія). Контрольним було середовище МС без ТДЗ. Експланти культивували на стелажі в стандартних умовах і відсутність освітлення при 25±1 °С в термостаті MIR 254 (SANYO, Японія). Для депонування як вихідні експланти використовували сегменти мікропагонів вихідних рослин розміром 1,0-1,5 см. В експериментах застосовували модифіковане живильне середовище ¼ норми МС. До складу середовища були включені макро- та мікроелементи (Sigma, США), вітаміни (Sigma, США), 0,2–0,4 г/л хлорхолінхлориду ССС (BASF, Німеччина), 60 г/л сахарози та 10 г/л агар-агару. Контролем служило середовище ¼ МС без інгібіторів росту. Стаканчики закривали стерильною харчовою фольгою товщиною 14 мкм («Саянська», Росія), зверху ізолювали плівкою, що герметизує Parafilm M (Bemis, США). Експланти поміщали до холодильних камер марки Liebcherr FKvsl 4113 (Австрія) з інтенсивністю освітлення 1,25–3,75 мкМ-2 з -1 при температурі 4, 6, 8, 10, 12 і 14 °С. При введенні експлантів на депонування записували основні показники: генотип, дату закладки на депонування, розмір експланту (довжину, кількість міжвузлів), температуру депонування, живильне середовище, концентрацію інгібіторів зростання. Рослинний матеріал фіксували через 6 місяців культивування. Проводили оцінку рослинного матеріалу, що зберігається за такими показниками, як довжина мікропагони, забарвлення експланту, кількість адвентивних мікропагонів, кількість листя на мікропагоні, кількість

коренів на мікропагоні, довжина кореня, життєздатність. Ці показники визначали кінетику зростання рослин. Для зневоднення матеріалу використовували водні розчини етилового спирту та ізопропіловий спирт. В якості проміжного середовища при заливанні об'єктів парафін застосовували ксилол. Період інфільтрації парафіном становив 5-7 діб [18]. SPSS (версія програмного забезпечення 17) використовувався для аналізу даних укорінення. Дисперсійний аналіз (ANOVA) проводили за допомогою процедури загальної лінійної моделі на окремих повторних середніх за допомогою обробки кількості пагонів, що утворюють коріння, кількості коренів на пагін і довжини кореня. Якщо дисперсійний аналіз вказував на статистичну значущість, використовувався порівняльний тест Дункана з альфа-рівнем 0,05, щоб розрізнити відмінності між методами культивування.

РОЗДІЛ 4.
РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Хурма (*Diospyros kaki* Thunb.) — вид плодових дерев помірного клімату, поширений на всіх континентах. Традиційний метод розмноження, прийнятий у розсадництві, заснований на окулірuванні/щепленні сортів на саджанцях *D. kaki*, *Diospyros lotus* і *Diospyros virginiana*, найважливіших видів, які використовуються як підщепа, розмножених насінням, оскільки їх непросто вкорінити. Крім того, більшість нетерпких сортів хурми не сумісні з *D. lotus*, підщепою, яка широко використовується через її зимостійкість і морозостійкість. Основні методи культури тканин *in vitro*, розроблені для хурми, стосуються прямої регенерації (із сплячих бруньок і кінчиків коренів) і непрямої регенерації через калюс із сплячих бруньок, верхівок і листя. Важкими місцями мікророзмноження є несприйнятливість багатьох сортів до вирощування *in vitro*, низький коефіцієнт розмноження *D. kaki* порівняно з іншими видами плодових дерев, дуже низька здатність до вкорінення *ex novo* мікроживців як з прямої так і непрямої регенерації, висока чутливість до трансплантації з умов *in vitro* в умови *in vivo*. Розробка надійних процедур регенерації *in vitro*, ймовірно, відіграє ключову роль у виробництві як клонових підщеп, так і самовкорінених сортів.

4.1. Індукція морфогенезу хурми в культурі *in vitro*

Плоди хурми корисні, поживні, придатні для вживання у свіжому вигляді або після технологічної переробки. М'якуш зрілих плодів містить цілий ряд вітамінів, каратиноїдів, мікро- і макроелементів, а також органічні сполуки йоду, кальцію та заліза [2]. Традиційні методи вегетативного розмноження плодових культур досить трудомісткі і недостатньо ефективні. Сучасні біотехнології рослин дозволяють отримати потрібну кількість генетично стабільних оздоровлених регенерантів [3]. Розроблено способи регенерації окремих сортів хурми з вегетативних бруньок, висікання листя та

культивованого калюсу в умовах *in vitro* [4–6]. У дослідженнях встановлено залежність регенераційної здатності експлантів окремих сортів східної хурми від термінів ізоляції, способу стерилізації, наявності регуляторів росту в поживному середовищі [7, 8]. Використання методів культури тканини і органів дозволяє вирішувати такі завдання, як масове розмноження видів, сортів і форм і подальше створення колекцій, що повільно зростають [9, 10]. Створення колекцій рослин *in vitro* є однією із складових частин стратегії охорони біологічної різноманітності рослин1 [11–13]. Метою даної роботи було удосконалення способу регенерації мікропагонів хурми східної сортів Сувенір Осені та Південна Красуня селекції Нікітського ботанічного саду, подальша оптимізація умов для безпересадкового 12-місячного депонування хурми східної в умовах *in vitro* у рамках створення генобанку цінних.

Максимальна кількість експлантів, що регенерували мікропагони, отримували у грудні-лютому. На живильному середовищі МС із зменшеною вдвічі концентрацією азоту через 6 тижнів культивування спостерігали формування розетки листя, потім мікровтечі. Встановлено, що ізольовані вегетативні нирки хурми сортів, що вивчаються, мали різний морфогенетичний потенціал. На 4-му тижні культивування спостерігали висунення 1–3 листків у експлантів сорту Південна Красуня, тоді як у експлантів сорту Сувенір Осені – 1 листка. Відмінність морфогенетичного потенціалу експлантів простежувалося протягом усіх етапів розвитку. В ході експериментів було вивчено вплив 6-БАП на індукцію пагоноутворення сортів хурми, що вивчаються, східної із закритих вегетативних нирок в умовах *in vitro*. Відомо, що найбільш ефективним для клонального мікророзмноження хурми є застосування зеатину на етапі індукції пагоноутворення та масового розмноження [5, 14]. Часто на етапі введення експлантів використовують БАП, а зеатин застосовують для подовження та формування адвентивних мікропагонів [7].

У варіантах середовища МС з 2,0 мг/л БАП середня кількість пагонів на експлант становила 1,4±0,3 шт. — для сорту Сувенір Осен, 1,7±0,3 — для сорту

Південна Красуня, 1,6±0,4 — для сорту Нікітська бордова та 1,8±0,2 — для сорту Золотиста (таб. 1).

Таблиця 1

Коефіцієнт розмноження сортів хурми відповідно концентрації 6-бензиламінопурину, мг/л

Сорт	Концентрація 6-БАП		
	2	4	5
Сувенір осені	1,4±0,3	2,0±0,4	3,7±0,2
Південна красуня	1,7±0,3	2,7 ± 0,4	3,5±0,4
Нікітська бордова	1,6±0,4	2,5±0,3	4,1±0,2
Золотиста	1,8±0,2	2,3±0,4	3,4±0,3
Середнє	1,6±0,2	2,4±0,2	3,6±0,3
$НІР_{05}$	*0,5*	*0,7*	*0,3*

Максимальне число нормально розвинених мікропагонів отримано на середовищі МС доповненим 4 мг/л 6-БАП: у сорту Сувенір осені — 2,0±0,4 шт., у сорту Південна Красуня — 2,7 ± 0,4 шт., у сорту Нікітська бордова — 2,5±0,3 шт. та у сорту Золотиста — 2,3±0,4 шт. Збільшення концентрації 6-БАП до 5 мг/л дещо збільшувало кількість мікропагонів, в середньому коефіцієнт розмноження становив 3,6±0,3 шт., проте більша частина з них була обводненою, що унеможливлювало подальше субкультивування. Подальше мікрочеренкування в умовах *in vitro* дозволило збільшити кількість мікропагонів.

Для подовження пагонів хурми, субкультивування проводили на середовище Мурасіге-Скуга з додаванням 0,5 мг/л, 1,0 мг/л і 1,5 мг/л зеатину. Середня довжина мікропагонів через 4 тижні культивування досягала 0,5-3,2 см. (табл. 2). За концентрації 0,5 мг/л зеатину, довжина пагонів не перевищувала 0,6 см. Найкращий результат зафіксовано з додаванням в живильне середовище 1,0 мг/л зеатину при цьому найбільшим був показник у сорту Південна красуня — 3,1 см., а найменшим у сорту Сувенір осені — 1,9 см. Довжина пагонів у сортів Нікітська бордова і Золотиста становила 2,7 см. та 2,4 см. відповідно. Зі збільшенням концентрації зеатину в живильному середовищі до 1,5 мг/л фіксували не істотний приріст пагонів по

кожному із сортів. Тому можна стверджувати що збільшення концентрації зеатину збільшує лише затрати.

Таблиця 2

Довжина мікропагонів відповідно до концентрації в живильному середовищі зеатину, мг/л

Сорт	Концентрація зеатину		
	0,5	1,0	1,5
Сувенір осені	0,4±0,02 см	1,9±0,04 см	1,9±0,02 см
Південна красуня	0,6±0,04 см	3,1±0,07 см	3,2±0,04 см
Нікітська бордова	0,5±0,03 см	2,7±0,02 см	2,6±0,03 см
Золотиста	0,3±0,05 см	2,4±0,05 см	2,5±0,03 см
Середнє	0,5±0,04	2,5±0,05	2,6±0,03
$НІР_{05}$	*0,1*	*0,3*	*0,2*

Власних непрямої регенерації мікропагонів у культурі листових експлантів 2-х сортів східної хурми в умовах *in vitro*, було вивчено вплив тидіазурону (ТДЗ) в живильному середовищі. Виявлено, що калусоутворення на середовищі МС, доповненому 1,1 та 1,7 мг/л ТДЗ, активніше відбувалося в термостаті. Подальше культивування при температурі 24±1 °С, 16-годинному фотоперіоді та інтенсивності освітлення 37,5 мкМ м-2 з -1 призводило до формування на його поверхні кулястих структур, з яких згодом розвивалися мікропагони. Подані результати узгоджуються з даними, одержаними для сортів хурми Нікітська Бордова та Золотиста [4, 20]. Частота пагоноутворення з висічок листака досягала 65–79 % через 6 тижнів культивування на середовищах з 1,1 та 1,7 мг/л ТДЗ.

Гістологічний аналіз калусів сортів хурми Південна Красуня та Сувенір Осені показав, що вони представлені щільними скупченнями паренхімних клітин із слабко вираженими цитоплазмою та ядерними структурами. Клітини з більш щільною цитоплазмою та чітко вираженими ядрами спостерігали на периферії структур, при цьому у зовнішніх шарах калусних структур також розташовувалися клітини з потовщеними стінками та цитоплазмою, насиченою включеннями вторинних метаболітів. Зони проліферативних клітин відзначені

як на периферичних шарах калюсів, так і в товщі паренхімних клітин. У той же час меристематично активні клітини, розташовані на зовнішніх шарах калусної структури, зазвичай дають початок мікропагонам, що найбільш характерно для сорту Південна Красуня. Крім того, у досліджуваних сортів виявлено випадки утворення глобулярних структур, типових для ранніх стадій ембріогенезу.

Міченим для цих сортів є гістогенез провідних елементів, що супроводжується поляризацією клітин, потовщенням клітинних стінок і подальшою їх перфорацією. У першому пасажі отримано 4 мікропагони/експлант у сорту Сувенір Осені, 5 – у сорту Південна Красуня. Мікропобіги відокремлювали та субкультивували на середовищі МС, доповненому 0,8–1 мг/л зеатину. Присутність серед МС 0,2 мг/л, 0,6 мг/л і 2,2 мг/л ТДЗ сприяло формуванню неморфогенного каллуса. На середовищі без цитокініну не спостерігали ознак морфогенезу. Можливості створення генобанку культур *in vitro* для тривалого зберігання цінних плодових рослин є одним із основних завдань біотехнології. Велике значення у культурі тканин та органів має розробка умов тривалого збереження пробіркових рослин *in vitro* як резервного банку цінних видів, сортів та форм різних культур1 [11,12, 15, 21,22].

Серйозною перешкодою для збереження рослин при нормальній температурі (20–26°С) є старіння експлантів або втрата життєздатності, що відбуваються внаслідок багаторазових субкультивувань. При тривалому депонуванні велике значення має визначення оптимального рівня температури, у якому сповільнюються метаболічні процеси рослин *in vitro* і обмежується їх зростання [9, 10, 23, 24]. На ефективність збереження рослинного матеріалу в умовах *in vitro* впливає низка факторів. Різні методичні прийоми не повинні викликати незворотних змін або пошкодження матеріалу, необхідно забезпечувати можливість подальшого культивування рослинного матеріалу у стандартних умовах із високими кількісними показниками. Для зміни кінетики зростання в наших дослідженнях було використано комплексний вплив низької позитивної температури та наявності в живильному середовищі осмотиків та

ретардантів. Попередні дослідження дозволили встановити оптимальні концентрації ССС у живильному середовищі ¼ норми МС – 0,2–0,4 г/л, що сприяють мінімалізації росту рослин при збереженні їхньої життєздатності [14]. Проведений скринінг культур, що депонуються протягом 6 місяців, показав, що при концентрації ССС 0,2–0,4 г/л, сахарози 60 г/л та температурі 4–6 °С життєздатність експлантів у рослин хурми перебувала в межах 30–68 %. Сегменти пагонів мали зелено-коричневе або коричневе забарвлення, було відзначено відсутність їх зростання. При температурі 8–14 °С спостерігали уповільнення зростання експлантів у 1,5 рази порівняно з контролем, при цьому вони залишалися зеленими та утворювали 1–2 листочки. Збільшення часу збереження *in vitro* експлантів хурми східних сортів Південна Красуня та Сувенір Осені до 12 місяців дозволило встановити значення температури (8–10°С), за яких життєздатність експлантів залишалася на рівні 80 % (рис. 4).

Відзначено зниження кінетики зростання у 2 рази порівняно з контролем. Поряд з цим спостерігали появу бурого забарвлення та виділення продуктів окислення поліфенолів у живильне середовище (фарбування середовища у світло-коричневий колір). Збільшення температури до 12 і 14 °С сприяло різкому зниженню життєздатності експлантів внаслідок інтенсивного виділення продуктів окислення поліфенолів, некрозу тканини та подальшої загибелі експлантів. Низькі позитивні температури (4 і 6 °С) також виявилися неефективними для 12-місячного збереження експлантів сортів хурми східної, що вивчаються, в умовах генобанку *in vitro*. Проведене тестування експонтів, що депонуються, за морфо-біологічними ознаками на живильному середовищі для індукції регенераційних процесів вказувало на збереження морфогенетичного потенціалу та здатності до регенерації мікропагонів у 80 % експлантів після 12 місяців збереження при температурі 8–10 °С. виявлено два основні шляхи регенерації мікропагонів хурми східних сортів Сувенір Осені та Південна Красуня в умовах *in vitro*. Показано, що наявність у живильному середовищі МС 4 мг/л БАП забезпечувало стабільну пряму регенерацію в культурі нирок вегетативних. Виявлено сортові відмінності морфогенетичного

потенціалу вихідних експлантів. Присутність серед МС 1,1 і 1,7 мг/л ТДЗ сприяло непрямому органогенезу в культурі висічок листя. Гістологічний аналіз підтвердив наявність меристематично активних клітин, розташованих на зовнішніх шарах калусної структури, які зазвичай дають початок мікропагонам. Розроблено методичні підходи збереження рослинного матеріалу in vitro за умов уповільненого зростання з метою створення генобанку цінних субтропічних плодових культур. Показано стабілізуючу роль сахарози та ССС у середовищі ¼ норми МС, а також оптимальної температури збереження (8–10 °С) на життєздатність експлантів двох сортів східної хурми протягом 12 місяців депонування.

В наступному нашому досліді використовували чотири зрілі сорти хурми звичайної (*Diospyros virginiana*) і один гібрид. Основне використання цих сортів було для виробництва фруктів для споживання людиною та для переробки м’якоті. D127M є чоловічим сортом, демонструє інтенсивний ріст, є хорошою підщепою для живцювання жіночих рослин і споріднений з «Dollywood». Голден Суприм — жіноча, плоди великі пізньостиглі, м'якоть прозора. Szukis — самець, але демонструє двостатеві риси, дає великі плоди, що дозрівають у середньому сезоні, самозапилюється і вважається розсадою «Early Golden». Claypool H118 жіночий сорт, дає великі ранньостиглі плоди, м'якоть прозора. Гібрид 'RS', *D. Virginiana* (батько-насіннєвий)× *D. kaki* (батько-пилок), дає плоди розміром 5-7 см, є морозостійким гібридом і майже без насіння. Деревину прищепи з кожного генотипу прищеплювали на сіянську підщепу хурми звичайної польової.

Усі активно зростаючі стебла 2-річних щеплених підщеп, що росли в теплиці, дезінфікували поверхню в 70% (об./об.) етанолі протягом 30 с, потім 15% (об./об.) розчині відбілювача (5,25% гіпохлориту натрію) протягом 15 хв, після чого чотири рази промивають стерильною деіонізованою водою. Експланти стебла з одним вузлом культивували на базальному середовищі Мурасіге-Скуга плюс органічні речовини, що містили стерилізовані фільтром 10 мкМ зеатину, 3% (маса/об’єм) сахарози та 0,7% (w/v) Bacto agar у посудинах

Magenta GA-7. pH середовища доводили до 5,8 перед автоклавуванням. Було проведено три реплікації з 12 експлантатами на реплікацію для кожного генотипу. Культури вузлових експлантів витримували протягом 16-годинного фотоперіоду, який забезпечували холодно-білі флуоресцентні лампи (80 мкмоль·м $^{-2}$ ·с $^{-1}$) при 25 ± 2°C і переносили на свіже середовище кожні 3 тижні, доки один пагін не подовжувався з бутон. Індивідуальні витягнуті мікропагони з кожного оригінального вузлового експлантату регулярно культивували на тому самому середовищі з 5 мкМ зеатину та регулярно мікророзмножували через вузлові зрізи, щоб збільшити кількість клональних пагонів, доступних для випробувань укорінення.

Мікропагони звичайної хурми з чотирьох зрілих генотипів (D127M, Golden Supreme, Szukis і Claypool H118) і одного гібридного генотипу «RS» були успішно створені in vitro після 2-3 місяців культивування на середовищі MS з 10 мкМ зеатину. Усі вузлові експланти, вирізані з щеплених тепличних рослин, дали принаймні один пагін для безперервного мікророзмноження. Середовище MS із зеатином раніше було доведено як одне з найкращих базальних середовищ і регуляторів росту рослин для підтримки росту пагонів *D. kaki in vitro,* повідомили, що середовище MS з 4,56 мкМ або 13,69 мкМ зеатину викликало найкращий ріст пагонів з вузлових експлантів *D . какі* порівняно із середовищем із 6-бензиладеніном (БА), кінетином, ізопентеніладеніном або бензилтетрагідропіраніладеніном, використовуючи верхівки пагонів із поточного росту, створили культури пагонів 95 сортів японської хурми та трьох інших видів на середовищі MS (азот половинної сили) плюс 100 мкМ зеатину. Створили протокол для *D . какі* з використанням сплячих бруньок, культивованих на середовищі MS (азот половинної міцності) з 20 мкМ БК або 10 мкМ зеатину. Автори зазначили, що якщо культури були ініційовані на БА, ці культури потрібно було перенести в 25 мкМ 6-(γ,γ-диметилаліламіно) пурину (2iP) або 3 мкМ зеатину, щоб забезпечити подовження пагонів, і що деякі сорти не можуть бути створені в пробірка. У нашому дослідженні безперервне мікророзмноження шляхом

вузлового зрізу пагонів звичайної хурми in vitro сприяло зниженню вмісту зеатину до 5 мкМ, стратегія, яка була доведена ефективною для кількох сортів *D. kaki.*

4.2. Індукція ризогенезу хурми в культурі *in vitro*

Власне після відпрацювання технології індукції морфогенезу сортів рослин хурми розпочали вивчати індукцію ризогенезу в культурі *in vitro* досліджуваних сортів.

Мікропагони 2-3 см в довжину індукували для утворення коренів на середовищі Мурасіге-Скуга (MS) зі зменшеними у двічі концентраціями. 100 мг·л$^{-1}$флороглюцинолу; 0, 5, 10 або 15 мкМ IBA; 3% (мас./об.) сахарози; і 0,7% (маса/об'єм) бакто-агару в посудинах Magenta GA-7 (один пагін на посудину; 50 мл середовища). pH середовища доводили до 5,8 перед автоклавуванням. Для кожного генотипу було проведено від трьох до п'яти повторень з вісьмома пагонами на обробку. Культури інкубували при 25 ± 2°C у темряві протягом 10 діб, щоб викликати укорінення, а потім переносили на 16-годинний фотоперіод, що забезпечувався холодно-білими флуоресцентними лампами при 25 ± 2°C. Кількість пагонів, що утворюють коріння, кількість коренів на пагін і довжину коренів реєстрували через 4 тижні на світлі. Вкорінені рослини обережно виймали з агаризованого середовища та висаджували в пластикові горщики розміром 10×10 см, що містили вологу автоклавну суміш для горщиків, що містила 65% торфу, перліту, вермикуліту, поживних речовин, зволожувача та доломітового вапняку (Fafard Super-Fine Germinating Mix, Agawam, MA) і вирощували під 16-годинним фотоперіодом (80 мкмоль·м$^{-2}$·с$^{-1}$) при 25±2°C. Весь агар видаляли з коренів перед пересадкою. Горщики поміщали в 3,8-літрові пластикові мішки на блискавці для забезпечення високої відносної вологості та мали чотири отвори під блискавкою для забезпечення повітрообміну. Мішки поступово відкривали протягом періоду від 2 до 4 тижнів у культуральній кімнаті, щоб дозволити рослинам акліматизуватися до умов навколишнього середовища. Рослини поливали раз на тиждень до повного

розкриття мішків, а потім поливали за потреби. Через ≈4-6 тижнів рослини переносили в теплицю. За необхідності рослини зрошували підкисленою водою, що містить комбінацію двох водорозчинних добрив (суміш 3:1 15N–2,2P–12,5K і 21N–2,2P–16,6K відповідно; The Scotts Co., Marysville, OH) щоб забезпечити наступне (в мг·л $^{-1}$): 200 азоту, 26 фосфору, 163 калію, 50 кальцію, 20 магнію, 1,0 заліза, 0,5 марганцю та цинку, 0,24 міді та бору та 0,1 молібдену. Нітратна форма становила 76% забезпеченого азоту. Воду для поливу доповнювали 93% сірчаною кислотою (Brenntag, Reading, PA) у кількості 0,08 мл·л $^{-1}$ для зниження лужності до 100 мг·л $^{-1}$ і pH до діапазону від 5,8 до 6,2.

Укорінення мікропагонів провели для всіх сортів при всіх перевірених концентраціях індолилоцтової кислоти (ІОК). Найкращим живильним середовищем виявилось МС з половинними концентраціями макро- і мікросолей та додаванням 5 та 10 мг/л ІОК. Вкорінення сорту Сувенір осені (76%; 3,2±1,5 кореня на пагін) і сорту Південна красуня (87%; 3,9±0,7 кореня на пагін) найкраще реагували на 5 мг/л ІОК. Нікітська бордова спровокував найбільше укорінення (18,1%) на середовищі MS, що містить або 5 мкМ (0,5±0,8 коренів на пагін), або 15 мкМ ІВА (1,3±1,2 коренів на пагін). Нікітська бордова продукував 5,3±2,6 кореня на пагін на 10 мкМ ІВА. У сорту Золотиста зафіксовано найвищий — 91% відсоток укорінених мікропагонів. спостерігалося укорінення порівняно з лише 16% у Золотиста. Золотиста продукував в середньому 1,2±1,4 кореня на пагін.

Таблиця 3

Укорінення сортів хурми в культурі *in vitro*

Сорт	Концентрація ІОК		
	5	10	15
Сувенір осені	3,2±1,5 см (76 %)	-	-
Південна красуня	3,9±0,7 см (87 %)	-	-
Нікітська бордова	0,5±0,8 см (18,1 %)	-	1,3±1,2 см (36,2 %)
Золотиста	1,2±1,4 (16%)	5,3±2,6 (91 %)	-
$НІР_{05}$	*0,23*		

Верхівки пагонів сортів японської хурми, культивованих на середовищі, що містить 20 мкМ БК, приживалися краще, ніж пагони 23 сортів,

культивованих на 10 мкМ зеатину. Пагони японської хурми культивували на середовищі MS половинної міцності (азот половинної міцності), обробляли 1,23 мкм IBA протягом 15-30 с, а потім культивували в темряві на середовищі без регуляторів росту рослин. протягом 9 днів мав найкращий відсоток укорінення залежно від досліджуваного сорту. У попередньому звіті стверджувалося, що пагони японської хурми, укорінені на вищих концентраціях IBA, були слабшими, і деякі зрештою загинули. Відзначили, що пагони, створені з використанням BA, а потім розмножені з використанням 2iP або зеатину, мали вищий потенціал укорінення, ніж пагони, культивовані лише на зеатині, але багато сортів можна було створити лише з використанням зеатину. Змінне вкорінення серед 95 сортів *D. kaki* (0% до 100%) і двох *D. генотипи virginiana* (60% і 100%; сорти не повідомляються), оброблені 0,4% α-нафтилацетамідом і культивовані на середовищі MS (азот половинної концентрації); 25 сортів не вкоренилися. Додаткові пагони, регенеровані *in vitro* з кореневих сегментів японської хурми, також укорінюються (від 0% до 100% залежно від сорту) з використанням 1,25 м-м занурення IBA. Було показано, що флороглюцин діє синергетично з ауксином, особливо з IBA, і має стимулюючий вплив на укорінення кількох деревних видів, у тому числі *Malus* і *Prunus*. У цьому дослідженні хурма віргінська експланти чотирьох зрілих сортів і одного гібрида були створені *in vitro* на середовищі MS з 10 мкМ зеатину. Середовище MS половинної міцності, що містить від 5 до 15 мкМ IBA, сприяло укоріненню залежно від сорту. Вкорінені рослини кожного генотипу були успішно акліматизовані в теплиці та показали нормальний ріст і розвиток. Подальші дослідження повинні бути зосереджені на розширенні *in vitro* цих сортів, покращенні вкорінення та акліматизації рослин до умов *in vivo*.

РОЗДІЛ 5.
ОХОРОНА ПРАЦІ ТА НАВКОЛИШНЬОГО СЕРЕДОВИЩА
ПОТРІБНО і

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 Держнагляд охорони праці. 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.

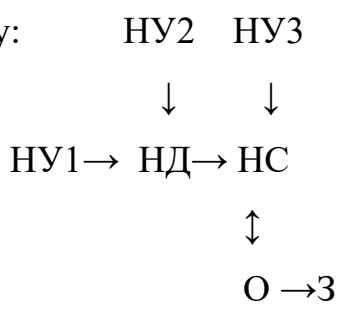
Маючи певні знання і уміння з охорони праці з високою підготовкою працівників біотехнологів, високою дисципліною і розумінням за доручену

справу дає можливість відповідальним працівникам за охорону праці, досягати вагомих результатів.

Блок-схема процесу формування та виникнення небезпечних ситуацій:

- НУ1 – не працює витяжна шафа
- НУ2 – лаборант працює із високотоксичною речовиною (ZnSO4)
- НУ3 – лабораторія не забезпечена індивідуальними засобами захисту (респіратори У2-К, марлеві пов'язки)
- НД – лаборант працює без засобів захисту органів дихання
- НС – У зону дихання працівника потрапляють пари кислого цинку (ZnSO4)
- О – отруєння
- З – захворювання

Модель процесу:



Тому, для використання безпечних умов праці в лабораторії потрібно:

– вчасно проводити засідання з працівниками;

– виконувати санітарно-гігієнічних норми;

– забезпечувати робітників харчуванням в зв'язку з вредними умовами і створювати сприятливі умови відпочинку;

- контроль зі сторони спеціалістів за виконання правил безпеки і охорони праці робітниками [35,42].

Пестициди як біологічно активні речовини часто мають негативний вплив на навколишнє середовище. Не відмінною умовою захисту довкілля є бездоганне дотримання всіх регламентів щодо застосування їх норм внесення, строків, способів тощо.

ВИСНОВКИ

1. Традиційні методи вегетативного розмноження плодових культур досить трудомісткі і недостатньо ефективні. Сучасні біотехнології рослин дозволяють отримати потрібну кількість генетично стабільних оздоровлених регенерантів. Розроблено способи регенерації окремих сортів хурми з вегетативних бруньок, висікання листя та культивованого калюсу в умовах *in vitro*.

2. Максимальне число нормально розвинених мікропагонів отримано на середовищі МС доповненим 4 мг/л 6-БАП: у сорту Сувенір осені — 2,0±0,4 шт., у сорту Південна Красуня — 2,7 ± 0,4 шт., у сорту Нікітська бордова — 2,5±0,3 шт. та у сорту Золотиста — 2,3±0,4 шт.

3. Найкращий результат зафіксовано з додаванням в живильне середовище 1,0 мг/л зеатину при цьому найбільшим був показник у сорту Південна красуня — 3,1 см., а найменшим у сорту Сувенір осені — 1,9 см. Довжина пагонів у сортів Нікітська бордова і Золотиста становила 2,7 см. та 2,4 см. відповідно.

4. Укорінення мікропагонів провели для всіх сортів при всіх перевірених концентраціях індолилоцтової кислоти (ІОК). Найкращим живильним середовищем виявилось МС з половинними концентраціями макро- і мікросолей та додаванням 5 та 10 мг/л ІОК.

РЕКОМЕНДАЦІЇ СЕЛЕКЦІЙНІЙ ПРАКТИЦІ

Для культивування сортів хурми використовувати прописи живильного середовища Мурасіге-Скуга з додаванням 6-БАМ, зеатину та ІОК.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Андрющенко А. В., Пількевич А. В., Глазачова Л. М., Пількевич Л. І., Нікітенко О. М., Нетіяга О. В. (упор.). (2013). 6. Експертиза сортів субтропічних видів (хранатник, інжир, хурма, маслина, фейхоа, зизифус, ківі). Методика державної науково-технічної (кваліфікаційної) експертизи сільськогосподарських видів рослин на придатність до розширення в Україні (плодові, ягідні, горіхоплідні, субтропічні, виноград та шовковиця). Випуск п'ятий (видання другого, виправлене і доповнене). Київ: Український інститут експертизи сортів рослин. С. 26–34. (українською мовою).

2. Атраментова, Л. О., Утієвська, О. М. (2007). Біометрія: підручник. Харків: Ранок. 176 с. (українською мовою).

3. Бублик, М. О., Китаєв, О. І., Кривошапка, В. А., Приймачук, Л. С., Бабіна, Р. Д., Дроник, Н. І., Шахнович, Н. Ф., … & Мельничук, Г. В. (2012). Особливості зимівлі садів плодових і малоплодових культур у 2011–2012 рр. Садівництво. том. 66. С. 287–295. (українською мовою).

4. Черняєв, В. П. (2012). Культура хурми в Криму і на Юге України. вид. Мельников В. П. 142 с. URL: http://sops. gov. ua/reestr-sortiv-roslin (перевірено 4 вересня 2018 р.). (російською).

5. Чіарміелло Л. Ф., Вудро П., Фуджі А., Понтекорво Г. та Карілло П. (2011). Рослинні гени абіотичного стресу. Абіотичний стрес у рослин - механізми та адаптації. [Ред.: Арун Кумар Шанкер і Б. Венкатесварлу]. Рієка: Janeza Tridne. Частина 3. Генетика та адаптація. гл. 13. Р. 283–308.

6. Крістофорі, В., Фаллово, К., Мендоса-де Гівес, Е., Рівера, К. М., Бігнамі, К. та Руфаель, Ю. (2008).

7. Неруйнівна аналогова модель для оцінки площі листя хурми (Diospyros kaki L. f.) на основі вимірювання довжини та ширини листя. European Journal of Horticultural Science. том. 73. № 5. С. 216.

8. Дерев'янко, В. М. (2007а). Результати перезимівлі (2005–2006 рр.) Diospyros kaki L. та її гібридів у деяких найбільш холодних районах

Криму. Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Серія: Біологія.

9. № 12–14. С. 22–26. (українською мовою).

10. Дерев'янко, В. М. (2007б). Результати перезимівлі (2005–2006 рр.) хурми японської (Diospyros kaki L.) у НДР «Новокаховське» (Херсонська область, Україна). Чорноморський ботанічний журнал. том. 3. № 2. С. 60–66.

11. Дерев'янко В. Н. (2013). Інтродукція та перспективи господарського використання хурми кавказької (Diospyros lotus L.) на півдні України. Чорноморський ботанічний журнал. том. 9. № 4. С. 584–594. (українською мовою).

12. Дерев’янко, Н. В., Дерев’янко, В. Н. та Горбенко, Н. Й. (2016). Інтродукція хурми американської (Diospyros virginiana L.) в Україні. Науковий вісник УНФУ. том. 26. № 5. С. 48–59. (українською мовою).

13. Джигадло Е. Н., Сєдов Е. Н. та Огольцова Т. П. (1999). Програма і методика сортовиучення плодових, ягодних і орехоплодних культур. Орел: Изд-во ВНИИСПК. 606 с.

14. Феннелл, А. (2014). Геноміка та функціональна геноміка стійкості до низьких зимових температур плодових культур помірного клімату. Критичні огляди рослинництва. том. 33. № 2–3. С. 125–140. DOI: 10.1080/07352689.2014.870410.

15. Фізико-географічне районування. Національний атлас України (2007). [Голов. червоний. Л. Г. Руденко]. Київ: Картографія. С. 228–229. (українською мовою).

16. Генкель П. А. (1982). Фізіологія жаро- і засухоустойчивости растений. Москва: Наука. 280 с. (російською).

17. Глухов А. З., Хархота А. І., Прохорова С. І. та Агурова І. В. (2010). Адаптивні реакції рослин в стресових ситуаціях техногенних екотопів. Промислова ботаніка: стан та перспективи розвитку: Матеріали VI міжнар. наук. конф. (Донецьк, 4–7 жовтня 2010 р.). Донецьк: НБС НАНУ. С. 28–30. (російською).

18. Григор'єва, О. & Клименко, С. (2008). Репродуктивна здатність хурми кавказької (Diospyros lotus L.) в умовах Лісостепу України. Субтропічне та декоративне садівництво. том. 41. С. 381–387. (російською).

19. Григор'єва, О. В. (2006). Оцінка зимостійких інтродукційних видів хурми в НБГ НАН України. Наукові основи збереження біорізноманіття. том. 7. С. 24–28. (українською мовою).

20. Грайм, Дж.П. (1989). Дебати про стрес: симптом неминучого синтезу? Біологічний журнал Ліннеївського товариства. том. 37. № 1–2. С. 3–17. DOI 10.1111/j.1095–8312.1989. tb02002. x.

21. Грохольський, В., Потанін, Д., Китайєв, О. та Бублик, М. (2008). Визначення морозостійкості плодових культур польовим методом. Садівництво. том. 61. С. 277–291. (українською мовою).

22. Громов А.А., Щукін В.Б., Хилько Л.Н. (2004). Зимостійкість рослини. Оренбург: Изд. центр

23. ОГАУ. 39 с. (російською).

24. Григор'єва, О. В. (2011). Морфолого-біоекологічні особливості та розмноження хурми східної (Diospyros virginiana L.) в умовах Лісостепу України. Наукові доповіді НУБіП України. № 2(24). Р. 1–20. (українською мовою).

25. Григор’єва О., Клименко С., Бриндза Й., Кочанова З., Тот Д., Дерев’янко В. та Грабовецька О. (2009). Інтродукція, розведення та використання видів хурми (Diospyros spp.) в Україні. Acta Horticulturae. том. 833. С. 57–62. DOI: 10.17660/ActaHortic.2009.833.8.

26. Губанова Т.Б., Шишкіна Є.Л. (2013). Методичні аспекти оцінки морозо- та зимостійкості видів і сортів хурми. Інтродукція рослин. 2013. № 1. С. 3–9. (російською).

27. Гекс, ЖАН (2001). Екологічний стрес і атавізм в еволюції амоноїд. Eclogae Geologicae Helvetiae. том. 94. № 3. С. 321–328.

28. Хейго, К., Едмондс, Дж., Копп, Р.Е., Легранде, А.Н., Сандерсон, Б.М., Венер, М.Ф. та Вубблс, Ді-Джей (2017). Кліматичні моделі, сценарії та

прогнози. Спеціальний звіт про кліматологію: Четверта національна оцінка клімату [Ред.: DJ Wuebbles, DW Fahey, KA Hibbard, DJ Dokken, BC Stewart & TK Maycock]. Вашингтон: Програма дослідження глобальних змін США. том. 1. С. 133–160. DOI: 10.7930/

29. J0WH2N54.

30. Хоутон, Д.Д. (2002). Моделювання, виявлення та атрибуція останніх і майбутніх змін клімату. вступ

31. до зміни клімату: конспект лекцій для метеоролог. Женева: Технічні публікації ВМО. № 926. Р. 87–102.

32. Хван Ю.Х., Ха Х., Кім Р., Чо С.В., Сонг Ю.Р., Хонг Х.Д. та Кім Т. (2018). Антиостеопоротичні ефекти полісахаридів, виділених з листя хурми, шляхом інгібування остеокластогенезу. Поживні речовини. том. 10. № . 7. С. 1–11. DOI: 10.3390/nu10070901.

33. Кічина В. В. (2000). Повышение уровня адаптации сорта — біологічна основа домінування генотипа над нерегулируемими факторами зовнішньої середи. Біологічний потенціал садових рослин і пити його реалізації: Матер. міждунар. конф. (г. Москва. РАСХН. Відправ. 2000 р.). Москва: ВСТИСП. С. 36–41. (російською).

34. Кічина, В. В. (2011). Принципи улучшения садовых растений. Москва.: ВСТИСП Россельхозакадемии. 528 с. (російською).

35. Кичина В. В. (1999). Селекція плодових і ягодних культур на високу рівень зимостійкості (концепція, прийоми і методи). Москва.: ВСТИСП Россельхозакадемии. 126 с. (російською).

36. Кнутсон, Т., Коссін, Дж.П., Мірс, К., Перлвіц, Дж. і Венер, М.Ф. (2017). Виявлення та визначення причин зміни клімату. Спеціальний звіт про кліматологію: Четверта національна оцінка клімату [Ред.: DJ Wuebbles, DW Fahey, KA Hibbard, DJ Dokken, BC Stewart & TK Maycock]. Вашингтон: Програма дослідження глобальних змін США. том. 1. С. 114–132. DOI: 10.7930/J01834ND.

37. Косенко І.С., Опалко А.І., Небиков М.В. & Дерев'янко Н.В. (2018). Селекція хурми (Diospyros spp.) на адаптивність і якість плодів. Цілі сталого розвитку третього тисячоліття: виклики для університетів наук про життя. Матеріали міжнародної науково-практичної конференції (м. Київ, 23–25 травня 2018 р., НУБіП). Київ. Т. 2. С. 289–301. (українською мовою).

38. Косенко І. С., Опалко О. А. та Опалко А. І. (2008). Посттравматичні регенераційні процеси в рослинах. Автохтонні та чужорідні рослини. № 3–4. Р. 10–15. (українською мовою).

39. Красовський, В. В. (2014). Субтропічні плодові культури в аспекті ботаніко-екологічної освіти в Хорольському ботанічному саду. Наукові доповіді НУБіП України. № 3. Р. 1–13. (українською мовою).

40. Крюссманн Г. (1976). Handbuch der Laubgehölze. Берлін і Гамбург: Пол Парей. Гурт 1. 486 с.

41. Кульбіда, М. І., Єлістратова, Л. О. та Барабаш, М. Б. (2013). Сучасні кліматичні умови України. Охорона та екологічна безпека: Збірник наукових праць. Харків: Райдер. том. 35. С. 118–130. (українською мовою).

42. Києнко, З. Б. (2015а). Методика проведення експертизи сортів рослин групи декоративних, лікарських та ефіроолійних, лісових на придатність до розширення в Україні (ПСП) / Укл.: З. Б. Києнко, В. М. Матус, Н. В. Павлюк та О. Б. Барбан [Наук. ред.: С. О. Ткачик, 2-х вид., випр. я доп.]. Вінниця: Нілан-ЛТД. 130 с. (українською мовою).

43. Києнко, З. Б. (2015б). Методика проведення експертизи сортів рослинних груп плодових, ягідних, горіхоплідних, субтропічних та винограду на придатність до розширення в Україні (ПСП) / Укл.: З. Б. Києнко, В. М. Матус, Н. В. Павлюк та В. В. Баликіна [Наук. ред.: С. О. Ткачик, 2-х вид., випр. я доп.]. Вінниця: Нілан-ЛТД. 86 с. (українською мовою).

44. Ліпінський В. М., Дячук В. А. та Бабіченко В. М. (ред.). (2003). Клімат України. Київ: Вид-во Раєвського. 343 с. (українською мовою).

45. Лукас-Гонсалес, Р., Фернандес-Лопес, Х., Перес-Альварес, Х. А. і Віуда-Мартос, М. (2018). Вплив розміру частинок на фітохімічний склад і антиоксидантні властивості двох видів борошна хурми з Diospyros kaki Thunb. варс. 'Rojo Brillante' і 'Triumph' співпродукти. Журнал науки про продовольство та сільське господарство. том. 98. № 2. С. 504–510.

46. Лукас-Гонсалес, Р., Віуда-Мартос, М., Перес-Альварес, Х. А. & Фернандес-Лопес, Х. (2017). Оцінка впливу розміру частинок на приблизний склад, фізико-хімічні, техніко-функціональні та фізико-функціональні властивості борошна, отриманого з побічних продуктів хурми (Diospyros kaki Trumb.). Рослинна їжа для харчування людини. том. 72. № . 1. С. 67–73.

47. Мартінес-Лас Херас, Р., Ландінес, Е. Ф., Ередіа, А., Кастелло, М. Л. та Андрес, А. (2017). Вплив процесу сушіння та розміру частинок клітковини хурми на її фізико-хімічні, антиоксидантні, гідратаційні та емульгуючі властивості. Журнал харчової науки та технології. том. 54. № . 9. С. 2902–2912. DOI: 10.1007/ s13197–017–2728-z.

48. Мацумото Т., Мочіда К., Ітамура Х. та Сакаї А. (2001). Кріоконсервація хурми (Diospyros kaki Thunb.) шляхом вітрифікації сплячих кінчиків пагонів. Звіти про клітини рослин. том. 20. № 5. Р. 398–402.

49. Меженський, В.М. (2017). Про впорядкування українських назв рослин. Інформація 8. Назви плодових культур. Вивчення та охорона сортів рослин. том. 13. № 1. С. 75–84. DOI:10.21498/2518–1017.13.1.2017.97324. (українською мовою).

50. Меженський В., Меженська Л. та Якубенко Б. (2014). Хурма. Рідкісні малоплідні культури: рекомендації по селекції та розмноженню. Київ: СР «Компрінт». С. 39–42. (українською мовою).

51. Minocha, R., Majumbar, R. & Minocha, SC (2014). Поліаміни та абіотичний стрес у рослин: складний зв'язок. Кордони рослинництва. том. 5. С. 1–17.

52. Murri, NM (1941). Хурма. Сухумі: АБГІЗ. 66 с. (російською).

53. Національний атлас України: Тексти і легенди карт. (2007). Київ: Картографія, Додатковий том. 828 с. (українською мовою).

54. Опалко А. І. (2004). Оцінювання стійкості до несприятливих абіотичних чинників довкілля. Селекція плодових і овочевих культур: Практикум [Авт.: А. І. Опалко, А. О. Яценко, О. А. Опалко, Н. В. Мойсейченко]. Київ: Науковий світ. С. 49–57. (українською мовою).

55. Опалко, А. І. (2009). Результативність природного і штучного добору залежно від прояву генотипу в фенотипі. Еволюція рослинного світу в природному і культурному середовищі: Зб. тез доп. Міжнарод. наук. конф. присвяченій 200-річчю з дня народження Чарлза Дарвіна (20–23 жовтня 2009 р.). Умань: НДП «Софіївка» НАНУ. С. 109–111. (українською мовою).

56. Парфіт, Д.Е., Йонеморі, К., Хоншо, К., Нозака, М., Канзакі, С., Сато, А. та Ямада, М. (2015). Взаємозв'язки між азіатськими сортами хурми, в'яжучими та нев'яжучими типами. Генетика та геноми дерев. том. 11. № 2(24). С. 1–9. DOI: 10.1007/s11295–015–0848-z.

57. Парсонс, Пенсільванія (1993). Важливість і наслідки стресу для живих і викопних популяцій: від змін в історії життя до еволюційних змін. Американський натураліст. том. 142. Додаток: Еволюційні реакції на екологічний стрес. С. S5–S20.

58. Пінар, Х., Йилдіз, Е., Капланкіран, М., Топлу, К., Унлу, М., Серце, С. та Ерджислі, С. (2017). Молекулярна характеристика деяких вибраних генотипів і сортів хурми за маркерами srap і ssr. Генетика-Белград. том. 49. № 2. С. 693–704.

59. Плаза, Л., Коліна, К., де Анкос, Б., Санчес-Морено, К., і Кано, М.П. (2012). Вплив дозрівання та терпкості на вміст каротиноїдів у плодах хурми, оброблених високим тиском (Diospyros kaki L.). Харчова хімія. том. 130. № 3. Р. 591–597.

60. Selye, HA (1936). Синдром, викликаний різними шкідливими агентами. природа том. 138. Р. 32.

61. Шин, MS, Лі, X., Хонг, HD і Шин, KS (2016). Характеристика імуностимулюючого пектинового полісахариду, виділеного з листя Diospyros kaki Thumb. (Хурма). Журнал функціональних продуктів харчування. том. 26. С. 319–329.

62. Соколов С.Я. (1957). Современное состояние теории акклиматизации и интродукции растений. Інтродукція рослин і зелене будівництво. Сер. 6. Вип. 5. С. 34–42.

63. Soriano, JM, Pecchioli, S., Romero, C., Vilanova, S., Llacer, G., Giordani, E., & Badenes, ML (2006). Розробка мікросателітних маркерів у поліплоїдної хурми (Diospyros kaki L. f.) із збагаченої геномної бібліотеки. Нотатки з молекулярної екології. том. 6. № 2. P. 368–370.

64. Державний реєстр сортів рослин, придатних до поширення в Україні у 2015 р. (2015). Київ. 324 стор. URL: http://www. мінагро. gov. ua/rating/files/r2. pdf (перевірено 25 січня 2018 р.). (українською мовою).

65. Державний реєстр сортів рослин, придатних до поширення в Україні у 2018 р. (2018). Київ. 467 стор. URL: http://sops. gov. ua/reestr-sortiv-roslin (перевірено 4 вересня 2018 р.). (українською мовою).

66. Пряність життя індикатори 2.5.1 і 2.5.2. (2017). ФАО та індикатори ЦСР: вимірювання до 2030 року

67. Порядок денний сталого розвитку. С. 22–23. URL: http://www. фао. org/3/a-i6919e. pdf (перевірено 28 листопада 2017 р.).

68. Туманов І. І. (1979). Фізіологія загартовування і морозостійкість рослин. М.: Наук. 359 р. (російською).

69. УПОВ (2004). Робочий документ про тестування широких ліній на Diospyros kaki L. f. TG/92/4. Женева, Швейцарія: УПОВ.

70. Веберик, Р., Юрхар, Дж., Мікуліч-Петковшек, М., Стампар, Ф. і Шмітцер, В. (2010). Порівняльне дослідження первинних і вторинних метаболітів у 11 сортів плодів хурми (Diospyros kaki L.). харчова хімія. том. 119. № 2. С. 477–483.

71. Єщенко В.О., Копитко П.Х., Костогриз П.В., Опришко В.П. (2014). Основи наукових досліджень в ахрономії: Підручник. Вінниця: ПП «ТД «Едельвейс і К»». 332 с. (українською мовою).

72. Їлмаз, Б., Генч, А., Сімен, Б., Інчесу, М., і ЄШІЛОГЛУ, Т. (2017). Характеристика морфологічних ознак місцевих і глобальних сортів і генотипів хурми, зібраних з Туреччини. Турецький журнал сільського та лісового господарства. том. 41. № 2. С. 93–102. (тут Diospyros kaki L.) DOI: 10.3906/tar-1611–27.

73. Чжао Д., Чжоу К., Конг Ф. та Тао Дж. (2011). Клонування фітоендесатурази та аналіз експресії каротиногенних генів у плодах хурми (Diospyros kaki L.). Звіти з молекулярної біології. том. 38. № 6. Р. 3935–3943.

74.Література

75. Дерев'янко, Н. В., Опалко, О. А., Дерев'янко, В. М., Опалко, А. І. (2018). Вихідний матеріал для селекції хурми (*Diospyros* spp.) на зимостійкість. *Автохтонні та інтродуковані рослини*. Вип. 14. С. 28–45.

76. Дерев'янко, В. М. (2007). Результати перезимівлі гібридів F_1, F_2 та F_3 між *Diospyros kaki* L. та *D. virginiana* L. в умовах Південного Степу України у 2005–2006 рр. *Інтродукція рослин.* № 3. С. 28–35.

77. Деревянко, В. М., Косенко, І. С., Опалко, А. І, Деревянко, Н. В. (2020). 'Дар Софіївки' — новий сорт української хурми (*Diospyros* L.). *Journal of Native and Alien Plant Studies*. Vol. 16. P. 32–44. DOI: 10.37555/2707-3114.16.2020.219810.

78. Деревянко, Н. В., Косенко, И. С., Опалко, О. А., Деревянко, В. Н., Опалко, А. И. (2020). Селекция хурмы (*Diospyros* spp.) на адаптивность в условиях Южной степи Украины. *Селекция и генетика: инновации и перспективы*: сборник статей по материалам Международ. науч.-практ. конференции, посвященной 100-летию кафедры селекции и генетики Белорусской ГСХА (г. Горки, 20 ноября 2020 г.). Горки: БГСХА. С. 45–50.

79. Grygorieva, O., Klymenko, S., Vergun, O., Hudz, N., Nikolaieva, N., Schubertová, Z., ... & Brindza, J. (2017). Morphological characteristics and determination of volatile organic compounds of *Diospyros virginiana* L. genotypes fruits. *Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences*. Vol. 11. No 1. P. 612–622. DOI: 10.5219/808.

80.

81.1. Хохлов С.Ю. Оцінка сортів хурми в колекції Нікітського саду // Збірник наукових праць ДНБС. 2015. Т. 140. С. 206-221.

82.2. Yonemori K., Sugiura A., Yamada M. Persimmon genetics and breeding // Plant breeding reviews. 2000. Vol. 19. P. 191-225.

83.3. Bhojwani S.S., Dantu P.K. Plant Tissue Culture: In Introductory Text. (New Delhi, Heidelberg, New York, Dordrecht, London: Springer), 2013,

84.4. Іванова Н.М., Митрофанова І.В., Браїлко В.А., Кузьміна Т.М., Хохлов С.Ю. Біотехнологічні прийоми розмноження східної хурми // Екосистеми. 2017. Вип. 11 (41). С. 60-67.

85.5. Kochanova Z., Onus N., Brindsa J. Adventitious shoot regeneration від dormant duds of persimmon (Diospyros kaki Thunb.) cv. Hachiya // Journal of Agrobiology. 2011. Vol. 28. N 2. P. 113

86.6. Liu Y., Ma J., Tang X., Song C. Study на adventitious shoot regeneration persimmon leaves // Hubei Agri Sciences. 2006. Vol. 45. P. 618-621.

87.7. Іванова Н.М., Митрофанова І.В., Хохлов С.Ю. Особливості введення експлантів східної хурми в умови in vitro // Бюлетень ДНБС. 2016. N 119. С. 45-51.

88.8. Іванова Н.М., Митрофанова І.В., Хохлов С.Ю. Різні шляхи регенерації рослин Diospyros kaki Thunb. сорти Золотиста за умов in vitro // Бюлетень ДНБС. 2016. Вип. 120. С. 24-30.

89.9. Плаксіна Т.В., Харчова Г.М. Біотехнологія в селекції, розмноженні та збереженні рослин // Бюлетень Ботанічного саду-інституту ДВО РАН. 2014. Вип. 12. С. 22-30.

90.10. Molkanova O., Egorova D., Mitrofanova I. Preservation Характеристики Valuable Plant Species in Vitro Genebanks в Російській Botanical Gardens // In Vitro Cellular and Developmental Biology – Plant. 2018. Vol. 58. Suppl. 1. P. 46.

91.11. Новікова Т.І., Набієва А.Ю., Полубоярова Т.В. Збереження рідкісних та корисних рослин у колекції Центрального Сибірського ботанічного саду // Вісник ВОГіС. 2008. Т. 12.

92.12. Molkanova O., Shirnina I., Mitrofanova I. Conservation and micropropagation of rare and endemic species in genpool collection of the Russian Federation // Journal of Biotechnology. 2018. Vol. 280. P. S83-S84.

93.13. Sarasan W., Cripps G., Ramsay M., Atherton C., McMichen M., Prendergast G., et al. Консервація in vitro threatened plants – progress in the past decade // In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant. 2006. Vol. 42. N 3. P. 206-214.

94.14. Митрофанова І.В. Соматичний ембріогенез та органогенез як основа біотехнології отримання та збереження багаторічних садових культур: монографія. Київ: Аграрна наука, 2011. 344 с.

95.15. Engelmann F. Use of biotechnologies for conservation of plant biodiversity // In Vitro Cellular and Development Biology – Plant. 2011. Vol. 47. N 1. P. 5-16

96.16. Kyte L., Kleyn J., Scoggins H., Bridgen M. Plants from test tubes: An introduction of micropropagation. 4th ed. Portland, Oregon: Timber Press, 2013. 274 p.

97.17. Murashige T, Skoog F. A переглянуто медіа для швидкого зростання і bioassays з Tobacco tissue cultures // Physiologia Plantarum. 1962. Vol. 15.

98.18. Кузьміна Т.М. Генезис мікроспорангія Jasminum officinale L. (Oleaceae) // Бюлетень ДНБС. 2017. N 124. С. 103-109.

99.19. Жінкіна Н.А., Воронова О.М. До методики фарбування ембріологічних препаратів // Ботанічний журнал. 2000. Т. 85. N 6. С. 168-171.

100. 20. Іванова Н.М., Митрофанова І.В., Кузьміна Т.В., Хохлов С.Ю. Регенерація мікропагонів у культурі висічок листя хурми

східної // Роль ботанічних садів і дендраріїв у збереженні, вивченні та стійкому використанні різноманітності рослинного світу: матеріали Міжнародної наукової конференції, присв. 85-річчю Центрального ботанічного саду НАН Білорусі (м. Мінськ, 6–8 червня 2017 р.). О 2 год. Ч. 2. Мінськ: Медісонт, 2017. С. 209-212.

101. 21. Молканова О.І., Коновалова Л.М., Стахєєва Т.С. Формування генетичного банку in vitro плодових та ягідних культур у ГБС РАН // Плодівництво та ягідництво в Росії. 2016. Т. XXXXIV. С. 197-200.

102. 22. Консервація статей genetic resources in vitro: General aspects / Razdan M.K., Cocking E.C. (eds.). Enfield, NH: Science Publishers, Inc.; 1997. 314 p.

103. 23. Тевфік А.Ш., Митрофанова І.В. Особливості отримання та збереження Canna × hybrida hort. ex Backer в умовах in vitro // Вісті вузів. Прикладна хімія та біотехнологія. 2017. Т. 7. N 3. С. 99-109.

104. 24. Watt M.P., Thokoane N.L., Mycock D., Blakeway F. In vitro st. 2000. Vol. 61. Issue 2. P. 161-164.

105.

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		